

Avaliação da sensibilidade cutânea a *Dermatophagoides Pteronyssinus* e *farinae* por testes epicutâneos na dermatite atópica

M Begoña Blanco¹, C Pereira¹, I Carrapatoso¹, B Tavares¹,
ML Chieira², MA Rodriguez-Prieto³, S Lapeña⁴, C Chieira¹

¹ Serviço de Imunoalergologia. Hospitais da Universidade de Coimbra.

² Serviço de Alergologia. Hospital Pediátrico de Coimbra.

³ Serviço de Dermatologia. Hospital de León. Espanha

⁴ Serviço de Pediatria. Hospital de León. Espanha.

Resumo

Na dermatite atópica, é frequente a exacerbação clínica das lesões após exposição a ambientes com potente empoeiramento doméstico e melhoria com medidas de evicção alérgica apropriada. Os testes epicutâneos têm suscitado um interesse considerável como método diagnóstico pela sua sensibilidade e especificidade.

Objectivos: Em doentes com clínica de dermatite atópica e com história sugestiva de sensibilidade a ácaros do pó doméstico, pretende-se avaliar a rendibilidade diagnóstica da utilização de testes epicutâneos específicos, correlacionando os resultados do teste *prick* e IgE específica, com os resultados de testes *patch* específicos, e determinar a sensibilidade e especificidade dos testes efectuados.

Material e Métodos: Foram incluídos neste estudo 40 doentes de ambos os sexos com dermatite atópica em fase de estabilização clínica, 10 alérgicos sem dermatite atópica e 10 indivíduos saudáveis.

Foram efectuados nos três grupos, testes cutâneos de alergia por picada utilizando uma bateria de aeroalergénios comuns (ALK-Abelló, Madrid, Espanha); determinação de IgE total e IgE específica (Pharmacia CAP System, Uppsala, Suécia) a aeroalergénios, e testes epicutâneos (Chemotechnique Diagnostics, Malmo, Suécia) com misturas de *Dermatophagoides pteronyssinus* e *D. farinae* a 20% e 30%. No grupo de doentes com dermatite atópica foram efectuados ainda testes *patch* com *Cladosporium herbarum*, *Fusarium moniliforme*, *Candida albicans* (ALK-Abelló, Madrid, Espanha).

Continua na página seguinte

Resultados: O grupo de doentes com dermatite atópica (F =15, M = 25), apresentava uma média de idades de $9,35 \pm 5,78$ anos (28 crianças, 9 adolescentes e 3 adultos jovens). A gravidade do quadro cutâneo (SCORAD), foi considerada como ligeira em 29 doentes, moderada em 9 e grave em 2 indivíduos. As áreas corporais mais frequentemente atingida foram as flexuras (95%) e a face (52,5%), sendo os factores desencadeantes/agravantes, mais frequentemente referidos o calor e sudação (82,5%), e a exposição a ácaros (42,5%). Nos doentes com dermatite atópica, 92,5% dos testes *prick* foram positivos, e em 87,5% foi observada IgE específica de classe γ 2. Não se encontraram diferenças significativas entre os resultados dos testes *prick* e o doseamento da IgE específica para os três grupos. Observou-se uma resposta semelhante para as duas misturas de ácaros utilizadas nos testes epicutâneos, não se tendo verificado reacções positivas com o controlo negativo em nenhum dos três grupos estudados. Nos doentes com dermatite atópica, observaram-se reacções tardias frequentes, nomeadamente para *Candida*.

Comparando o grupo de dermatite atópica e grupo controlo saudável, verificou-se que a sensibilidade dos testes epicutâneos foi superior (95%) em relação aos testes cutâneos (92%) e IgE específica (87%); se bem que com especificidade muito menor, respectivamente 60-70%, 100% e 100%.

Conclusões. Os resultados deste estudo salientam a importância dos testes epicutâneos específicos como um instrumento adicional no diagnóstico da dermatite atópica, nomeadamente nos doentes com aparecimento e/ou agravamento das lesões após exposição a *Dermatophagoides pteronyssinus* e *D. farinae*.

Palavras-Chave: Dermatite atópica, *Dermatophagoides*, Testes epicutâneos, Sensibilidade, Especificidade

Summary

Background: Some patients with atopic dermatitis definitely have exacerbation of skin lesions after contact with aeroallergens and improvement after appropriate avoidance strategies. In recent years considerable interest in the atopy patch test as a specific and sensitive diagnostic tool has emerged.

Objective: The aim of this study was to identify the correlation between patch test, prick test and serum specific IgE in atopic dermatitis patients sensitized to house dust mites and to assess the specificity and sensibility of the diagnostic methods used.

Methods: We studied 40 patients with atopic dermatitis in stationary phase, 10 patients with respiratory atopy and 10 healthy nonatopic controls. After skin prick testing (ALK-Abelló, Madrid, Spain) and determination of allergen-specific IgE antibodies (Pharmacia CAP System, Uppsala, Sweden), we performed patch tests (Chemotechnique Diagnostics, Malmo, Sweden) with 20% and 30% *Dermatophagoides pteronyssinus/farinae* mix antigen. The group of atopic dermatitis patients were additionally patch tested with *Cladosporium herbarum*, *Fusarium moniliforme*, *Candida albicans* (ALK-Abelló, Madrid, Spain).

Results: The atopic dermatitis patients (F=15, M=25), had a median age $9,35 \pm 5,78$ years (28 children, 9 adolescent and 3 adults). Clinical severity was evaluated by SCORAD (29 mild, 9 moderate and 2 severe). The patients had eczematous skin lesions predominantly in flexures (95%) and face (52,5%). 82,5% of the patients reported eczema exacerbation with high temperature, perspiration and after exposure to house dust mites (42,5%). 92,5% of patients with atopic dermatitis had prick positive results and 87,5% of patients had raised specific IgE to *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae*. No significant differences between prick test and specific IgE results for the three groups were found. The skin prick tests and specific IgE results were not significantly different. Responses to the house dust mites mixtures

applied in the patch tests were similar and all the tests performed with negative control were negative. Comparing the atopic dermatitis with healthy control group, the patch test sensibility was higher (95%) than prick test (92%) and specific IgE (87%) but the specificity was lower comparatively with the others tests (60-70%, 100% and 100% respectively).

Conclusion: We can conclude that Dermatophagoides patch testing is suitable to identify atopic dermatitis patients that exacerbate lesions after exposure to mite antigens. Consequently, patch testing procedure represents an additional diagnostic tool to be employed besides prick testing and seric specific IgE in the diagnosis of mite-induced eczematous dermatitis.

Key words: Atopic dermatitis, Dermatophagoides, Patch test, Sensitivity, Specificity

INTRODUÇÃO

A dermatite atópica (DA) é uma doença inflamatória crónica cutânea, definida pela morfologia característica das lesões, o padrão de distribuição, a evolução crónico-recidivante e pelo seu carácter pruriginoso. Em cerca de 80% dos casos detecta-se a existência de predisposição genética para doenças atópicas.

A patogénese da dermatite não está ainda completamente esclarecida. No entanto, têm sido descritas diversas alterações imunológicas: níveis séricos elevados de IgE, redução transitória ou persistente da hipersensibilidade retardada, anergia cutânea para certos antígenos virais e bacterianos, assim como susceptibilidade para algumas infecções (Tabela 1).

As alterações cutâneas observadas em doentes com dermatite atópica, sugerem que o contacto com alérgenos ambientais de alto peso molecular como os ácaros do pó doméstico, faneras de animais e humanos, pólenes, agentes bacterianos (*Staphylococcus aureus*) e fúngicos (*Pityrosporum ovale*, *Candida albicans*), ou mesmo autoantígenos, obedecendo a um padrão tipo Th2, podem desempenhar um papel crucial no desenvolvimento das lesões,

com ou sem a presença de anticorpos IgE específicos para esses alérgenos ambientais.

Na dermatite atópica os ácaros do pó doméstico inalados ou após contacto mantido na pele constituem as vias de penetração orgânica preferencial^{3,4}. A fragilidade e a própria quebra da barreira cutâneo-mucosa por perda da integridade do estrato córneo, permite a possibilidade de interacção de alérgenos ambientais com células presentes nas camadas superiores da derme. O processamento de peptídeos resultantes da degradação enzimática de ácaros do pó doméstico pelas células dendríticas e de Langerhans da derme, constituem o mecanismo indutor da agressão imuno-inflamatória nestes doentes. Por outro lado, num grupo mais restrito de doentes coexiste em simultâneo uma reacção dupla dependente de IgE. Neste contexto os ácaros do pó doméstico induzem uma resposta imune resultante da estimulação de células de Langerhans, através da ligação da IgE ao receptor FcεRI, cuja expressão está aumentada, permitindo a activação celular e apresentação facilitada de alérgenos às células T. As células TCD4+ estimuladas expressam preferencialmente IL-4, IL-5 e IL-13 (padrão Th2). A IL-4 estimula a síntese da IgE pelas células B e induz a expressão de receptores de baixa afinidade

Tabela 1. Perfil imunológico na dermatite atópica^{1,2}

IgE sérica total elevada
Eosinofilia
↑ libertação de histamina
Diminuição celular T CD8+
↑ CD23
Activação macrofágica
Expressão Th2: aumento IL-4, IL-5, IL-13
↑ L-Selectina sérica
Diminuição apoptose monocitária

(CD23) em diversas células. A libertação de citocinas e mediadores desencadeia um infiltrado celular de eosinófilos com libertação de proteína básica maior, que origina a degranulação mastocitária. A IL-12 libertada pelos eosinófilos e

macrófagos induz, na fase crónica da dermatite atópica, um desvio para o padrão Th1 com aumento de TNF, IFN γ e IL-2 (Tabela 2).

Por outro lado, estudos recentes têm demonstrado as diferenças no comportamento celular e humoral do *Pityrosporum ovale* e *Candida albicans* nos doentes com dermatite atópica. Assim, enquanto o *Pityrosporum* mostra uma maior tendência para um perfil Th2 com libertação preferencial de IL-4, contribuindo na síntese da IgE na fase aguda da dermatite atópica, a *Candida* parece exibir uma clara expressão do padrão Th1 com libertação de IFN γ , o que poderá explicar a sua influência na fase tardia da doença e o seu papel no processo inflamatório crónico.^{8,9,10,11}

O significado clínico desta resposta bifásica (Th2/Th1) ainda não está perfeitamente esclarecida, pois células T do sangue periférico mostram expressão deficitária em IFN γ , sugerindo um desequilíbrio persistente no sentido Th2¹².

Está plenamente demonstrado, que em muitos doentes com dermatite atópica, é observada uma exacerbação clínica das lesões após contacto com ambientes com forte exposição a empoeiramento doméstico e melhoria com medidas de evicção alérgica apropriada.^{13,14,15}

Nos últimos anos os testes epicutâneos têm suscitado interesse considerável como método diagnóstico pela sua sensibilidade e especificidade¹⁶. Em doentes com dermatite atópica com história clínica sugestiva de sensibilização a ácaros do pó doméstico, os testes epicutâneos a estes alérgenos, poderão constituir um método diagnóstico complementar num correcto estadiamento etiopatogénico desta patologia.

Em doentes com clínica de dermatite atópica e sensibilidade a ácaros do pó doméstico, pretende-se avaliar a rendibilidade diagnóstica da utilização de testes epicutâneos específicos, correlacionando os resultados do teste *prick* e IgE específica, com os resultados de testes *patch* específicos. Foi ainda objectivo deste estudo determinar a sensibilidade e

Tabela 2. Células e citocinas na pele da dermatite atópica^{1,6,7}

	Pele sã	Lesão aguda	Lesão crónica
Células			
Células T	+	+++	++
Eosinófilos	-	+	+++
Macrófagos	-	++	+++
Expressão de citocinas			
IL-4/IL-13	+	++++	+++
IL-5	-	++	+++
IFN- γ	-	-	++
IL-12	-	-	++
IL-16	+	+++	++
GM-CSF	+	+	++

especificidade dos testes efectuados assim como o seu valor predictivo positivo e negativo.

MATERIAL E MÉTODOS

Doentes

Foram incluídos neste estudo 40 doentes de ambos os sexos com dermatite atópica (critérios de Hanifin e Rajka¹⁷ - Tabela 3) em fase de estabili-

zação clínica e sem lesões activas no último mês, sendo discriminados os seguintes grupos etários: crianças (0-10 anos), adolescentes (11-20 anos) e adultos jovens (21-30 anos).

Como grupos controlos foram incluídos 10 alérgicos sem dermatite atópica e 10 indivíduos saudáveis, com idades compreendidas entre os 0 e os 30 anos.

Constituíram critérios de exclusão a presença de dermatite atópica activa ou outra patologia cutânea concomitante nomeadamente infecciosa e doença sistémica inflamatória/ autoimune com possível envolvimento cutâneo.

Foi efectuada história clínica detalhada (idade de início dos sintomas, registo das características e localização das lesões), com atenção ao número de recidivas no último ano, factores desencadeantes/ agravantes, ambiente familiar e antecedentes familiares e/ou pessoais de atopia.

Gravidade da dermatite atópica

A gravidade da dermatite foi avaliada segundo o SCORAD¹⁸, Tabela 4, de acordo com a área cutânea afectada, avaliação da intensidade e de outros sintomas subjectivos. Foi considerada como ligeira: de 1- 25 pontos; moderada : de 25 a 50 pontos e grave: mais de 50 pontos.

Testes cutâneos de alergia

Testes cutâneos de alergia por picada utilizando uma bateria de aeroalergénios comuns:

(ALK-Abelló, Madrid, Espanha) extracto normalizado que inclui *Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae*, e como controlo positivo a histamina a 10 mg/ml.

A leitura foi efectuada aos 15 minutos, tendo sido considerado positivo o tamanho da pápula com diâmetro igual ou superior ao induzido pela histamina.

Tabela 3 - Critérios de diagnóstico da dermatite atópica (Hanifin e Rajka)

Critérios *Major* *

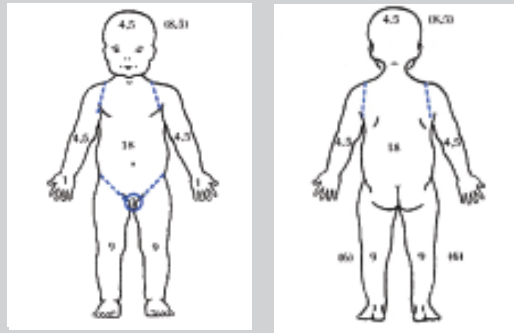
- Prurido
- História familiar ou pessoal de atopia
- Evolução crónico-recidivante
- Distribuição e morfologia típica das lesões cutâneas

Critérios *Minor* *

- Idade de início (3-6 meses, ausente à data do parto)
- Xerose cutânea
- Reforço das pregas palmares
- Queratose pilar
- Dupla prega palpebral (Dennie-Morgan)
- Hiperpigmentação peri-orbitária
- Queilite
- Dermatose plantar juvenil
- Pitíriase alba
- Dermografismo branco / Estrófulos
- Tendência para infecções cutâneas
- Intolerância à lã, à sudação e/ou a alimentos
- Evolução influenciada por factores ambientais e emocionais
- Aumento das IgE séricas
- Prick test positivo (reactividade imediata, tipo I)

* Devem estar presentes 3 ou mais destes critérios

Tabela 4 - SCORAD: Avaliação da gravidade da dermatite atópica

SCORAD (Scoring index of atopic dermatitis)																	
A. Extensão  (): crianças < 2 anos	B. Intensidade <table border="1"> <thead> <tr> <th>CRITÉRIO</th><th>INTENSIDADE</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Eritema</td><td></td></tr> <tr> <td>Edema/Pápula</td><td></td></tr> <tr> <td>Crosta</td><td></td></tr> <tr> <td>Escoriação</td><td></td></tr> <tr> <td>Liquenificação</td><td></td></tr> <tr> <td>Secura</td><td></td></tr> <tr> <td>TOTAL</td><td></td></tr> </tbody> </table> 0= ausente 1= ligeira 2= moderada 3= grave	CRITÉRIO	INTENSIDADE	Eritema		Edema/Pápula		Crosta		Escoriação		Liquenificação		Secura		TOTAL	
CRITÉRIO	INTENSIDADE																
Eritema																	
Edema/Pápula																	
Crosta																	
Escoriação																	
Liquenificação																	
Secura																	
TOTAL																	
C. Sintomas subjetivos Prurido (0-10) + Alterações do sono (0-10)	SCORAD = A/5 + 7B/2 + C LIGEIRA = 1-25 pontos MODERADA = 25-50 pontos GRAVE > 50 pontos																

Determinação de IgE total e IgE específica

Foram efectuados os doseamentos de IgE total e IgE específica (Pharmacia CAP System, Uppsala, Suécia) a aeroalergénios, nos casos de positividade dos testes cutâneos.

Os valores de IgE total > 100 KU/L e IgE específica de classe³2 foram considerados positivos

Testes epicutâneos

Após lavagem da pele com álcool e depois de seca, foram colocadas as substâncias testadas directamente no dorso do doente e cobertas com um material protector.

Os testes epicutâneos utilizados foram (Chemo-technique Diagnostics, Malmo, Suécia):

Dermatophagoides mix (pteronyssinus e farinae)
20% (50/50)

Dermatophagoides mix (pteronyssinus e farinae)
30% (50/50)

Foram testados ainda os seguintes extractos alergénicos (ALK-Abelló, Madrid, Espanha):

Cladosporium herbarum, *Fusarium moniliforme*,
Candida albicans (100 BU)

A leitura foi efectuada às 48 e 96 horas e os resultados apresentados de acordo com a seguinte classificação:

- + eritema
- ++ eritema e pápulas
- +++ eritema, pápulas e vesículas
- ++++ eritema, pápulas, vesículas e edema

Foi obtido consentimento informado de todos os participantes ou autorização pelo responsável legal.

Análise estatística

O método preponderante no tratamento dos dados neste estudo foi a análise descritiva, tendo utilizado o teste qui-quadrado para a comparação de proporções de tabelas de contingência. Toda a análise estatística foi efectuada utilizando o programa estatístico SPSS®.

RESULTADOS

O grupo de doentes com dermatite atópica (F=15, M=25), apresentava uma média de idades de $9,35 \pm 5,78$ anos, tendo sido separados em três grupos etários: 28 crianças, 9 adolescentes e 3 adultos jovens. A gravidade do quadro cutâneo, avaliada segundo o SCORAD, foi considerada como ligeira em 29 doentes, moderada em 9 e grave em 2 indivíduos. A área corporal mais frequentemente atingida foram as flexuras (95%), seguido da face (52,5%), tronco (35%), mãos e pés (12,5%). Foi durante o primeiro ano de vida, que a maior parte dos doentes iniciou lesões de dermatite atópica, tendo sido a Primavera a estação do ano mais frequentemente referida. Como factores desencadeantes/agravantes, foram descritos em ordem decrescente o calor e sudação (82,5%), exposição a ácaros (42,5%), as emoções (2,5%), alguns alimentos (20%) e as infecções das vias aéreas superiores (15%). 70% dos doentes (28) apresentavam entre 1 a 5 recidivas por ano, e 12% mais de 5 recidivas. Em relação aos antecedentes pessoais e familiares, a atopia esteve presente

respectivamente em 85% (34) e 90% (36). Nas Tabelas 5 e 6 apresentam-se de forma descritiva as características clínicas e laboratoriais dos doentes estudados com dermatite atópica.

No grupo de alérgicos sem dermatite (F=3, M=7), com média de idades de 10,8 anos, 75% (6) apresentaram antecedentes familiares de atopia (Tabela 7).

Dos 10 indivíduos saudáveis do grupo controlo (F=7, M=3), apenas um apresentava antecedentes pessoais de atopia e em dois foram descritos antecedentes familiares (Tabela 8).

Na Tabela 9 apresentam-se as determinações de IgE total, assim como os resultados dos testes cutâneos de alergia para *DP* e *DF* e os doseamentos de IgE específica nos grupos estudados. Nos doentes com dermatite atópica, 92,5% dos testes *prick* efectuados foram positivos, tendo sido a IgE específica de classe γ 2 em 35 doentes (87,5%). Não se encontraram diferenças significativas entre os resultados dos testes *prick* e o doseamento da IgE específica para os três grupos.

Na Tabela 10 comparam-se os resultados obtidos após realização de testes *patch* específicos para *DP* e *DF* nos indivíduos dos diversos grupos considerados. Observou-se uma resposta semelhante para as duas misturas de ácaros utilizadas, não se tendo verificado reacções positivas com *Petrolatum* (controlo negativo) em nenhum dos três grupos estudados.

Foram efectuados ainda testes epicutâneos específicos para *Fusarium moniliforme* *Cladosporium herbarum* e *Candida albicans* (extractos ALK-Abelló), nos doentes com dermatite atópica, tendo-se verificado reacções tardias frequentes, nomeadamente para *Candida* (Tabela 11).

Procedeu-se em continuação, a análise e comparação da sensibilidade e especificidade dos testes cutâneos por picada, doseamento IgE específica e testes epicutâneos específicos, assim como a determinação do valor predictivo positivo e negativo (gráfico 1 e 2).

Tabela 5. Caracterização clínica do grupo de doentes com dermatite atópica
AP=Antecedentes pessoais de atopia; AF=Antecedentes familiares de atopia

Nº	IDADE	SEXO	AP	AF	SCORAD			Idade inicio	Nº crises/ano
					Ligeira	Moderada	Grave		
1	3	M	+	+			54	9m	>5
2	4	M	+	+		32		6m	>5
3	4	F	+	+	23			4m	>5
4	5	F	+	+	17			3m	5
5	5	M	+	+		38		8m	4
6	5	M	-	+			66	9m	5
7	5	M	+	+		38		6m	3
8	5	M	+	+		34		4a	2
9	6	M	+	+	23			9m	>5
10	6	F	+	+		48		6m	5
11	6	M	+	-		29		4m	3
12	6	F	-	+	10			2m	>5
13	6	M	+	+		35		1m	2
14	6	M	+	+	22			4m	2
15	7	M	+	+	22			6m	>5
16	7	M	+	+	19			7m	0
17	7	M	-	+		33		9m	1
18	7	F	+	+	17			4a	>5
19	7	F	-	-	11			9m	2
20	7	F	+	+	19			9m	5
21	7	F	+	+		44		6m	>5
22	8	M	+	+	12			4m	5
23	8	F	+	+	13			3a	>5
24	8	F	+	+	24			6m	5
25	9	M	+	+	16			6m	>5
26	9	F	+	+	20			5a	5
27	10	F	+	-	14			2a	5
28	10	F	+	+	16			3a	2
29	11	M	+	+	16			3a	4
30	11	M	+	+	21			1a	3
31	11	F	+	+	18			4a	>5
32	12	M	+	+	16			7m	0
33	12	M	+	+	21			6m	>5
34	12	M	-	+	16			5m	2
35	13	M	+	+	8			1m	0
36	14	F	-	+	9			4m	0
37	14	M	+	+	15			3a	2
38	21	M	+	-	12			6m	0
39	30	M	+	+	22			10a	3
40	30	M	+	+	20			4a	3

Tabela 6. Caracterização laboratorial do grupo de doentes com dermatite atópica

Nº	IgE total	PRICK TESTE					TESTES EPICUTÂNEOS									
		IgE específica					mix DPDF 20%		mix DPDF 30%		Cladosporium		Fusarium		Candida	
		H	DP	DF	DP	DF	48h	96h	48h	96h	48h	96h	48h	96h	48h	96h
1	37,4	5	4	4	classe 0	classe 0	++	-	++	-	+	-	++	-	++	++
2	288,4	3	4	4	classe 2	classe 2	++	++	++	++	-	-	-	-	-	++
3	177,0	4	5	5	classe 2	classe 2	++	++	++	++	-	+	-	+	-	++
4	530,0	4	6	6	classe 4	classe 3	++	++	++	++	-	-	-	-	-	+
5	730,0	6	7	7	classe 3	classe 3	+++	+++	+++	+++	-	+	-	-	-	-
6	254,0	4	7	8	classe 6	classe 6	+	+	++	++	+	-	+	-	+	+
7	394,0	4	8	8	classe 6	classe 6	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-
8	67,0	3	3	3	classe 0	classe 0	+	++	+	++	-	-	-	-	-	-
9	372,0	4	8	8	classe 6	classe 6	++	++	++	++	-	-	-	-	-	++
10	232,0	3	5	5	classe 5	classe 5	++	++	++	++	-	+	-	-	-	-
11	52,0	4	2	2	classe 0	classe 0	++	++	+	++	-	-	-	-	+	+
12	1000,0	3	3	3	classe 4	classe 3	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	+	+
13	89,0	8	8	8	classe 3	classe 3	+++	+++	+++	+++	+	+	+	-	+	++
14	227,0	5	7	7	classe 6	classe 4	++	++	++	++	-	-	-	-	+	+
15	5000,0	8	8	9	classe 6	classe 6	+	++	+	++	-	-	-	-	-	-
16	82,0	4	4	4	classe 0	classe 0	++	+	++	+	-	-	-	-	-	-
17	386,0	5	6	6	classe 3	classe 3	+++	++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
18	279,0	6	12	10	classe 5	classe 5	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-
19	421,0	7	12	7	classe 6	classe 4	+	+	++	++	-	-	-	-	+	-
20	542,0	4	6	6	classe 2	classe 2	++	++	++	++	++	++	+	+	++	++
21	1021,0	6	8	10	classe 5	classe 5	+	+	+	+	++	-	-	-	++	++
22	585,0	3	7	6	classe 5	classe 4	+	++	+	++	-	++	-	+	-	+
23	460,0	7	8	8	classe 4	classe 4	++	++	+++	+++	-	+	-	-	+	+
24	182,0	4	8	8	classe 5	classe 5	++	+	++	++	-	+	-	-	-	+
25	122,0	5	4	4	classe 2	classe 2	+	+	+	+	-	-	-	-	+	++
26	219,0	10	12	10	classe 5	classe 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	59,0	4	3	3	classe 0	classe 0	++	-	+	-	-	-	-	-	-	-
28	795,0	8	8	9	classe 3	classe 3	+++	++	+++	++	-	-	-	-	-	-
29	1000,0	3	6	6	classe 6	classe 6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
30	1000,0	4	5	5	classe 6	classe 6	+	++	+	++	+	+	+	-	+	+
31	7000,0	4	8	8	classe 6	classe 6	++	++	++	++	+	+	++	+	+	+
32	382,0	2	4	4	classe 6	classe 5	++	+	++	+	-	-	-	-	-	++
33	284,0	7	8	8	classe 6	classe 6	++	++	+++	+++	-	-	-	-	+	+
34	300,0	6	8	8	classe 5	classe 4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	+
35	4570,0	6	6	6	classe 4	classe 4	+	+	++	+	-	-	-	-	-	-
36	266,0	5	6	6	classe 5	classe 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	668,0	9	25	10	classe 4	classe 4	++	++	++	++	+	-	+	-	+++	+++
38	423,0	6	7	7	classe 3	classe 3	++	++	++	++	-	-	-	-	-	+
39	547,0	6	8	6	classe 2	classe 2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
40	144,0	8	10	10	classe 3	classe 3	++	++	++	++	-	-	-	-	+	+

Tabela 7 - Caracterização clínica e laboratorial do grupo de doentes alérgicos sem dermatite

Nº	IDADE	SEXO	AP	AF	Rinite	Asma	IgE total	PRICK TESTE			IgE específica		mix DPDF 20%		Mix DPDF 30%	
								H	DP	DF	DP	DF	48h	96h	48h	96h
1	6	M	+	+	+	-	188,0	3	4	4	classe 3	classe 3	+	+	+	+
2	12	M	+	+	+	-	287,4	5	6	6	classe 4	classe 3	+	+	+	+
3	14	F	+	-	-	+	77,0	4	2	2	classe 0	classe 0	-	-	+	+
4	5	F	+	+	+	+	230,0	4	6	6	classe 4	classe 3	+	+	+	+
5	6	M	+	+	-	+	130,0	6	6	6	classe 2	classe 2	+	+	+	+
6	11	M	+	-	-	+	54,0	4	2	2	classe 0	classe 0	-	-	-	-
7	5	M	+	-	+	+	394,0	3	8	8	classe 6	classe 6	++	++	++	++
8	6	M	+	-	+	+	167,0	4	4	4	classe 2	classe 2	+	+	+	+
9	9	M	+	-	-	+	72,0	4	2	2	classe 0	classe 0	-	-	-	-
10	4	F	+	+	+	+	232,0	3	5	5	classe 5	classe 5	+	+	+	+

Tabela 8 - Caracterização clínica e laboratorial do grupo de indivíduos saudáveis

Nº	IDADE	SEXO	AP	AF	IgE total	PRICK TESTE			IgE específica		mix DPDF 20%		Mix DPDF 30%	
						H	DP	DF	DP	DF	48h	96h	48h	96h
1	8	M	-	+	88,0	3	2	2	classe 0	classe 0	+	+	+	+
2	4	F	-	-	37,4	5	3	2	classe 0	classe 0	-	-	+	-
3	14	F	-	+	17,0	4	2	2	classe 0	classe 0	-	-	-	-
4	5	F	-	-	30,0	6	2	0	classe 0	classe 0	-	-	-	-
5	7	M	-	-	70,0	4	3	2	classe 0	classe 0	+	+	+	+
6	15	F	-	-	54,0	6	0	0	classe 0	classe 0	-	-	-	-
7	6	F	-	-	34,0	4	0	0	classe 0	classe 0	+	+	+	+
8	5	F	-	-	67,0	6	2	2	classe 0	classe 0	-	-	-	-
9	7	M	-	-	32,0	4	0	0	classe 0	classe 0	-	-	-	-
10	9	F	-	-	52,0	3	2	2	classe 0	classe 0	-	-	-	-

Tabela 9.- Resultados do doseamento da IgE total, testes de alergia Prick para *Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae* e determinação de IgE específica

	Nº doentes	IgE total >100KU/L	Prick positivo DP/DF	IgE específica classe ≥ 2	
				DP	DF
DA	40	34 (85%)	37 (92,5%)	35 (87,5%)	35 (87,5%)
A	10	6 (60%)	7(70%)	7 (70%)	7 (70%)
C	10	0	0	0	0

DA: Dermatite atópica; A: Alérgicos sem dermatite; C: Controlo

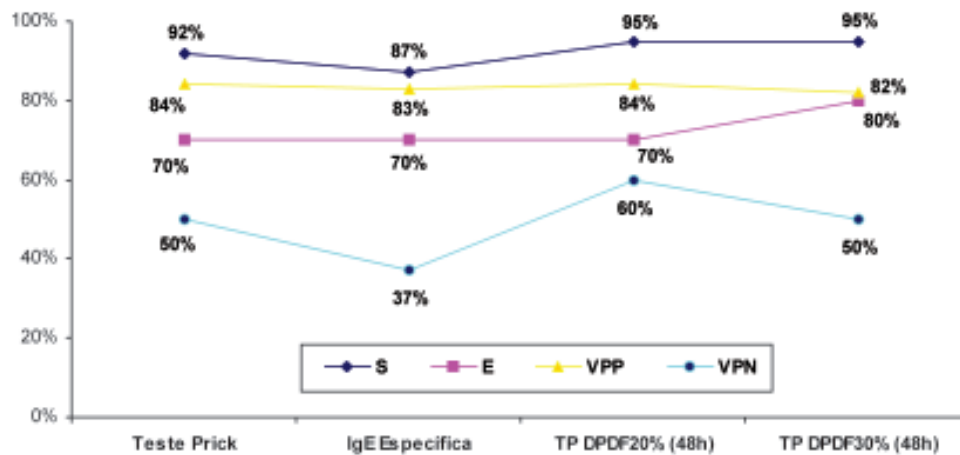
Tabela 10. Comparação de resultados dos testes epicutâneos, misturas DPDF 20% e 30%

TESTES EPICUTÂNEOS									
	N.º	Mix DP DF 20%				Mix DP DF 30%			
		48 h (nº)		96 h (nº)		48 h (nº)		96 h (nº)	
DA	40	+	(11)	+	(10)	+	(10)	+	(7)
		++	(20)	++	(20)	++	(18)	++	(21)
		+++	(7)	+++	(6)	+++	(10)	+++	(8)
A	10	+	(6)	+	(6)	+	(7)	+	(7)
		++	(1)	++	(1)	++	(1)	++	(1)
C	10	+	(3)	+	(3)	+	(4)	+	(3)

nº : número de doentes DA: Dermate atópica; A: Alérgicos sem dermatite; C: Controlo

Tabela 11.- Resultados dos testes epicutâneos para os fungos testados

TESTES EPICUTÂNEOS						
	<i>Fusarium</i>		<i>Cladosporium</i>		<i>Candida</i>	
	48 h (nº)	96 h (nº)	48 h (nº)	96 h (nº)	48 h (nº)	96 h (nº)
DA	+	(5)	+	(7)	+	(11)
	++	(2)	++	(3)	++	(3)
			+++	(1)	+++	(1)

**Gráfico 1.** Comparação da sensibilidade e especificidade dos testes efectuados e determinação do valor predictivo positivo e negativo, para o grupo de DA em relação ao grupo de alérgicos sem dermatite

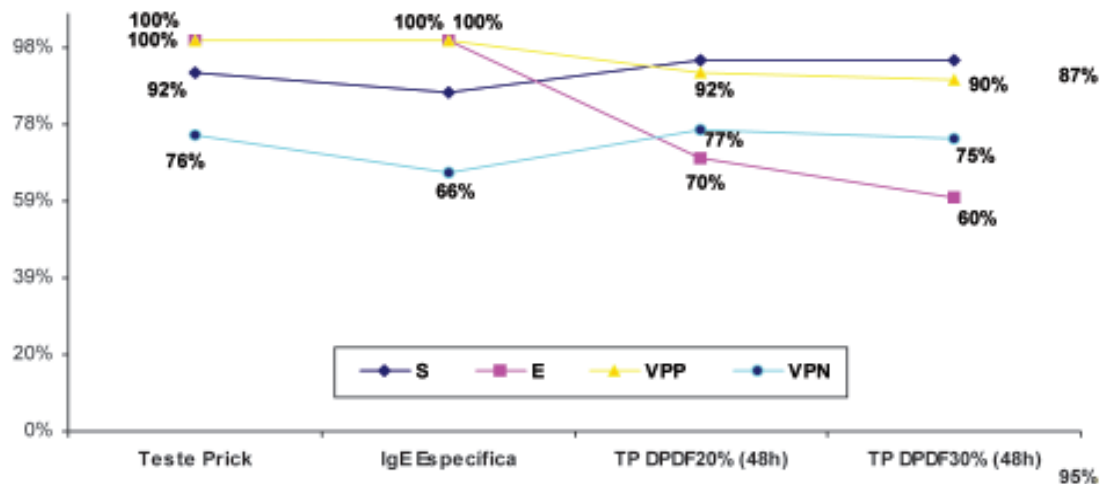


Gráfico 2. Comparação da sensibilidade e especificidade dos testes efectuados e determinação do valor predictivo positivo e negativo, para o grupo de DA em relação ao grupo de indivíduos saudáveis

DISCUSSÃO

No grupo de doentes com dermatite atópica, com predomínio do sexo masculino, foi mais frequente o grupo etário constituído por crianças com idade inferior a 10 anos de idade, tendo sido considerados de gravidade ligeira, a maior parte dos doentes. 70% referiram menos de 5 recidivas por ano, e as flexuras, a face e o tronco revelaram-se como as áreas mais afectadas. Para além da exposição a ácaros do pó doméstico, os factores mais identificados como desencadeantes foram a elevada temperatura ambiente e o stress emocional. Conforme está descrito na literatura, os antecedentes atópicos estavam presentes em 85% dos doentes.

Quanto ao grupo de doentes alérgicos sem dermatite, a média de idades foi discretamente superior, manifestando antecedentes pessoais atópicos principalmente respiratórios. Por último, no grupo de indivíduos saudáveis, com uma média etária mais

elevada, apenas dois apresentavam antecedentes familiares atópicos.

Michel *et al* em trabalhos publicados em 1982, descrevem lesões eczematosas semelhantes às apresentadas pelos doentes com dermatite atópica, através da aplicação de testes epicutâneos neste tipo de doentes¹⁹. Os diferentes estudos efectuados para avaliar a sua utilidade como método diagnóstico, reflectem uma ampla disparidade de resultados^{20,21,22}. Esta variabilidade (15-70%) poderá ser explicada pela diversidade dos métodos (alergénios, preparação da pele, localização, tempo de leitura) utilizados pelos autores²³

Nos estudos publicados os extractos de ácaros, gramíneas e fungos, têm sido os alergénios mais frequentemente utilizados. Deleuran *et al* utilizando extractos purificados de Der p1 e Der p2, observaram menor número de reacções positivas em relação aos extractos não purificados, o que põe em causa a possibilidade de um fenómeno irritativo²⁴.

Reitamo *et al* utilizando concentrações superiores 500 vezes à do extracto *prick* conseguem reacções positivas para ácaros em 18% dos doentes²⁵.

Langeveld-Wildschut *et al*, numa tentativa de standardizar esta técnica, utilizaram concentrações de 100; 1.000; 10.000 e 100.000 Av/ml tendo verificado como dose óptima a correspondente a 10.000 Av/ml²⁶. Por outro lado, Darsow e colaboradores encontram 44% de testes epicutâneos positivos para concentrações de 7.000 PNU (DP)¹⁶. Estes autores consideram que a especificidade varia em função do alergénio utilizado.

Estudos recentes utilizando uma mistura de DP e DF a 20% (Chemotechnique Diagnostics), dose equivalente a 300mgr/g Der p1, salientam a frequência de reacções falsamente positivas em indivíduos saudáveis. Após várias diluições, consideram aceitável a diluição de 0,1% da mistura inicial²⁷. Os resultados do nosso estudo, nomeadamente nos dados referidos ao grupo controlo, sustentam a ideia de que é necessária a standardização das concentrações para a comparação dos diferentes resultados publicados (Tabela 12)^{16, 27}.

Têm sido descritos diferentes métodos, desde a manipulação previa da pele com bandas adesivas ou “stripping” até a aplicação directa do alergénio sob a pele sã. Os resultados são variáveis, Voorst-Vader *et al* encontraram maior positividade com a utilização de tiras adesivas que segundo Lagenveld não devem ser aplicadas mais de 10 vezes^{19,26}.

Os dados referentes ao veículo utilizado também diferem. Assim, Darsow *et al*, com vaselina a 10% e isopropil miratato obtêm 67% de reacções *versus* 33% quando utilizado hidrogele de metilcelulose a 10% com propilenglicol²⁷. No nosso trabalho o veículo utilizado foi o *Petrolatum*, e não foram identificadas reacções em nenhum dos grupos estudados quando utilizado como controlo negativo.

Também, quanto à localização, apesar de existir alguma discrepância, parece existir uma maior

incidência de reacções eczematosas quando os testes epicutâneos são aplicados no dorso (Fig. 1).

As publicações existentes diferem também quanto ao tempo de leitura, apesar de existir reacções descritas nos primeiros 10-20 minutos, os estudos em geral, preconizam a leitura às 24, 48 e 72 horas. Vários autores consideram as 48 horas como pico máximo de resposta com diminuição progressiva da reacção nas 24 horas seguintes^{16,29,35}. Os nossos resultados no entanto, mostram que na maioria dos casos a positividade mantém-se para além das 48 horas, verificando-se reacções importantes as 96 horas.

Segundo alguns autores, os valores de IgE específica são menos elevados em doentes com reacções tardias; no entanto, parece existir unanimidade quanto à correlação entre os testes por picada, a IgE específica e os testes epicutâneos³⁰. Os resultados encontrados neste estudo, para os grupos de dermatite atópica e alérgicos sem dermatite, estão em consonância com os estudos publicados. No entanto, não é linear que um teste epicutâneo fortemente positivo se acompanhe da presença de classe de IgE específica muito elevada ou vice-versa (por exemplo, doentes 5, 6- Tabela 6).

Por outro lado, dado que foi objectivo deste trabalho avaliar a rendibilidade dos testes epicutâneos como instrumento diagnóstico, foram determinadas ainda a sensibilidade, especificidade, valor predictivo positivo e negativo.

Da análise dos resultados comparando o grupo com dermatite atópica e os alérgicos sem dermatite observamos que a sensibilidade dos testes epicutâneos foi ligeiramente superior (95%) às dos testes cutâneos (92%) e IgE específica (87%). tendo sido a especificidade, respectivamente de 82%, 70% e 70%.

No gráfico 2, que relaciona o grupo de DA e grupo controlo, observamos que a sensibilidade dos testes epicutâneos foi superior (95%) em relação aos testes cutâneos (92%) e IgE específica (87%);

Tabela 12. Estudos efectuados utilizando testes epicutâneos (Chemotechnique Diagnostics) com mistura de *Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae* a 20%²⁷

Autor	Ano	Dermatite atópica nº positivos/totais	Alérgicos nº positivos/totais	Saudáveis nº positivos/totais
Gaddoni <i>et al</i>	1994	22/46 (47%)	-	8/52 (15%)
Manzini <i>et al</i>	1995	81/157 (51%)		9/100 (9%)
Pigatto <i>et al</i>	1997	30/186 (16%)		
Beltrani <i>et al</i>	1997	18/54 (33%)		
Ingordo <i>et al</i>	2000	10/17 (58%)	5/12 (41%)	3/11 (27%)
Jamora <i>et al</i>	2001	5/8 (62,5%)*	2/11 (18,2%)*	1/12 (8,3%)*

* resultados correspondentes à diluição de 0,1%

se bem que com especificidade muito menor, respectivamente 60-70%, 100% e 100%. Em contraste, Darsow *et al* num estudo efectuado em 253 doentes com dermatite atópica com testes *patch* para vários alérgenos incluindo *DP* (3.000-10.000 PNU/g), observam maior especificidade para os testes epicutâneos (69%) em relação ao *prick* (52%) e IgE específica (54%) com uma sensibilidade, respectivamente de 56%, 69% e 65%.

Como já foi referido, estudos recentes salientam a *Candida albicans* como relevante na etiopatogenia da dermatite atópica por um mecanismo duplo: por um lado a indução de clones Th1 e por outro favorecendo a síntese de IgE específica por aumento na secreção de IL-4 em paralelo a uma redução paradoxal da produção de IFN- γ de *pools* de linfócitos T sensibilizados. É neste contexto, que a contribuição de fungos pode resultar num mecanismo de alergia/infecção/sobreinfecção polarizando respostas divergentes: mediação de IgE

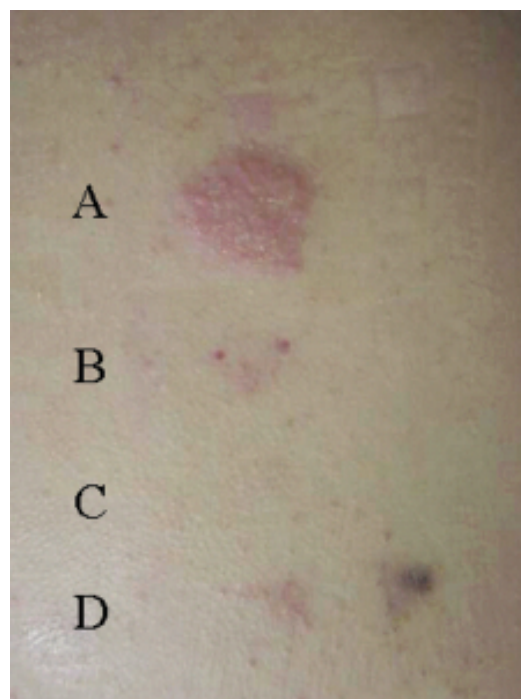


Fig. 1. Teste epicutâneo com leitura às 48 horas, referente ao doente 23. A: mix *DPDF* 30%; B: *Candida albicans*; C: *Fusarium moniliforme*; D: mix *DPDF* 20%

(*P ovale*) e mediação celular (*C albicans*). Outros fungos têm sido identificados como infestantes e indutores de uma resposta de hipersensibilidade celular nomeadamente *Fusarium moniliforme* e *Cladosporium herbarum*. De facto, a análise dos resultados do nosso estudo reflecte esta eventual contribuição na fase tardia da doença. Assim, na leitura efectuada às 96 horas, verificou-se positividade para *Candida* em 8 doentes (6+, 2++) que não apresentaram reacção às 48 horas, num total de 21 reacções (Tabela 6). Foram encontrados resultados semelhantes para *Cladosporium* (5 reacções tardias num total de 11 doentes) e para *Fusarium* (3 reacções às 96 horas num total de 5).

Os resultados deste estudo salientam a importância dos testes epicutâneos específicos como um instrumento adicional no diagnóstico da dermatite atópica, nomeadamente nos doentes com aparecimento e/ou agravamento das lesões após exposição a aeroalergénios.

BIBLIOGRAFIA

- Sanz M L. Avances en dermatitis atópica. Inmunopatología en dermatitis atópica. Rev Esp Alergol Inmunol Clin. 2000; 15 (nº2):17-37.
- Yamada N, Wakugawa M, Kuwata S, Nakagawa H, Tamaki K. Changes in eosinophil and leukocyte infiltration and expression of IL-6 and IL-7 messenger RNA in mite allergen patch test reactions in atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 1996; 98: 201-6.
- Colloff MJ. Exposure to house dust mites in homes of people with atopic dermatitis. Br J Dermatol. 1992; 127: 322-7.
- Tupker R, De Monchy J, Coenraads P, Homan A, Van der Meer J. Induction of atopic dermatitis by inhalation of house dust mite. J Allergy Clin Immunol. 1996; 97:1064-70.
- Wistokat-Wulff A, Schmidt P, Darsow U, Ring J, Kapp A. Atopy patch test reactions are associated with T lymphocyte-mediated allergen-specific immune responses in atopic dermatitis. Clin Exp Allergy. 1999; 29:513-21.
- Bruijnzeel P, Kuijper, Kapp A, Warringas R, Betz S, Bruijnzeel-Koomen C. The involvement of eosinophils in the patch test reaction to aeroallergens in atopic dermatitis: its relevance for the pathogenesis of atopic dermatitis. Clin Exp Allergy. 1993; 23: 97-109.
- Sager N, Feldmann A, Schilling G, Kreitsch P, Neumann. House dust mite-specific T cells in the skin of subjects with atopic dermatitis: Frequency and lymphokine profile in the allergen patch test. J Allergy Clin Immunol. 1992; 89: 801-10.
- Tanaka M, Aiba S, Matsumura N et al. IgE-Mediated Hypersensitivity and Contact Sensitivity to Multiple Environmental Allergens in Atopic Dermatitis. Arch Dermatol. 1994; 130: 1393-1401.
- Savolainen J, Lintu P, Kosonen J et al. *Pityrosporum* and *Candida* specific and non-specific humoral, cellular and cytokine responses in atopic dermatitis patients. Clin Exp Allergy. 2001; 31:125-34.
- Tengvall Linder M, Johansson C, Scheynius A, Wahlgren CF. Positive atopy patch test reactions to *Pityrosporum orbiculare* in atopic dermatitis patients. Clin Exp Allergy. 2000; 30:122-31.
- Savolainen J, Lammintausta K, Kalimos K, Viander M. *Candida albicans* and atopic dermatitis. Clin Exp Allergy. 1993; 23: 332-39.
- Taborda L.O que há de novo na dermatite atópica. Rev Portug Alergol Imunol Clin. 1999; 7(nº2):93-4.
- Darsow U, Vieluf D, Ring J. The atopy patch test: an increased rate of reactivity in patients who have an air-exposed pattern of atopic eczema. Br J Dermatol. 1996; 135(2): 182-6.
- Tan B, Weald D, Strickland I, Friedmann P. Double-blind controlled trial of effect of housedust-mite allergen avoidance on atopic dermatitis. Lancet. 1996; 347:15-8.
- Buckley C, Poulter L, Rustin M. Immunohistological analysis of "negative" patch test sites in atopic dermatitis. Clin Exp Allergy. 1996; 26:1057-1063.
- Darsow U, Vieluf D, Ring J. Evaluating the relevance of aeroallergen sensitization in atopic eczema with the atopy patch test; A randomized, double-blind multicenter study. J Am Acad Dermatol. 1999; 40: 187-93.
- Hanifin J, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. Acta Derm Venereol. Supplement 1980; 92: 44-7.
- European Task Force on Atopic Dermatitis. Severity scoring of atopic dermatitis. The SCORAD index. Consensus report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. Dermatol. 1993;186: 23-31.
- Bruin S, Knoll EF, Bruinjnzeel-Koommen C. Atopy patch resting a diagnostic tool? Allergy. 1999; 54:784-91.
- Bourke J, Batta K, Prais L, Abdullah A, Foulds I. The reproducibility of patch tests. Br J Dermatol. 1999; 140:102-5.
- Van Voorst Vader P, Lier J, Woest T, Coenraads P, Nater J. Patch Tests with House Dust Mite Antigens in Atopic Dermatitis Patients: Methodological Problems. Acta Derm Venereol. 1991; 71: 301-5.
- Imayama S, Hashizume T, Miyahara H et al. Combination of patch test and IgE for dust mite antigens differentiates 130 patients with atopic dermatitis into four groups. J Am Acad Dermatol. 1992; 27: 531-8.
- Martinez Molero I. Diagnóstico in vivo de la dermatitis atópica. Rev Esp Alergol Inmunol Clin. 2000;15 (nº2): 26-33.
- Deleuran M, Ellingsen A, Paludan K, Schou C, Thersstrup-Pedersen K. Purified Der p1 and p2 Patch Tests in Patients with Atopic Dermatitis: Evidence for Both Allergenicity and Proteolytic Irritancy. Acta Derm Venereol. 1998; 78: 241-4.
- Reitamo S, Visak K, Kahonen K, et al. Patch test reactions to inhalant allergens in atopic dermatitis. Acta Derm Venereol. 1989; 144: 119-21.
- Langevelt-Wildschut E, Arienne M, Van manom W et al. Evaluation of variables influencing the outcomes of the atopy patch test. J Allergy Clin Immunol. 1995; 96: 66-73.
- Jamora MJ, Verallo-Rowell VM, Samson-Veneracion MT. Patch testing with 20% Dermatophagoides pteronyssinus/farinae (Chemotechnique) antigen. Am J Contact Dermat. 2001; 12(2): 67-71.
- Darsow V, Dieter Vieluf et al. Atopy patch test with different vehicles and allergens concentrations: An approach to standardization. J Allergy Clin Immunol. 1995; 95: 677-84.
- Ring J, Darsow U, Behrendt H. Role of aeroallergens in atopic eczema: Proof of concept with the atopy patch test. J Am Acad Dermatol. 2001; 45: 549-52.
- Langeveld-Wildschut E, Bruijnzeel P, Mudde G et al. Clinical and immunologic variables in skin of patients with atopic eczema and either positive or negative atopy patch test reactions. J Allergy Clin Immunol. 2000;105:1008-16.

31. Pereira C. Patologia alérgica a fungos. Alergia cutânea. Rev Portug Alergol Imunol Clin. 2001; 9 (nº2):129-32.
32. Gutgesell C, Seubert A, Junghans V, Neumann CH. Inverse correlation of domestic exposure to *Dermatophagoides pteronyssinus* antigen patch test reactivity in patients with atopic dermatitis. Clin Exp Allergy. 1999; 29: 920-25
33. Manzini B, Motolese A, Donini M, Seidenari S. Contact allergy to *Dermatophagoides* in atopic dermatitis patients and health subjects. Contact Dermatitis. 1995; 33: 243-6
34. Castelain M, Birnbaum J, Castelain P *et al.* Patch test reactions to mite antigens: a GERDA multicentre study. Contact Dermatitis. 1993; 29: 246-50.
35. Langevelt-Wildschut E, Thepen T, Bihari I *et al.* Evaluation of the atopy patch test and the cutaneous late-phase reaction as relevant models for the study of allergic inflammation in patients with atopic eczema. J Allergy Clin Immunol. 1996; 98: 1019-27