

S. Echechipía¹, R. López Abad², J.L. García Abujeta³, M.A. Gonzalo⁴, B. De la Hoz⁵, T. Lobera⁶, F. Rodríguez⁷, M.T. Caballero⁸, M. Fernández-Benítez⁹, D. Muñoz¹⁰

¹Hospital Virgen del Camino, Pamplona, ²Hospital Joan XXIII, Tarragona, ³Centro de Especialidades, Benidorm ⁴Hospital Universitario Infanta Cristina, Badajoz, ⁵Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid ⁶Complejo Hospitalario San Millán, Logroño, ⁷Hospital Marqués de Valdecilla, Santander, ⁸Hospital Universitario La Paz, Madrid ⁹Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona ¹⁰Hospital Santiago Apóstol, Vitoria.

Original

Estandarización de pruebas epicutáneas con aeroalergenos en la dermatitis atópica. Estudio multicéntrico

En algunos pacientes con dermatitis atópica se ha demostrado que la aplicación directa de aeroalergenos sobre la piel es capaz de reproducir las lesiones características de la enfermedad. Por ello, si las pruebas epicutáneas fueran una técnica bien estandarizada, podrían constituir el modelo ideal de estudio alergológico en estos pacientes. El objetivo de este estudio fue determinar la concentración óptima para pruebas epicutáneas con varios aeroalergenos.

Material y métodos: Se seleccionaron 137 pacientes con dermatitis atópica y 32 controles atópicos > 12 años en los 10 centros participantes en el estudio. Se realizaron pruebas del *prick* y pruebas epicutáneas con extractos de *D. pteronyssinus*, *P. pratense*, *O. europaea*, *Alternaria alternata* y epitelio de gato en concentraciones de 10, 5 y 1 HEP (Laboratorios DIATER®) y se determinó la IgE específica en el suero frente a aquellos alergenios positivos en el *prick*.

Resultados: Los grupos de pacientes y controles fueron homogéneos. Obtuvimos un 25,7% y 9% de parches positivos con 10 HEP de *D. pteronyssinus* en pacientes y controles, respectivamente. Con *O. europaea* sólo hubo un 3% de pacientes y controles con un parche positivo. Con el resto de los alergenios la frecuencia de parches positivos en los pacientes fue del 11,2%, 8,8% y 7,5% frente a *P. pratense*, *A. alternata* y gato, respectivamente, y del 3% en los controles.

Conclusión: La concentración más alta utilizada de 10 HEP con *D. pteronyssinus* puede considerarse adecuada para las pruebas epicutáneas. Respecto a los otros alergenios, esta concentración parece encontrarse por debajo de la óptima, sobre todo en el caso de *O. europaea*.

Palabras clave: Aeroalergenos. Dermatitis atópica. Estandarización. Pruebas epicutáneas.

Patch test standarization with aeroallergens in atopic dermatitis. A multicentre study

In some patients with atopic dermatitis, characteristic eczematous skin lesions can be induced by patch testing with aeroallergens. However, atopy patch test is not well standardised. The aim of this study was to stablish the optimal concentration of aeroallergens for patch testing.

Material and methods: We selected 137 patients with atopic dermatitis and 32 atopic controls in the 10 participant centres. Prick test and atopy patch test with *D. pteronyssinus*, *P. pratense*, *O. europaea*, *A. alternata* and cat dander extracts at 10, 5 and 1 HEP (DIATER S.A.) as well as specific IgE determination were performed.

Correspondencia:
S. Echechipía Madoz
Sección de Alergología,
Hospital Virgen del Camino
CS Conde Oliveto.
Pza. Paz s/n. 31002 Pamplona
E-mail: sechechm@cfnavarra.es

Results: The groups of patients and controls were homogeneous. A 25,7% and 9% of patients and controls, respectively, had a positive result when patch testing with *D. pteronyssinus* extract at 10 HEP. Only a 3% of positive patch tests were obtained with *O. europaea* in patients and controls. The frequency of positive patch tests with the other allergens in patients was 11,2%, 8,8% y 7,5% for *P. pratense*, *A. alternata* and cat dander, respectively, and 3% in controls.

Conclusions: The highest concentration of 10 HEP could be considered optimal for the atopy patch test with *D. pteronyssinus*. Such concentration seems to be lower than the optimal one when patch testing the other allergens.

Key words: Aeroallergens. Atopy patch test. Standardisation. Atopic dermatitis

INTRODUCCIÓN

La dermatitis atópica es una enfermedad cutánea inflamatoria crónica que con mucha frecuencia se asocia a enfermedades alérgicas respiratorias, pero continúa siendo discutida la participación de los aeroalergenos en la patogenia de la enfermedad. A nivel clínico se han observado brotes de dermatitis tras la exposición ambiental a los alergen¹ y en algunos estudios una mejoría de la enfermedad tras el cese de la exposición². Incluso se han comunicado brotes de dermatitis y exacerbación de las lesiones preexistentes tras provocaciones bronquiales inhalatorias con ácaros *Dermatophagoides* en pacientes con asma alérgica y dermatitis atópica³.

Aunque podamos demostrar la sensibilización a los alergen^{os} mediante técnicas habituales como la prueba del *prick* o determinando IgE específica en el suero, las pruebas epicutáneas constituyen el método de provocación en el órgano de choque y, al haberse demostrado que las proteínas alérgicas atraviesan la epidermis^{4,5}, podrían considerarse el mejor modelo de estudio. De hecho, en las biopsias de pruebas epicutáneas positivas con alergen^{os} se demuestra la respuesta inflamatoria cutánea característica de la dermatitis atópica que la diferencia de otras dermatosis⁶.

En los últimos años se han publicado muchos trabajos que evalúan la sensibilización a los alergen^{os} mediante pruebas epicutáneas con resultados muy dispares^{7,8}. El principal problema radica en la falta de estandarización de la técnica. Por ello, desde el Comité de Alergia Cutánea

de la S.E.A.I.C. nos propusimos realizar un estudio encaminado a estandarizar estas pruebas cuyo objetivo principal fue establecer la concentración óptima de cada alergen^o en las pruebas epicutáneas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Se trata de un estudio transversal, prospectivo y multicéntrico cuyo objetivo fue determinar la concentración adecuada de aeroalergen^{os} para la prueba epicutánea en los pacientes con dermatitis atópica.

Pacientes

Se seleccionaron 137 pacientes con dermatitis atópica activa en el último año y 32 controles atópicos procedentes de 10 centros de alergología de España. Los criterios de inclusión de ambos fueron: edad mayor de 12 años y una prueba del *prick* positiva frente a al menos uno de los aeroalergen^{os} comunes incluidos en la batería estándar.

La gravedad de la dermatitis se determinó mediante el índice SCORAD⁹ y se clasificó en leve (0-15), moderada (> 15-40) y grave (> 40).

Método

Los extractos alérgicos de *D. pteronyssinus*, *P. pratense*, *O. europaea*, *A. alternata* y epitelio de gato (*Felis domesticus*) utilizados para las pruebas cutáneas (*prick* y epicutáneas), estandarizados biológicamente, se suministraron en 3 concentraciones: 10, 5 y 1 HEP (Laboratorios DIATER S.A., Madrid, España). La concentración máxima del extracto de *D. pteronyssinus* tenía un contenido de 5,2 µg de Der p 1/ml.

Realizamos pruebas cutáneas del *prick* con dichos extractos, glicerizados, siguiendo las recomendaciones de la EAACI¹⁰. Se determinó el área de la pápula obtenida mediante planimetría y se consideraron positivas las pápulas con un área $> 7 \text{ mm}^2$.

Se determinó la IgE específica mediante CAP (Farmacia CAP System, Uppsala, Suecia) frente a aquellos alergen^{os} que en la prueba del *prick* habían dado un resultado positivo.

Para las pruebas epicutáneas utilizamos los mismos extractos pero con vaselina con un 10% de miristato de isopropilo como vehículo. Se realizaron sobre la piel intacta de la espalda, no afecta de lesiones, sin que se hubiera administrado ningún tratamiento tópico las 4 semanas

previas. Los extractos alergénicos se aplicaron durante 48 horas mediante Finn Chamber® y los tiempos de lectura se establecieron a las 48 y 96 horas. El propio vehículo se utilizó como control de irritabilidad. Los criterios de evaluación de las pruebas fueron los recomendados por el ICDRG para la graduación de epicutáneas con otros contactantes¹¹. Antes se exigía la suspensión de los corticoides y los antihistamínicos por vía oral desde 4 semanas antes de la realización de las pruebas.

Estudio estadístico

El estudio estadístico se realizó mediante SPSS versión 10.0 para Windows. Llevamos a cabo inicialmente un estudio estadístico descriptivo de los dos grupos (pacientes y controles). Empleamos las pruebas de Mann Whitney y χ^2 para evaluar las diferencias entre los pacientes y los controles. Determinamos la concentración de alérgeno más adecuada para la prueba epicutánea mediante el análisis de dosis-respuesta empleando la prueba de McNemar.

RESULTADOS

Los grupos de pacientes y controles resultaron homogéneos en cuanto a las características demográficas y clínicas a excepción de un mayor predominio de mujeres en el grupo control (61V/76M en el grupo de pacientes y 9V/23M en el grupo control) ($p = 0,05$). La media de edad fue de $22,8 \pm 9,46$ años en el grupo de pacientes y de $28,71 \pm 11,76$ años en el grupo control. Más del 80% de los sujetos de los dos grupos tenía además otras enfermedades alérgicas, principalmente rinitis alérgica, asma alérgica o ambas. El tiempo medio de evolución de la dermatitis era de $11,53 \pm 7,69$ años y la media del índice SCORAD resultó de $44,28 \pm 19,27$. El 54% de los pacientes tenía dermatitis grave, el 39% moderada y el 7% leve.

El porcentaje de pacientes y controles, respectivamente, con una prueba del *prick* positiva fue del 74% y del 76,2% con *D. pteronyssinus*, del 65,4% y del 47,6% con *P. pratense*, del 50% y del 33,3% con *O. europaea*, del 24% y del 0% con *A. alternata* ($p = 0,01$) y del 48,1% y del 23,8% con el gato ($p = 0,04$). Al comparar las áreas de las pápulas obtenidas con cada concentración de los extractos de *D. pteronyssinus*, *P. pratense*, *O. europaea* y gato no hubo diferencias entre los pacientes y los controles.

Las concentraciones de IgE total no resultaron significativamente diferentes en los pacientes (mediana 352, RIQ 150;950) y los controles (mediana 224,5, RIQ 94;702). Las

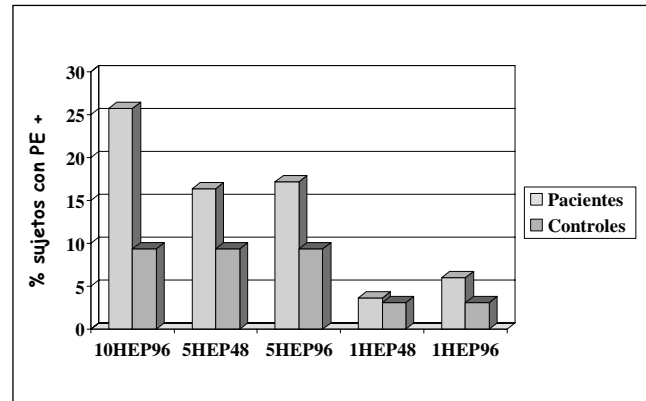


Fig. 1.

concentraciones de IgE específica, expresada en forma de mediana (RIQ), en los pacientes y los controles, respectivamente, fueron de: 10,5 (1,89;84,05) y 14,55 (4,57;43,22) frente a *D. pteronyssinus*, 12,5 (0;7,59) y 4,28 (2,44;29,55) frente a *P. pratense*, 2,55 (0,82;11,40) y 1 (0;11,18) frente a *O. europaea*, 1,12 (0;9,22) y 0 (0;0) frente a *A. alternata* y 3,43 (1,16;11,4) y 0 (0;16,69) frente a gato ($p = 0,02$).

Los resultados de las pruebas epicutáneas en los pacientes y los controles frente a cada alérgeno se representan en las figuras 1 a 5. No se obtuvo ningún parche positivo con el vehículo utilizado.

La mayor frecuencia de parches positivos se obtuvo con el extracto de 10 HEP de *D. pteronyssinus* a las 96 horas: un 25,7% de los pacientes y un 9,4% de los controles, por lo que esta concentración de 10 HEP resultó la más adecuada para realizar la prueba. En general las lecturas a las 96 horas ofrecían mayor frecuencia de parches positivos que las de las 48 horas. Se observó también una disminución del porcentaje de parches positivos conforme disminuimos la concentración. Con *Olea* no se obtuvieron prácticamente parches positivos y el número fue similar en los pacientes (4%) y en los controles (3%). Hubo un

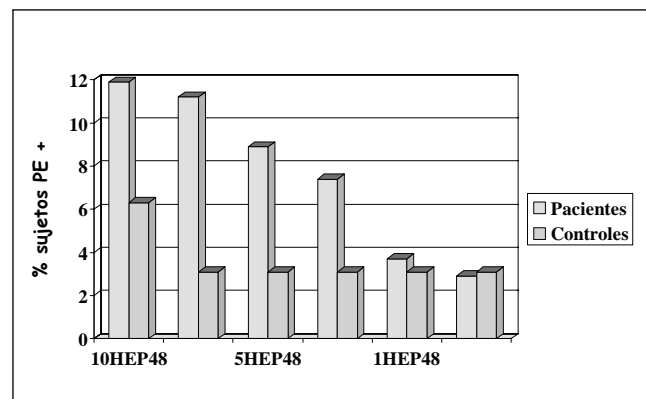


Fig. 2.

Tabla I. Tabla de contingencia de los resultados de las pruebas del *prick* y epicutánea con cada alérgeno. En las celdas se expresa el % de pacientes respecto al total de pacientes de la categoría que corresponda: PE + o PE - . PE, prueba epicutánea

	<i>D. pteronyssinus</i> *		<i>Phleum pratense</i> *		<i>Olea europaea</i>		<i>Alternaria tenuis</i> *		Epitelio de gato	
	PE +	PE -	PE +	PE -	PE +	PE-	PE +	PET -	PE +	PE -
<i>Prick</i> +	88,6%	64,1%	100%	59,5%	75%	50%	66,7%	17%	87,5%	44,6%
<i>Prick</i> -	11,4%	35,9%	0%	40,5%	25%	50%	33,3%	83%	12,5%	55,4%

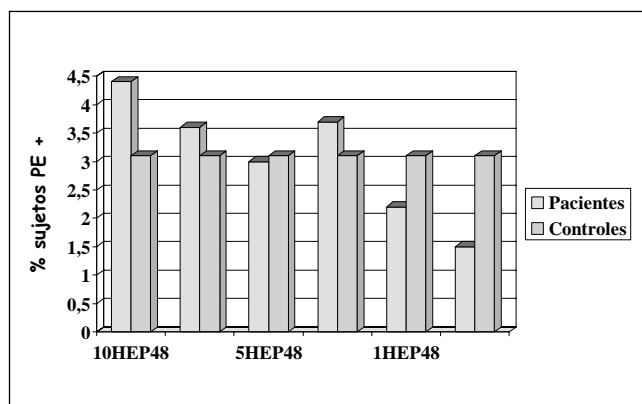
* χ^2 p<0,05

Fig. 3.

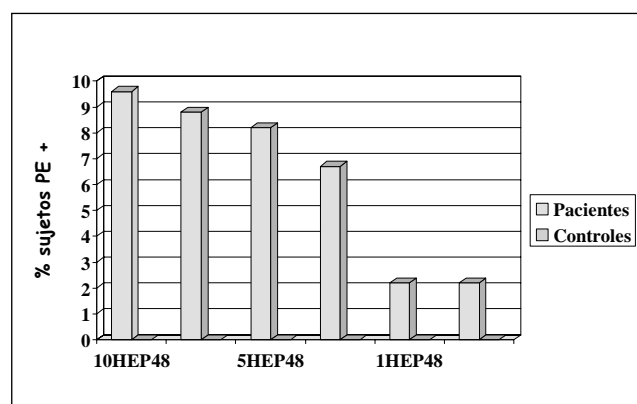


Fig. 4.

mayor número de parches positivos en los pacientes con la dermatitis más grave ($p < 0,001$).

La mayor frecuencia de parches positivos tuvo lugar en los pacientes con una prueba del *prick* positiva con el mismo alérgeno ($p = 0,05$). Sin embargo, entre los pacientes con un parche positivo frente a un alérgeno concreto hubo un porcentaje variable que tenía una prueba del *prick* negativa con ese mismo alérgeno: 11% con *D. pteronyssinus*, 25% con *Olea*, 50% con *A. alternata* y 14% con gato (tabla I).

En la tabla II se especifica la frecuencia de pacientes con IgE específica y con una prueba epicutánea positiva respecto a cada alérgeno según la zona geográfica de procedencia.

Tabla II. Frecuencia (%) de pacientes con prueba del *prick*, IgE específica sérica (IgE) o ambas positivas y de pruebas epicutáneas (PE) positivas con cada alérgeno en cada región

	N	<i>D. pteronyssinus</i>		<i>Phelum pratense</i>		<i>Olea europaea</i>		<i>Alternaria alternata</i>		Epitelio gato	
		IgE	PE	IgE	PE	IgE	PE	IgE	PE	IgE	PE
Madrid	28	53	18	100	25	81	17	70	7,1	92	14,3
Tarragona	21	61,5	19,2	42,3	7,7	50	0	26,9	11,5	53,8	0
Pamplona	20	100	30	55	5	0	0	0	0	45	10
Benidorm	20	92	52	40	4	52	8	16	8	40	4
Badajoz	20	55	20	100	30	70	10	25	25	40	20
Logroño	12	42,9	8,3	71,4	0	57,1	0	28,6	0	42,9	0
Vitoria	10	100	20	100	10	70	0	40	10	40	0
Santander	6	83	50	100	16,7	16	0	0	0	83	0

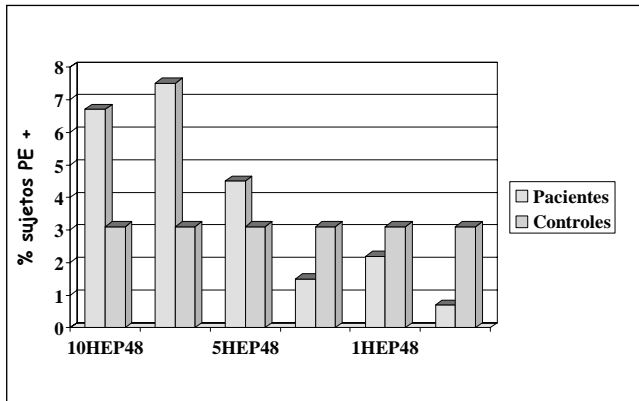


Fig. 5.

autores proponen el empleo de una fuente de alérgeno de ácaro que sea natural. Sin embargo, al contener sustancias de masa molecular baja que pueden resultar sensibilizantes, esta fuente ofrece una especificidad diagnóstica muy baja en la dermatitis atópica, obteniéndose parches positivos en un porcentaje elevado de controles^{15,16}. Nosotros, como la mayoría de los investigadores, hemos preferido utilizar extractos purificados de alérgenos para la realización de las pruebas epicutáneas con el fin de mejorar la especificidad de la prueba. Entre los trabajos publicados destacan, por el gran número de pacientes incluido, los estudios multicéntricos del Grupo de Estudio e Investigación en Dermato-Alergia (GERDA) que obtuvieron entre un 18,4% y un 22% de parches positivos con extractos purificados de ácaros en los pacientes frente a un 1,3% en los controles sanos no atópicos, y establecieron como concentración óptima la que contenía entre 11 y 12 μg de Der p 1/ml^{17,18}. En nuestro trabajo, con un método similar, el porcentaje de pacientes con parche positivo frente a la mayor concentración utilizada de 10 HEP de ácaros (que contiene 5,2 μg Der p 1/ml) ha sido muy parecido, del 25,7%. Sin embargo, ha resultado inferior al 39% de parches positivos con ácaros obtenido en un estudio multicéntrico europeo reciente, en el que la concentración utilizada era también muy superior, de 59 μg Der p 1/ml¹⁹. La mayor frecuencia de parches positivos en nuestros controles respecto a los del GERDA es explicable por el hecho de que nuestros controles eran atópicos, más del 80% con rinitis alérgica, asma alérgica o ambas^{15,20}. Con polen de gramíneas y epitelio de gato hubo un 11,2% y un 7,5% de pacientes, respectivamente, con un parche positivo a la máxima concentración. Estos resultados son superponibles a los obtenidos en el estudio multicéntrico europeo¹⁹ y de Heinemann y cols.²¹, pero difieren mucho de los de otros estudios que determinan una frecuencia superior^{12,22}. Con otros alérgenos que no se han probado antes como *Alternaria* obtuvimos un 8,5% de par-

ches positivos en los pacientes y un 0% en los controles. Con polen de *Olea* prácticamente no objetivamos pruebas positivas en los pacientes ni en los controles a pesar de que hasta en un 50% de los pacientes y en un 33,3% de los controles se podía demostrar IgE específica frente a este alérgeno. Quizá este resultado podría variar si en el estudio hubieran participado pacientes procedentes de zonas geográficas de España donde la sensibilización al polen de olivo es predominante y tiene importancia clínica.

Como en estudios previos^{12,13,23,24}, existió una asociación entre las pruebas del *prick* y epicutánea positivas frente a un mismo alérgeno, pero la concordancia entre ambas técnicas no fue completa. En el estudio multicéntrico europeo publicado recientemente¹⁹, también en un 17% de los pacientes con dermatitis atópica y una prueba epicutánea positiva frente a un alérgeno concreto los resultados de la prueba del *prick* y la detección de IgE específica sérica resultaron negativos frente a ese alérgeno. Además, la especificidad de la prueba epicutánea en este estudio fue superior a la de la prueba del *prick* o la IgE específica en suero. Así, los autores concluyen que si bien la prueba epicutánea al ser menos sensible no debe utilizarse como único método diagnóstico, debería añadirse a estos métodos clásicos de diagnóstico alergológico con el fin de poder detectar a este subgrupo de pacientes y evitar que sean catalogados de dermatitis atópica intrínseca.

En conclusión, la concentración de 10 HEP de un extracto purificado de *Dermatophagoides pteronyssinus* con vaselina como vehículo parece adecuada para la realización de pruebas epicutáneas. No ocurre lo mismo con los otros alérgenos en que esta concentración podría encontrarse por debajo de la óptima dada la baja frecuencia de parches positivos obtenida tanto en los pacientes como en los controles.

AGRADECIMIENTOS

A mis compañeros de la Sección de Alergología del Hospital Virgen del Camino, a todos los miembros del Comité de Alergia Cutánea de la S.E.A.I.C. y a los laboratorios DIATER S.A.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Beck HI, Korsgaard J. Atopic dermatitis and house dust mites. *Br J Dermatol* 1989;120:245-251.

2. Tan BB, Weald D, Strickland I, Friedmann PS. Double-blind controlled trial of effect of housedust-mite allergen avoidance on atopic dermatitis. *Lancet* 1996;347(8993):15-18.
3. Tupker RA, De Monchy JG, Coenraads PJ, Homan A, van der Meer JB. Induction of atopic dermatitis by inhalation of house dust mite. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1064-1070.
4. Maeda K, Yamamoto K, Tanaka Y, Anan S, Yoshida H. House dust mite (HDM) antigen in naturally occurring lesions of atopic dermatitis (AD): the relationship between HDM antigen in the skin and HDM antigen-specific IgE antibody. *J Dermatol Sci* 1992;3:73-77.
5. Riley G, Siebers R, Rains N, Crane J, Fitzharris P. Der p 1 on human skin: time to wash more than the sheets? (abstract). *Allergy* 1998;53(Suppl. 43):58.
6. Leung DYM. Pathogenesis of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:S99-108.
7. Taïeb A, Ducombs G. Aeroallergen contact dermatitis. *Clin Rev Allergy* 1996;14:209-223
8. De Bruin-Weller MS, Knol EF, Bruijnzeel-Koomen CAFM. Atopy patch testing - a diagnostic tool?. *Allergy* 1999;54:784-791.
9. Kunz B, Oranje AP, Labrèze L, Stalder JF, Ring J, Taïeb A. Clinical validation and guidelines for the SCORAD index: consensus report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1997;195:10-19.
10. Dreborg S. Skin tests used in type 1 allergy skin testing. Position Paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy* 1989;44 (Suppl. 10).
11. Wahlberg JE. Patch testing. In: Rycroft RJG, Menné T, Frosch PJ, Benezra C (eds.) *Contact Dermatitis*. Berlin: Springer-Verlag, 1992:239-268.
12. 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;40:187-193.
13. Langeveld-Wildshut EG, van Marion AWW, Thepen T, Mudde GC, Bruinjeel PLB, Bruinjeel-Koomen CAFM. Evaluation of variables influencing the outcome of the atopy patch test. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:66-73.
14. Ring J, Darsow U, Gfesser M, Vieluf D. The atopy patch test in evaluating the role of aeroallergens in atopic eczema. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;113:379-383.
15. Jamora MJJ, Verallo-Rowell VM, Samson-Veneracion MTY. Patch Testing with 20% *Dermatophagoides pteronyssinus/farinae* (Chemotechnique) antigen. *Am J Contact Dermatitis* 2001;12:67-71.
16. Brasch J, Uter W, Dibo M, Stockfleth E, Swensson O, Christophers E. Positive patch tests with a dermatophagoides mix relate to an increased responsiveness to standard patch test allergens. *Contact Dermatitis* 2002;46:253-257.
17. Castelain M, Birnbaum J, Castelain PY, Ducombs G, Grosshans E, Jelen G, et al. Patch test reactions to mite antigens: a GERDA multicentre study. *Contact Dermatitis* 1993;29:246-250.
18. Castelain M. Atopic dermatitis and delayed hypersensitivity to dust mites. *Clin Rev Allergy Immunol* 1995;13:161-171.
19. Darsow U, Laifaoui J, Kerschenlohr K, Wollenberg A, Przybilla B, Wuthrich B, et al. The prevalence of positive reactions in the atopy patch test with aeroallergens and food allergens in subjects with atopic eczema: a European multicenter study. *Allergy* 2004;59:1318-1325.
20. Seidenari S, Giusti F, Pellacani G, Bertoni L. Frequency and intensity of responses to mite patch tests are lower in nonatopic subjects with respect to patients with atopic dermatitis. *Allergy* 2003;58:426-429.
21. Heinemann C, Schliemann-Willers S, Kelterer D, Metzner U, Kluge K, Wigger-Alberti W, Elsner P. The atopy patch test – reproducibility and comparison of different evaluation methods. *Allergy* 2002;57:641-645.
22. Wistokat-Wülfing A, Schemidt P, Darsow U, Ring J, Kapp A, Werferl T. Atopy patch test reactions are associated with T lymphocyte-mediated allergen-specific immune responses in atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 1999;29:513-521.
23. Darsow U, Vieluf D, Ring J. Atopy patch test with different vehicles and allergen concentrations: An approach to standardization. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95:677-684.
24. Imayama S, Hashizume T, Miyahara H, Tanahashi T, Takeishi M, Kubuta Y, 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;27:531-538.