
Test epicutáneos con inhalantes en el estudio de la dermatitis atópica *Epicutaneous test with inhalers in the study of atopic dermatitis*

S. Echechipía, B. Gómez, E. Lasa, I. Larrea, E. Arroabarren, S. Garrido, A.J. Rodríguez

RESUMEN

En un 80% de pacientes con dermatitis atópica se demuestra la presencia de IgE específica frente a alérgenos alimentarios o ambientales. También se ha demostrado la exacerbación de las lesiones de la dermatitis tras ingestión o inhalación de alérgenos y su mejoría al reducir la exposición alérgica en un subgrupo de pacientes con dermatitis atópica. Aunque el prick y la determinación de IgE específica en suero son técnicas muy sensibles, las pruebas epicutáneas aplicando el alérgeno directamente en la piel podrían ser el método diagnóstico ideal ya que reproducen la respuesta inflamatoria característica de la enfermedad en el propio órgano de choque que es la piel. Sin embargo, existe gran variabilidad en los resultados obtenidos mediante pruebas epicutáneas con aeroalérgenos, debido fundamentalmente a diferencias metodológicas, que se revisan en este trabajo. Por último, presentamos los resultados de realizar pruebas epicutáneas con alérgenos inhalantes a nuestros pacientes con dermatitis atópica y controles, obteniendo un 27% de parches positivos, fundamentalmente con ácaros y en aquellos pacientes con dermatitis más grave sin que exista una completa concordancia con la técnica del prick. Por ello, las pruebas epicutáneas parecen un método de diagnóstico alergológico que puede ser útil y complementario a las técnicas de rutina como el prick o la determinación de IgE específica en suero, pero queda pendiente su adecuada estandarización.

Palabras clave. Dermatitis atópica. Pruebas epicutáneas. Alérgenos.

An. sis. sanit. Navar. 2003; 26 (Supl. 2): 31-37.

Sección de Alergología. Hospital Virgen del Camino

ABSTRACT

In some 80% of patients with atopic dermatitis, the presence of specific IgE is found when facing food or environmental allergens. It has also been demonstrated in a sub-group of patients with atopic dermatitis that the dermatitis lesions are exacerbated following the ingestion or inhalation of allergens, and that they improve with reduction of exposure to allergens. Although the prick method and the determination of specific IgE in serum are highly sensitive techniques, epicutaneous tests, applying the allergen directly to the skin, might be the ideal diagnostic method since they reproduce the characteristic inflammatory response of the disease on the affected organ itself, the skin. However, there is great variability in the results obtained through epicutaneous tests with aeroallergens, basically due to methodological differences, which are reviewed in this paper. Finally, we present the results of carrying out epicutaneous tests with inhalant allergens on our patients with atopic dermatitis and controls, where some 27% of positive patches were obtained, basically with acari, and in those patients with more severe dermatitis, without there being complete concordance with the prick technique. For this reason, the epicutaneous test appears to be a method of allergological diagnosis that might be useful and complementary to the routine techniques of the prick method and the determination of specific IgE in serum, but it is in need of suitable standardization.

Key words. Atopic dermatitis. Patch test. Allergen.

Correspondencia:
Susana Echechipía Madoz
CS Conde Oliveto
Pza. Paz s/n
31002 PAMPLONA
Tfno: 948429308
Fax: 948429271

INTRODUCCIÓN

La dermatitis atópica es una enfermedad inflamatoria crónica de diagnóstico esencialmente clínico y basado en los conocidos criterios de Hanifin y Rajka¹.

De todas las denominaciones que ha recibido la enfermedad, la nomenclatura actual de dermatitis atópica fue acuñada en 1933 por Hill y Shulzberger, al reconocer que existía una clara asociación entre esta patología y las enfermedades alérgicas respiratorias. De hecho, en un 80% de pacientes con dermatitis atópica podemos demostrar IgE específica frente a alimentos o neumoalergenos comunes. Lo que siempre ha sido un punto controvertido es si estos alergenicos son capaces de inducir la inflamación cutánea crónica, al igual que ocurre en el asma alérgico, o si la sensibilización a alergenicos es un epifenómeno sin papel etiológico alguno en la enfermedad. Realmente es difícil establecer una relación directa entre la reactividad cutánea inmediata a estos alergenicos mediada por anticuerpos IgE y el curso crónico de la dermatitis.

PAPEL DE LOS ALERGENICOS EN LA DERMATITIS ATÓPICA

Estudios controlados en niños han demostrado que los alergenicos alimentarios pueden exacerbar la dermatitis en un subgrupo de pacientes con dermatitis atópica.

En 1978, Bock y col² fueron los primeros en documentar mediante provocaciones orales, doble ciego, controladas con placebo el papel de los alimentos en la dermatitis atópica, obteniendo un 43% de provocaciones positivas en los 68 niños estudiados.

Posteriormente Sampson y col han publicado varios estudios^{3,7} en los que realizan provocaciones orales con alimentos doble ciego controladas con placebo en niños con dermatitis atópica. Tras realizar más de 2.000 provocaciones en unos 600 niños obtienen un 40% de provocaciones positivas, con manifestaciones cutáneas en un 75% de los casos consistentes en prurito, eritema y rash morbiliforme. Cuando el paciente presentaba varias

reacciones a alimentos repetidas en corto espacio de tiempo se desarrollaba el eczema, sugiriendo que la ingestión repetida de alimentos y el rascado estarían contribuyendo al desarrollo de la dermatitis. Hallazgos similares han sido comunicados por otros autores⁸.

Aunque la asociación entre alergia alimentaria y dermatitis atópica es convincente, en la mayoría de adultos no se demuestra sensibilización a alimentos. Por ello se ha prestado un interés especial al papel de los aeroalergenicos, fundamentalmente ácaros, como posibles agentes etiológicos de la dermatitis atópica.

Clínicamente se observan brotes de dermatitis tras exposición ambiental a alergenicos y mejoría de la enfermedad tras el cese de exposición. Incluso tras provocaciones bronquiales inhalatorias con ácaros *Dermatophagoides* en pacientes con asma alérgico y dermatitis atópica se han comunicado brotes de dermatitis y exacerbación de las lesiones preexistentes⁹.

Recientemente se ha publicado un estudio sobre el efecto de las medidas de desalergenización frente a ácaros en pacientes con dermatitis atópica¹⁰. Se trata de un estudio doble ciego en 48 pacientes con dermatitis atópica: 28 incluidos en el grupo activo y 20 en grupo placebo. En ambos grupos disminuyó significativamente la cantidad de Der p 1 (alergeno principal de ácaros) al cabo de los 6 meses de estudio, más en el grupo activo. En ambos disminuyó la gravedad de la dermatitis (más en el grupo activo), y lo más interesante del estudio es que la mejoría clínica era en su mayor parte atribuible a la disminución de exposición a ácaros.

En definitiva, la reproducción de las lesiones de dermatitis atópica tras ingestión de alimentos o tras exposición ambiental a aeroalergenicos a los que el paciente es alérgico, junto con la mejoría clínica al cesar la exposición demuestran la influencia de los alergenicos en la evolución de la enfermedad en este subgrupo de pacientes con dermatitis atópica extrínseca.

¿POR QUÉ UTILIZAR PRUEBAS EPICUTÁNEAS COMO MÉTODO DIAGNÓSTICO?

En la mayoría de pacientes con dermatitis atópica podemos detectar IgE específica (cutánea mediante prick test o sérica) frente a alérgenos comunes, pero las pruebas epicutáneas son la técnica que podría considerarse como un método de provocación en el órgano de choque. Para investigar el papel de los alérgenos en la dermatitis atópica, su aplicación directa en la piel constituye el mejor modelo de estudio puesto que es capaz de reproducir la respuesta inflamatoria característica de la dermatitis atópica y sería superior a otros métodos como la inyección intradérmica de alérgeno¹¹. Además, se ha demostrado la penetración de la epidermis por proteínas alérgicas^{12,13}.

La biopsia de pruebas epicutáneas positivas con aeroalérgenos muestra los hallazgos característicos de eczema, junto con un aumento de células de Langerhans, infiltrado linfocitario y de eosinófilos, y depósito de proteínas del eosinófilo en biopsias seriadas. Mediante técnicas de hibridación *in situ* se observa un patrón de activación de linfocitos T bifásico, similar al observado al examinar biopsias de lesiones en fase aguda y crónica¹⁴. Los linfocitos que infiltran la lesión a las 24 horas de la aplicación del alérgeno o en lesiones de fase aguda son de fenotipo Th2, productores de IL-4 e IL-5, a diferencia de lo que ocurre en otros fenómenos de hipersensibilidad retardada como la dermatitis de contacto. Sin embargo, a las 48-72 horas o en lesiones crónicas predomina la liberación de citoquinas producidas por linfocitos de fenotipo Th1, precedida de un aumento de expresión de IL-12.

Estos hechos sugieren que el inicio de las lesiones de dermatitis atópica se puede producir por una activación de linfocitos Th2 tras el contacto alérgico (con las células de Langerhans con IgE específica en su superficie como células presentadoras de antígeno), y el subsiguiente reclutamiento de células inflamatorias como eosinófilos y macrófagos productores de IL-12

da lugar a la posterior respuesta crónica inflamatoria Th1.

En los últimos años se han publicado muchos trabajos evaluando la sensibilización a alérgenos mediante pruebas epicutáneas, con resultados muy dispares^{15,16}. El principal problema radica en la falta de estandarización de la técnica.

PRINCIPALES ESTUDIOS DE PRUEBAS EPICUTÁNEAS CON AEROALÉRGENOS

En la Tabla 1 se enumeran algunos de los estudios sobre pruebas epicutáneas en dermatitis atópica.

Mitchell y col¹⁷ en 1982 estudiaron 10 pacientes con dermatitis atópica y prick positivo a ácaros, obteniendo un 100% de parches positivos con Der p1 (alérgeno principal de *D. pteronyssinus*) sobre piel tras eliminar la capa córnea. En otros trabajos obtienen de un 29 a un 80% de parches positivos con ácaros cuando se elimina la capa córnea.

Cuando los parches se realizaron sobre piel intacta el porcentaje de parches positivos con ácaro oscila entre el 17 y 70%. Destacan por el número de pacientes incluidos los estudios publicados por Castelain y Castelain y col^{19,20}, multicéntricos del Grupo de Estudio e Investigación en Dermato-Alergia (GERDA). En el primer estudio¹⁹ sobre una muestra de 272 pacientes obtuvieron un 22% de parches positivos con *D. pteronyssinus*. En el segundo estudio se incluyeron 450 pacientes y se obtuvieron un 18,4% de parches positivos con *D. pteronyssinus* o *D. farinae*, y sólo un 1,3% en los 225 controles.

DIVERSIDAD METODOLÓGICA

Las extremas diferencias observadas en la obtención de pruebas epicutáneas positivas con alérgenos inhalantes dependen en parte de los criterios empleados en la selección de pacientes, pero sobre todo en la distinta metodología utilizada en cuanto a: la concentración de alérgeno y vehículo, la preparación de la piel con su localización y el tiempo de lectura de la prueba.

Tabla 1. Principales estudios de pruebas epicutáneas con aeroalergenos.

Referencia	Pacientes (n)	Controles	Alergenos	Método	Resultados % parche +
Mitchell ¹⁷	10	+	Df y otros	<i>Stripping</i>	100
Imayama ¹⁸	130	-	Dpt	<i>Stripping</i>	39
Castelain y col ¹⁹	355	+	Dpt	Intacta	22
Castelain ²⁰	450	+	Dpt y otros	Intacta	18,4
Langeveld-Wildshut y col ²¹	84	+	Dpt y gramíneas	<i>Stripping</i>	50
Darsow ²²	36	+	Dpt, gato y gramíneas	Intacta	75
Manzini ²³	313	+	Dpt	Intacta	39
Wistokat-Wülfing y col ²⁴	32		Dpt gato y gramíneas	Intacta	50 Dpt 37 gramíneas 18 gato
Holm ²⁵	81	+	Dpt	<i>Stripping</i>	47
Darsow y col ²⁶	253	-	Dpt, gato Pólenes	Intacta	44 Dpt a 5 Artemisia

Dpt – *D. Pteronyssinus*; Df – *D. farinae*.

Concentración de alérgeno y vehículo

Las concentraciones empleadas difieren considerablemente desde algunos estudios que utilizan concentraciones similares a las del prick a otros que lo hacen con concentraciones hasta 1.000 veces superiores. Castelain y col¹⁹ comparan los resultados obtenidos al aplicar sobre piel intacta 3 concentraciones de 2 extractos diferentes de *D. pteronyssinus* estandarizados biológicamente y cuantifican la concentración de Der p1. En su trabajo concluyen que la concentración de extracto más adecuada para la realización de la prueba epicutánea es aquella cuyo contenido en Der p1 es aproximadamente de 10 mg/ml. En otros estudios^{21,22,25} también utilizan diferentes concentraciones de extractos de ácaros, pero los métodos de estandarización de los extractos son distintos (AU, IR, PNU) por lo

que no se pueden establecer comparaciones directas.

Aunque existen variaciones en cuanto al vehículo empleado, cuando se comparan diferentes vehículos el más adecuado es la vaselina^{19,22,25}, como ocurre en la realización de pruebas epicutáneas con el resto de contactantes en general.

Preparación de la piel

La abrasión previa de la piel o la eliminación de la capa córnea han sido utilizadas en algunos estudios para favorecer la penetración del alérgeno, con lo que se obtiene un porcentaje más alto de parches positivos. No obstante, en general no se recomienda porque puede disminuir la especificidad de la técnica dando lugar a falsos positivos por problemas de irritabilidad. Así, cuando en los estudios se inclu-

yen controles atópicos, los parches positivos se obtienen en un 3 ó 15% de pacientes según se realicen sobre piel intacta o abrasionada, respectivamente.

Localización cutánea

La mayoría de trabajos realizan las pruebas epicutáneas sobre la espalda. Langeveld y col²⁰ no encuentran diferencias en los resultados obtenidos al aplicar los parches en la espalda o en la fosa antecubital.

Tiempo de lectura de la prueba

En la mayoría de estudios se realiza una primera lectura a las 48 horas y otra a las 72. Una lectura única a las 48 horas disminuye la especificidad de la prueba¹⁹ ya que pueden existir respuestas débiles consideradas falsos positivos, que desaparecen al tercer día. Por otro lado pueden perderse hasta un 27,5% de parches positivos (falsos negativos) no objetivables a las 48 horas y sí a las 72²⁰.

VALOR DE LAS PRUEBAS EPICUTÁNEAS EN EL DIAGNÓSTICO

Aunque en casi todos los estudios existe un mayor porcentaje de parches con aeroalergenos positivos en aquellos pacientes con dermatitis atópica en los que se detecta IgE específica frente a dichos alergenios, la concordancia entre prueba epicutánea y prick o IgE específica sérica no es completa.

Imayama¹⁸ obtuvo parches positivos con *D. pteronyssinus* en un 14,6% de pacientes en los que no se detectó IgE específica y en un 24,6% de los que tenían IgE específica elevada (RAST \geq clase 3).

En el estudio de Wistokat-Wülfing y col²⁴, menos de un 50% de pacientes con IgE específica (prick positivo o RAST \geq clase 2) tenían parche positivo. Sin embargo, más de un 90% en los que no se detectó IgE específica tenían parche negativo.

Langeveld-Wildschut y col²¹ determinan niveles de IgE específica frente a ácaros y pólenes de gramíneas significativamente mayores en pacientes con parche positivo que en aquellos con parche negativo. Sin embargo, Darsow²² cuando estudió la concordancia entre prick y parche determina

que es de un 0,53 para *D. pteronyssinus*, 0,5 para gato y 0,39 para polen de gramíneas. La concordancia entre parche y IgE específica sérica (RAST o CAP \geq clase 2) fue de 0,69 para *D. pteronyssinus*, 0,67 para gato y 0,42 para polen de gramíneas.

Las técnicas de prick y RAST son más sensibles, pero menos específicas que el parche. Para valorar la especificidad de la prueba epicutánea con aeroalergenos se han evaluado las historias clínicas de los pacientes determinando si existía una clara relación entre exposición al alérgeno en cuestión y exacerbación de la dermatitis.

Ring y col²⁷ evaluaron 79 pacientes con dermatitis atópica, 12 con exacerbación de la dermatitis en estación polínica y 57 pacientes sin exacerbación estacional de la dermatitis, obteniendo un 25% de parches positivos con polen de gramíneas. Al comparar prick, CAP y parche con polen de gramíneas y *Dactylis glomerata* (gramínea) purificado obtiene que la sensibilidad del prick fue del 100% pero su especificidad del 33%, la sensibilidad del CAP del 92% con especificidad del 33%, mientras que la sensibilidad del parche con gramíneas fue menor (75%) pero la especificidad mucho mayor (84% con gramíneas y 90% con *Dactylis glomerata*).

Wistokat-Wülfing y col²⁴ obtuvieron una especificidad para la prueba epicutánea del 82% en el caso de *D. pteronyssinus*, 95% con gato y 76% con gramíneas, mientras que la especificidad del prick fue de 58, 43 y 27%, y la del RAST (\geq clase 2) del 54,5, 62 y 32%, respectivamente.

Darsow y col²⁶ determinaron que la especificidad del parche con aeroalergenos oscilaba entre el 69 y el 92% según el alérgeno estudiado, mayor que la ofrecida por el prick (44 a 53%) o el RAST (42 a 64%).

La prueba cutánea en prick y los diferentes métodos de detección de IgE específica sérica habitualmente utilizados son técnicas estandarizadas con una buena reproductibilidad. Se ha realizado un estudio para valorar la reproductibilidad del parche con ácaros en pacientes con dermatitis atópica, pacientes atópicos sin eczema y controles sanos repitiendo la prueba en un periodo entre 15 días y 18

meses después. La reproductibilidad fue valorada mediante el cálculo de k, que resultó de 0,83 para dermatitis atópica, 0,63 para atópicos sin eczema y de 1 para controles sanos²⁸.

NUESTRA EXPERIENCIA

En un intento de estandarizar la técnica seleccionamos 20 pacientes adultos con dermatitis atópica y realizamos pruebas epicutáneas sobre piel intacta con 4 alérgenos (*D. pteronyssinus*, epitelio de gato, polen de *P. pratense* y *Alternaria alternata*) a diferentes concentraciones (oscilando entre 7,25 y 100 BU/ml o 100 mg) y con distintos vehículos (glicerina, aceite de vaselina y vaselina), incluyendo como controles de irritabilidad los vehículos y lauril sulfato sódico al 0,5% en vaselina (SLS). El sistema utilizado fue Leukotest., aplicando 0,15 ml de cada alérgeno.

Sólo obtuvimos lecturas positivas en un 25% de pacientes, todas con *D. pteronyssinus* utilizando vaselina como vehículo y con una concentración de 20-40 mg Der p 1/ml o lo que es lo mismo 8 a 4 mg Der p 1 en el parche.

Tras esta primera fase hemos continuado con las 2 concentraciones más altas utilizadas de cada alérgeno en la fase previa y con vaselina como único vehículo.

En total hemos estudiado a 100 pacientes con dermatitis atópica y a 14 controles con patología alérgica respiratoria sin dermatitis atópica. En todos ellos realizamos prick test con una batería estándar de neuroalérgenos comunes y alimentos, pruebas epicutáneas con la batería estándar europea de contactantes (True Test,) y con la batería de aeroalérgenos.

De los 100 pacientes el 42% eran varones, con una media de edad de 21,67 ± 13,54 años (un 34% de pacientes menores de 12 años). Un 50% de los pacientes asociaban rinitis y un 32% asma bronquial alérgicas. La gravedad de la dermatitis era leve en un 41%, moderada en un 46% y grave en un 29%. Se obtuvieron prick positivos con algún alérgeno en un 61% de pacientes (46% *D. pteronyssinus*, 31% *Phleum*, 4% *Alternaria* y 24% gato). En las pruebas epicutáneas con la batería estándar europea de contactantes (True Test,)

se obtuvo alguna respuesta positiva en un 44% de pacientes, fundamentalmente con metales, antimicrobianos, aditivos de la goma, perfumes y Thiomersal. Globalmente un 27% de pacientes con dermatitis atópica presentaron parches con aeroalérgenos positivos (26% con *D. pteronyssinus*, 3% con *Phleum*, 6% *Alternaria* y 4% gato). Sin embargo, el porcentaje de parches positivos con ácaros fue mucho mayor en las dermatitis graves (57%), que en las moderadas o leves (26% y 22%, respectivamente). En estas dermatitis más graves también se produjo la mayor frecuencia de prick positivos (83% pacientes) y de patología respiratoria asociada (71% rinitis y 57% asma). Aunque la mayoría de pacientes con parche positivo con *D. pteronyssinus* tenían también prick positivo, la concordancia no fue completa, de forma que en un 30% de pacientes con parche positivo con ácaro el prick resultó negativo. Para el resto de alérgenos los resultados todavía fueron más discordantes de forma que se obtuvieron prick negativos en 2 de los 3 pacientes con parche positivo con *Phleum*, 5 de los 6 con parche positivo con *Alternaria* y 2 de los 4 parches positivos a gato. Sólo en un individuo control se obtuvo un parche positivo con *D. pteronyssinus*.

En definitiva, las pruebas epicutáneas con aeroalérgenos son un método útil en el diagnóstico de la dermatitis atópica pero queda como asignatura pendiente su adecuada estandarización.

BIBLIOGRAFÍA

1. HANIFIN JM, RAJKA G. Diagnostic features of atopic dermatitis. Acta Derm Venereol 1980; 92: 44-47.
2. BOCK SA, LEE WY, REMIGIO LK, MAY CD. Studies of hypersensitivity reactions to foods in infants and children. J Allergy Clin Immunol 1978; 62: 327-334.
3. JONES SM, SAMPSON HA. The role of allergens in atopic dermatitis. Clin Rev Allergy 1993; 11: 471-490.
4. SAMPSON HA, SCANLON SM. Natural history of food hypersensitivity in children with atopic dermatitis. J Pediatr 1989; 115: 23-27.
5. SAMPSON HA, MCCASKILL CC. Food hypersensitivity and atopic dermatitis: evaluation of 113 patients. J Pediatr 1985; 109: 669-675.

6. SAMPSON HA, METCALFE DD. Food allergies. *JAMA* 1992; 268: 2840-2844.
7. EIGENMANN PA, SICHERER SH, BORKOWSKI TA, COHEN BA, SAMPSON HA. Prevalence of IgE-mediated food allergy in children with atopic dermatitis. *Pediatrics* 1998; 101: e8.
8. NIGGEMANN B, SIELAFF B, BEYER K, BINDER C, WAHN U. Outcome of double-blind, placebo-controlled, food challenge tests in 107 children with atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 91-96.
9. 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.
10. TAN BB, WEALD D, STRICKLAND I, FRIEDMANN PS. Double-blind controlled trial of effect of house-dust-mite allergen avoidance on atopic dermatitis. *Lancet* 1996; 347: 15-18.
11. LANGEVELD-WILDSCHUT EG, THEPEN T, BIHARI IC, VEN REUSEN FC, DE VRIES IJ, BRUINZEEL PL et al. Evaluation of the atopy patch test and the cutaneous late phase reaction as relevant models for the study of the allergic inflammation in patients with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 1019-1027.
12. 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.
13. 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: 58.
14. LEUNG DYM. Pathogenesis of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 99-108.
15. TAÏEB A, DUCOMBS G. AEROALLERGEN contact dermatitis. *Clin Rev Allergy* 1996; 14: 209-223.
16. DE BRUIN-WELLER MS, KNOL EF, BRUINZEEL-KOOMEN CAFM. Atopy patch testing - a diagnostic tool? *Allergy* 1999; 54: 784-791.
17. MITCHELL EB, CROW J, CHAPMAN MD, JOUHAL SS, POPE FM, PLATTS-MILLS TAE. Basophils in allergen-induced patch test sites in atopic dermatitis. *Lancet* 1982; 1: 127-130.
18. IMAYAMA S, HASHIZUME T, MIYAHARA H, TANAHASHI T, TAKEISHI M, KUBOTA 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.
19. 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.
20. CASTELAIN M. Atopic dermatitis and delayed hypersensitivity to dust mites. *Clin Rev Allergy Immunol* 1995; 13: 161-171.
21. LANGEVELD-WILDSHUT EG, VAN MARION AWW, THEPEN T, MUDDÉ GC, BRUINZEEL PLB, BRUINZEEL-KOOMEN CAFM. Evaluation of variables influencing the outcome of the atopy patch test. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 66-73.
22. 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.
23. MANZINI BM, MOTOLESE A, DONINI M, Seidenari S. Contact allergy to Dermatophagoides in atopic dermatitis patients and healthy subjects. *Contact Dermatitis* 1995; 33: 243-246.
24. WISTOKAT-WÜLFING A, SCHMIDT P, DARSOW U, RING J, KAPP A, WERFEL 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.
25. HOLM L, VAN HAGE-HAMSTEN M, ÖHMAN S, SCHEYNIUS A. Sensitization to allergens of house-dust mite in adults with atopic dermatitis in a cold temperate region *Allergy* 1999; 54: 708-715.
26. 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. Atopy Patch Test Study Group. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40: 187-193.
27. 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.
28. INGORDO V, D'ANDRIA G, CANATA AT. Reproducibility of the atopy patch test with whole house dust mite bodies in atopic dermatitis. *Contact Dermatitis* 2000; 42: 174-175.