EPIKUTÁNNÍ TESTY

MUDr. Alena Machovcová, MBA
Dermatovenerologické oddělení FN Motol Praha

Epikutánní testy slouží ke zjišťování kontaktní alergické dermatitidy, která je 4. typem imunologické reakce. Spočívá v aplikaci podezřelé substance na kůži zad na 48 hodin, odečítání probíhá ještě po dalších 24 a 48 hodin. Interpretace výsledků bývá velmi obtížná. Cílem článku je shrnout současné znalosti o této vyšetřovací metodě.
Klíčová slova: epikutánní testy, typy testů, indikace, kontraindikace, vyšetřovací technika.

PATCH TESTS
Patch testing is a well established method of diagnosing contact allergy and contact allergic dermatitis which is a delayed type of type-IV reaction. The patients are exposed to the suspected allergens for 48 hours, the results examined over the following 24 to 48 hours. It is not easy to interpret the results. The aim of this article is to summarize current information about this investigative technique.
Key words: patch tests, type of tests, indications, contraindications, investigative technique.

Dermatolog. praxi 2007; 2: 64–66

Indikace ET

- Kontaktně alergická dermatitida a pátrání po její příčině
- Ostatní typy dermatitid, u nichž nelze kontaktní alergii vyloučit (dermatitida na rukou)
- Podezření na superalergizaci jiných dermatóz (např. tinea pedum, ulcus cruris, rosacea, perioorální dermatitida apod.)
- Kontaktní urtikárie (po latexu ve vyšetřovacích gumových rukavicích)
- Lékové exantémy (např. po sulfonamidech nebo prokainu lze prokázat ET)
- Proteinová dermatitida (doplněná o některá další vyšetření)

Kontraindikace ET

- Dermatitida akutního průběhu, většího rozsahu, popř. generalizované
- Kožní choroby v testovacím okrsku (jakékoliv)
- Opálená kůže v testovacím okrsku
- Léčba imunosupresivními či imunomodulačními léky
- Jiná medikamentózní léčba (tabulka 1)
- Gravidita

Tabulka 1. Léky, které ovlivňují nebo mohou ovlivnit reakci v epikutánních testech

1.	Imunosupresiva nebo imunomodulancia – cytostatika, cyklosporin A, tacrolizmus, pimeroclimus, kortikosteroidy v dávce nad 15 mg prednisonu nebo v ekvivalentní dávce, calcipotriol
2.	Antihistaminika – antihistaminika I. třídy nemají žádný negativní vliv. U antihistaminik II. A III. tříd se s tlumícím vlivem musí počítat.
3.	Psychofarmaka – buspiron, chlorpromazin, trifluperazin a jiné
4.	Léky kardiovaskulárního systému – blokátory vápníkových kanálů (diltiazem, nifedipin, verapamil a další), heparin, pentoxifyllin
5.	Jiné lékové skupiny – nesteroidní antiflogistika, estrogeny, betablokátory

Testovací materiál

Je připravován průmyslově. Obsahuje celkem 10 kruhových papírových, plsťových, hliníkových terčíků (komůrkové testy) vnitřním průměru 8 mm na hypoalergenní náplasti. Obvyklý počet v jednom setu je 10 testovacích polí.

Alergeny

Standardizované alergeny k ET jsou u nás k dispozici od firem Chemotechnique a Hermal, v zahraničí i další (např. TRUE). Minulostí jsou alergeny připravované magistraliter. Standardizace alergenů zajišťuje přesné chemické složení jednotlivých alergenů a jejich čistotu. Dodávány jsou v injekčních stříkačkách, což usnadňuje manipulaci s nimi. Jednotlivé alergeny se aplikují přímo na testoplast.

Vehikula alergenů

Koncentrace alergenů je obvykle udávána v procentech (u TRUE testů v miligramech na cm^2). Každý alergen je rozpuštěn v inertním vehikulu. Bývá jím nejčastěji vazelína. Tekutými vehikuly bývají voda, olej, aceton, etanol, užívají se obvykle pro alergeny donesené pacienty. U komůrkových testů se aplikují na filtrační papír. Koncentrace pro jednotlivé speciální alergeny je udávána v tabulkách knih o kontakní dermatitidě nebo v katalozích firem distribuujících alergeny.

Druhy ET

1. uzavřené ET
   - klasický uzavřený ET
   - skarifikační ET
   - fotosenzibilizační ET
2. otevřené ET
   - otevřený ET
   - iontoforetický test

Klasický uzavřený ET – provádíme na klinicky zdravé kůži zad po odmaštění kůže éterem nebo alkoholem. U silně ochlupených zad doporučujeme ostříhat nebo oholit cca 2 dny před testováním. Testy přikládáme cca 10 cm pod poslední krční obratel a místa nad hrudními obratli vynecháváme. Alergeny jsou obvykle ponechány v kontaktu s kůží 48 hodin (u očekávaných silných reakcí může být kontakt alergenu s kůží jen 24 hodin, u pevných látek a látek se špatným průnikem do kůže naopak až 72 hodin). 1. odečet reakcí následuje po 48 hodinách, další následují po 4–8 dnech od nalepení testů. Odečty musí být minimálně 2.

Tabulka 2. Evropská standardní sada alergenů (2006)

	Název substance	Koncentrace
1.	Dvojchroman draselný	0,50%
2.	Parafenylendiamin	1%
3.	Thiuram mix	1%
4.	Neomycin sulfát	20%
5.	Chlorid kobaltnatý	1%
6.	Benzokain	5%
7.	Nikl sulfát	5%
8.	Clioquinol	5%
9.	Kalafuna	20%
10.	Parabeny mix	16%
11.	Isopropyl-fenyl-para-fenylendiamin	0,10%
12.	Lanolin	30%
13.	Merkapto mix	1%
14.	Epoxidová pryskyřice	1%
15.	Peruánský balzám	25%
16.	Butylfenolformaldehyd. pryskyřice	1%
17.	Merkaptobenzothiazol	2%
18.	Formaldehyd	1%
19.	Fragrance mix	8%
20.	Sesquiterpenolacton mix	0,10%
21.	Quaternium 15	1%
22.	Primin	0,10%
23.	Cl+Me-isothiazolinon	0,01%
24.	Budesonid	0,01%
25.	Tixocortol pivalát	0,10%
26.	Methydibromglutaronitril	0,50%

Vehikulem je vazelína kromě testů označených*, kdy je vehikulem voda.

Každého pacienta testujeme ***standardní (rutinní) sadou*** (viz tabulka 2), která obsahuje nejčastější alergeny v daném teritoriu za určité časové období. Tato sada se doplňuje podle aktuálního výskytu přecitlivělosti. V naší republice je doporučeno užívat evropskou sadu obsahující uvedených 26 alergenů (sada Chemotechnique Diagnostics). Standardní sady kontaktní alergenů se používají řadu let. Ve světě se používají tři regionální (nadnárodní, kontinentální) varianty standardních sad kontaktních alergenů (severoamerická, evropská, japonská), které se od sebe liší jenom v detailech. Většina alergenů zůstává stejná a umožňuje sledování a porovnávání rozdílů v kontaktní senzibilizaci mezi regiony, kontinenty, národnostmi a rasami a vyhodnotit trendy v této problematice. Jsou revidovány a průběžně doplňovány mezinárodními komisemi pro kontaktní alergii o alergeny, u kterých stoupá senzibilizace za určité období v určitém regionu. Evropská standardní sada se začala používat v České republice od roku 1994. Poslední revize evropské sady byla provedena ICDRG (International Contact Dermatitis Research Group) v roce 2006.

Celosvětově standardní sady obsahují soli kovů (chrom, nikl, kobalt), antioxidanty a akcelerátory vulkanizace, formaldehyd, součásti zevních léčiv a kosmetiky a jiné. Cena standardní sady je mj. také v tom, že může odhalit některé nepodezřívané alergeny a pomůže vysvětlit příčinu dermatitidy. V současné době má standardní sada asi 50–60 % relevanci, proto je nutné jí obvykle doplnit.

Mix testy nebo tvz. koktejly alergenů jsou směsi několika chemikálií podobné chemické struktury nebo použití. Aplikací směsi se zvýší počet testovaných látek a záchyt alergenů. V současné standardní evropské sadě je 5 mix testů. Jedná se o součásti procesu vulkanizace gumy (thiuram mix obsahující 4 alergeny a mercapto mix obsahující 3 alergeny), parabeny mix obsahující 4 alergeny, fragrance mix – voňavková směs obsahující 8 alergenů a sesquiterpenelacton mix složený ze 3 komponentů.

Pečlivý anamnestický rozbor nám většinou odhalí spektrum látek, se kterými nemocný přišel do kontaktu v době vzniku dermatitidy, tyto pak používáme ve speciální sadě testů. Speciální sada alergenů obsahuje alergeny, se kterými se setkávají jednotliví nemocní. Použití speciálních alergenů musí respektovat některé zásady. Používáme látky známého chemického složení, snažíme se vyhnout testování různých směsí. Zvláštní pozornost vyžadují látky s leptavými účinky, silné kyseliny nebo zásady, peroxidy, halogenované sloučeniny. Každou látku aplikujeme na kůži v tzv. alergologické koncentraci, kterou nalezneme ve speciálních tabulkách příslušných publikací (např. Fisher´s Contact Dermatitis). Tato koncentrace má vyvolat mírnou reakci u senzibilizované osoby, ale žádnou u kontrolních subjektů a má také vyloučit iritační působení látky. Je vždy nezbytné podrobně vědět, jakou látku testujeme a v jaké koncentraci jí můžeme testovat. Iniciální koncentrace se obvykle pohybuje mezi 0,1 do 1 %, ale někdy i níže. Některé látky běžného denního užití (např. kosmetika) testujeme neředěné (as is). Netestujeme látky neznámého složení, jedy, které se mohou vstřebat kůží a vyvolat intoxikaci (kyanidy, organofosfáty apod.)! S velkou opatrností nebo spíše netestujeme látky s extrémními hodnotami pH.

Bloky testů obsahují alergeny, které jsou sestaveny s ohledem na některé specifické alergeny určitých profesí. K dispozici jsou bloky testů obsahující fotografické chemikálie, „pekárenská“ a kadeřnická sada, dále léková sada včetně lokálních anestetik, lokálních kortikosteroidů, zubní sada, sada s fotoalergeny, sada gumárenská a další. Takovéto bloky alergenů zaručují, že nebude opominuta žádná látka, na kterou by mohlo být během anamnézy zapomenuto. Tyto bloky testů k dispozici jsou, jejich širšímu použití v našich podmínkách však brání vysoká pořizovací cena, proto se často používají individuálně ředěné alergeny z prostředí pacienta.

Hodnocení reakcí v epikutánním testu

V ET můžeme obdržet dva základní typy reakcí, alergickou a toxickou (iritační). Musíme je od sebe odlišit, což bývá někdy obtížné. Při odečítání reakcí se opíráme nejen o klinický vzhled, ale také o dynamiku reakcí.

Doporučená odečítací škála je:

?	nejasná reakce, lehký erytém
+	erytém, infiltrace, oj. papuly
++	předcházející + četné papuly a vesikuly
+++	předcházející + buly a mokvání
-	negativní reakce

Vyvolání alergické reakce je cílem našeho vyšetření. Kromě uvedené odečítací škály pozitivní reakce posuzujeme další charakteristiky reakce:

- neostré ohraničení reakce v testovacím poli
- reakce „dobíhají“
- vývoj reakce je pomalejší, zesilují (crescendo typ) nebo přetrvávají ve stejné intenzitě (plateau) během odečítacích dnů.

Pozitivní reakce iritačního typu se může v epikutánním testu také vyskytnout, méně zkušeným může být považována za alergickou reakci. Bývá způsobena zvýšenou dráždivostí kůže nebo příliš vysokou koncentrací testované látky a má některé typické znaky:

- reakce je ostře ohraničená na testovací pole
- klinicky se jedná o decentní erytém, puchýř, nekróza, hemorhagie, petechie
- reakce persistuje krátkou dobu
- reakce zeslabuje, popř. vymizí (decrescendo typ) během odečítacích dnů.

Mezi speciální obrazy iritačních a toxických reakcí řadíme ***„mýdlový efekt“***. Je způsoben alkalickou povahou mýdel, saponátů a čistících prostředků, a to i dostatečném ředění (1–2 %). Prvotní zarudnutí v časné reakci se při dalším odečítání mění v jemné zřasení kůže se zvýšeným leskem se současným vybledem. ***Toxická reakce*** na soli kovů může napodobovat ekzémovou reakci. Jedná se o folikulárně vázané papulky, papulopustulky a pustulky řídce distribuované pouze v místě testu. Je vyvolána solemi kovů ve folikulech při transadnexálním průniku alergenu do epidermis. K dalším nealergickým reakcím řadíme ***reakci „tahovou“***. Má charakter pruhovitých hemorhagií nebo puchýřů. Vyskytuje se v místech napínání kůže testoplastí. Další kožní projevy (pustulky, ostioporitida a miliaria) se objevují vlivem ***okluze*** testoplasti. ***Okrajová („edge“)*** reakce je iritační reakcí s maximem na okraji testovacího terčíku. Je způsobena vyšší koncentrací roztoku na okrajích testoplasti. Reakce na lepivé složky náplasti může mít charakter alergický nebo iritační. Používáním hypoalergenních náplastí se vyskytují v menší míře.

Komplikace ET se vyskytují zřídka. Mezi nejzávažnější patří ***anafylaktický šok*** (po některých antibioticích – PNC, neomycin, gentamycin). Může se objevit krátce po přiložení ET. Každé pracoviště musí být na tuto reakci připraveno a náležitě vybaveno. Mezi častější komplikace ET patří ***hyperergická reakce*** (např. po peruánském balzámu, propolisu apod.), kdy se reakce značně šíří do okolí. Zanesení bakteriální nebo virové infekce (***impetiginizace***) je řídkou komplikací pozitivních reakcí. Posuny ve změnách pigmentu (hypo nebo hyperpigmentace) se mohou objevit v místě pozitivních silnějších reakcí, hyperpigmentace v místě pozitivních reakcí v případě předčasného slunění zad. ***Ložisková reakce*** (ektopická „flare“ dermatitida) znamená zhoršení nebo recidivu ekzémových projevů v místě klinických projevů ekzému po přiložení epikutánních testů a je důkazem toho, že testovací sada obsahovala příčinný alergen. Pozitivní reakce v místě aplikace testů, která se objeví za 10–14 dnů po aplikaci testů, znamená ***iatrogenní senzibilizaci***. Dlouhodobé přetrvávání pozitivity testu na zádech nebo oživování místa po testech (***mnemodermie***) při nedůsledné prevenci styku s alergenem kdekoliv na těle je možné. ***Koebnerův fenomen*** se objevuje v místě aplikace testů u pacientů s psoriázou

nebo lichen planus. ***„Angry back syndrom"*** řadíme mezi falešně pozitivní reakce iritační povahy (viz dále). Reakce v tomto případě nelze hodnotit, testovací pole se musí zklidnit a s odstupem 2–3 měsíců je nutné pacienta přetestovat.

Interpretace výsledků ET je standardní součástí vyšetření. Znamená porovnání výsledků testů s klinickými projevy, neboť závěry vyšetření mohou mít pro nemocného řadu důsledků sociálních, posudkových i osobních (např. změna zaměstnání, omezení léčebných možností).

Pozitivní klinicky relevantní alergická reakce

- souhlasí s anamnézou, klinickými kožními projevy, odhalili jsme primární příčinu onemocnění nebo superalergizaci jiné kožní choroby: reakce je aktuálně klinicky relevantní
- nekoreluje s negativním klinickým kožním onemocněním. Znamená dřívější kontakt s alergenem a proběhlou senzibilizaci na alergen: latentní senzibilizace nebo minulá klinickou relevance na zjištěnou pozitivitu v ET
- výsledek nedokážeme spolehlivě objasnit, je nutné další sledování

K nesprávným závěrům vyšetření epikutánními testy patří i zhodnocení ***falešně pozitivní a falešně negativních reakcí.***

Za nejčastěji se vyskytující falešně pozitivní reakce mohou být považovány:

- toxická reakce (při nedostatečném ředění látky)
- dekomprese a přívalová hyperémie po testování pevných látek
- zbarvení kůže barevným alergenem
- přenos stop pozitivním alergenů do jiných testovacích polí
- angry back syndrom (podráždění testovací lokality)
- alergická nebo iritační reakce na použité ne zcela běžné vehikulum (nutno testovat i samotné vehikulum) nebo na složky vehikula (při testu s HVLP nebo s kosmetickými přípravky)
- červený dermografizmus

Mezi falešně negativní reakce zahrnujeme:

- špatná technika testu, test neměl dobrý kontakt s kůží, nebyl aplikován dostatečně dlouhou dobu, nebo byl předčasně odstraněn (nedostatečná penetrace alergenu do kůže)
- alergen byl testován v podprahové koncentraci
- jedná se o fotoalergii, musí se provést fotoalergické testy
- jde o jiný typ alergie než kontaktní alergie (proteinová dermatitida), ET není adekvátní vyšetřovací metodou, je nutné provést jiná vyšetření (test vetřením)
- pacient je v anergické fázi, ET byly přiloženy brzo po odeznění akutních projevů, ET je třeba zopakovat s odstupem 6–8 týdnů
- testovaný alergen není v aktivní formě (oxidovaný, degradovaný, atp.) – terpentýnový olej, d-limonene
- krátká doba trvání onemocnění a alergizovaný terén někdy zůstává omezen na místo primárního kontaktu. Toho někdy využíváme v tzv. ***blízkém testu***, kdy se pozitivní alergické reakce v ET objeví ne na zádech, ale v blízkosti primárního ložiska (např. na předloktí).
- „compound" alergie – pozitivní reakce alergického typu se objeví na konečný výrobek, nikoliv na jednotlivé složky, které se také testovali (např. kosmetické krémy)

Skarifikační ET je modifikací uzavřeného ET. Užívá se pro alergeny, u kterých je známo, že mají velkou molekulu a špatně pronikají do kůže. Jde např. o sulfonamidy, neomycin, proteinové alergeny (srst, maso, vejce a další). ET se přikládá na místo, na kterém byla před aplikací daného alergenu narušena epidermis několika nekrvácejícími tahy hrotu injekční jehly, abradována smirkovým papírem. Na toto poškození kůže musí být pamatováno během odečítání testů (falešně pozitivní reakce).

Fotosenzibilizační ET se používá k diagnostice fotoalergické kontaktní dermatitidy nebo fotoalergického lékového exantému. Látek, které tyto reakce mohou způsobit, je celá řada (např. sulfonamidy, tetracyklinová antibiotika, thiazidová diuretika, antidiabetika, fenothiazinová deriváty, parfémy, ketoprofen, estery kyselina skořicové, rostliny, halogenované salicylanilidy, sunscreeny a další). Technika tohoto testu je odlišná od prostého ET. Dvě sady podezíraných alergenů jsou aplikovány na záda či paže, poprvé se odečítají obě sady za 48 hod. Poté je jedna sada zakryta a druhá ozářena UVA v dávce 5–10 J/cm^2. Následuje další odečítání opět obou sad za dalších 24, 48 hodin a event. i později. Jejich vzájemné porovnávání mezi sebou a hodnocení s již zmíněnou odečítací škálou je nezbytné. Pozitivita v ozářených polích s negativitou v neozářených polích potvrzuje fotokontaktní alergii, pozitivita v obou srovnávaných polích svědčí pro prostou kontaktní alergii.

Otevřené ET se užívají pro alergeny rozpuštěné v těkavých rozpouštědlech (lihu, acetonu, benzínu), aplikují se na kůži předloktí nebo břicha a bez krytí náplastí se nechají zaschnout. Odečítáme reakci časnou (za 20–30 minut) a reakci pozdní (za 48 a 72 hodin). Tyto testy používáme při vyšetřování nemocných s očekávanou silnou alergickou reakcí, při hrozbě anafylaktického šoku, při vyšetřování kontaktní urtikárie. Alergeny se zakapávají kolodiem a pak se jedná o kompromis mezi otevřeným a uzavřeným testem. Stejně tak je možné po odečtení časné reakce alergen uzavřít pod testoplast a postupovat jako u klasického uzavřeného testu.

Iontoforetický ET využívá elektrické disociace alergenů ve vodě. Metoda vychází z předpokladu, že na standardní ploše aktivní elektrody (1 cm^2), při stejné intenzitě proudu (0,3–0,5 mA/cm^2) a konstantní době aplikace (20–90 sec.) je do epidermis vpraveno standardní množství alergenu. Možné pozitivní reakce se hodnotí obdobně jako u ostatních typů ET. Metoda se využívá u sporných reakcí na kovy, u alergenů s velkou molekulou. Je ovšem použitelná pouze pro alergeny rozpustné ve vodě, jen pro vybrané alergeny a pouze v některých indikovaných případech, neboť je časově náročná.

Podporováno VZ FNM č. MZO 00064203/6904.

Literatura u autora

MUDr. Alena Machovcová, MBA
Dermatovenerologické oddělení FN Motol
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5
e-mail: alena.machovcova@fnmotol.cz