

Atopowe testy płatkowe jako kolejne kryterium rozpoznawania atopowego zapalenia skóry

Atopy patch tests as an additional criterion of atopic dermatitis diagnosis

ZBIGNIEW SAMOCHOCKI, WITOLD OWCZAREK, STANISŁAW ZABIELSKI

Klinika Dermatologii Centralnego Szpitala Klinicznego Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie, kierownik Kliniki prof. dr hab. med. Stanisław Zabielski

Abstract

Complex pathomechanism of skin lesions in atopic dermatitis (AD) results in variations of clinical picture and frequent difficulties in diagnosis.

The purpose of the study was to evaluate the usefulness of APT with aeroallergens in the diagnosis of AD.

The study was conducted among 115 adult patients with AD. The control group was composed of 98 health volunteers comprised proportionally in terms of age and sex. APT with cat dander allergens, birch pollen, the mixture of house dust mite and 5 grass pollen allergens were performed in both groups. The results were then subjected to statistical analysis.

At least one positive reaction to tested allergens was found in 62/115 (53.9%) patients. The control group presented relevant percentage of 6.2 and the difference statistically relevant ($p < 0.001$). Hypersensitivity to house dust mite allergens was observed most often – 45.2%. In case of other airborne allergens results were as followed: birch pollen – 32.2%, grass pollen 22.6% and cat dander – 15.7%. In the control group positive reaction only for house dust mite allergens was observed ($p < 0.001$). 43.5% patients presented positive reaction to only one allergen, the rest 56.5% presented polyvalent allergy to 2-4 allergens. Specificity of conducted tests in comparison to tested allergens amounted over 75%, whereas the sensitivity varied from 18 to 66%.

Conclusions: 1. APT characterized by considerable specificity confirm the role of polyvalent contact hypersensitivity to aeroallergens in the development of AD; 2. Positive results of ATP with aeroallergens as a feature observed in majority of patients may constitute an additional criterion of allergic type of AD diagnosis.

Key words: Atopic dermatitis (AD), atopy patch test (APT), aeroallergens, diagnosis.

Streszczenie

Złożony patomechanizm zmian skórnych w przebiegu atopowego zapalenia skóry (AZS) jest przyczyną odmiennego obrazu klinicznego i częstych trudności rozpoznawczych.

Celem pracy była ocena przydatności atopowych testów płatkowych (APT) przeprowadzonych z alergenami powietrznopochodnymi w rozpoznaniu AZS.

Badaniami objęto 115 dorosłych chorych na AZS. Grupę kontrolną stanowiło 98 zdrowych ochotników dobranych odpowiednio pod względem wieku i płci. U wszystkich wykonano APT z alergenem sierści kota, pyłku brzozy, mieszaniny roztoczy kurzu domowego i pyłków 5 traw. Wyniki poddano analizie statystycznej.

U 62/115 (53,9%) chorych stwierdzono co najmniej jeden dodatni odczyn na badane alergeny. W grupie kontrolnej odsetek ten wynosił 6,2, a różnica była statystycznie istotna ($p < 0,001$). Najczęściej stwierdzano nadwrażliwość na roztocza kurzu domowego – 45,2%, pyłek brzozy – 32,2%, pyłki traw 22,6% i sierść kota – 15,7%. W grupie kontrolnej dodatnie wyniki obserwowano tylko na alergeny roztoczy kurzu domowego ($p < 0,001$). Tylko na 1 alergen reagowało 43,5% chorych, u pozostałych 56,5% stwierdzono alergię wieloważną na 2–4 alergeny. Swoistość wykonanych testów w stosunku do badanych alergenów wynosiła ponad 75%, podczas gdy czułość wahała się od 18 do 66%.

Wnioski: 1. APT, które cechują się znaczną swoistością potwierdzają rolę wieloważnej nadwrażliwości kontaktowej na alergeny powietrznopochodne w rozwoju choroby; 2. dodatnie wyniki APT z alergenami powietrznopochodnymi jako cecha występująca u większości chorych, mogą stanowić dodatkowe kryterium rozpoznawania alergicznego typu AZS.

Słowa kluczowe: atopowe zapalenie, atopowe testy płatkowe, alergeny powietrznopochodne, rozpoznawanie.

(PDia 2004; XXI, 4: 200–204)

Adres do korespondencji: doc. dr hab. med. Zbigniew Samochocki, Klinika Dermatologii WIM, 00-909 Warszawa, ul. Szaserów 128, tel./faks +48 22 810 55 20

Wstęp

W 1977 r. Hanifin i Lobitz [1] opublikowali kryteria rozpoznawania atopowego zapalenia skóry (AZS), które w 1980 r. zostały zmodyfikowane przez Hanifina i Rajkę [2]. Do chwili obecnej stanowią one podstawę rozpoznania choroby. Do jednego z kryteriów mniejszych tej klasyfikacji należą pozytywne wyniki natychmiastowych testów skórnych (SPT) z alergenami pokarmowymi i/lub powietrzno pochodnymi, które stwierdza się u 66–88% badanych [2–4]. U dorosłych wykrywana tą metodą nadwrażliwość dotyczy głównie alergenów powietrzno pochodnych [3]. Badania laboratoryjne wykazały także, że u ok. 73% dorosłych chorych na AZS występują podwyższone stężenia swoistych IgE (sIgE) skierowanych przeciwko aeroalergenom [5]. Wyniki omawianych testów w powiązaniu z obserwowanym klinicznie zaostrzeniem AZS po prowokacji aeroalergenami, potwierdziły, że I typ reakcji alergicznej odgrywa istotną rolę w etiopatogenezie choroby; ale nie można tym mechanizmem tłumaczyć wszystkich zjawisk związanych z nietolerancją alergenów powietrzno pochodnych [6]. Wykazano również, że nadwrażliwość na aeroalergeny u chorych może być związana z IV mechanizmem alergicznym, albo może mieć charakter mieszany (I i IV) [7]. Słuszne zatem wydawało się wykonywanie także prób płatkowych z tymi alergenami, celem wykazania czynników prowokujących lub zaostrzających AZS na drodze nadwrażliwości kontaktowej [8].

Celem pracy była ocena przydatności atopowych testów płatkowych z alergenami powietrzno pochodnymi w diagnostyce AZS.

Materiał i metodyka

Badaniami objęto 115 chorych na AZS (63 kobiety i 52 mężczyzn), w wieku od 18 do 45 lat (średnio 25,5). Rozpoznanie ustalono na podstawie spełnionych kryteriów Hanifina i Rajki [2]. Chorzy nie otrzymywali leków, których rodzaj i czas podania mógłby mieć wpływ na wyniki przeprowadzonych badań.

Grupę kontrolną stanowiło 98 zdrowych ochotników, dobranych odpowiednio pod względem wieku i płci.

Do badań użyto wyciągów pojedynczych alergenów lub ich mieszaniny: 1. mieszaniny roztoczy kurzu domowego *Dermatophagoides pteronyssinus* i *Dermatophagoides farinae*, 2. pyłku brzozy białej – *Betula alba*, 3. mieszaniny 5 traw (kupkówki pospolitej – *Dactylis glomerata*, wiechlina łąkowej – *Poa pratensis*, życicy trwałej – *Lolium perenne*, tomki wonnej – *Anthoxanthum odoratum*, tymotki łąkowej – *Phleum pratense*), 4. sierści kota.

Atopowe testy płatkowe (APT) wykonano na niezmienionej skórze pleców przy użyciu komercyjnych odczynników firmy Stallergenes (Francja). Na skórę nakładano kwadraty z bibuły o wymiarach 1x1 cm, nasączone roztworami badanych alergenów zawieszonych

w wazelinie białej, w których ich stężenie wynosiło 200 IR [9, 10]. Wg instrukcji producenta wyciąg alergenowy posiada aktywność równą 100 IR/ml, jeżeli w punktowym teście PRICK powoduje u 30 osób uczulonych na badany alergen powstanie rumienia o średnicy 7 mm. Test kontrolny wykonano z podłożem alergenów (wazeliną białą). Następnie na bibułę nakładano folię o wymiarach 1,5x1,5 cm w celu wywołania okluzji. Całość mocowano za pomocą przylepca hipoaergicznego. Próby zdejmowano po 48 godz., a ich wynik oceniano po 72 godz. od momentu założenia. Za wynik dodatni uznano wystąpienie co najmniej reakcji + w miejscu aplikacji wg skali: – brak reakcji, ± reakcja wątpliwa, + rumień, naciek, ++ rumień, kilka grudek (<3), +++ rumień, grudki (4 i więcej), ++++ rumień, bardzo liczne rozsiane grudki, +++++ rumień, pęcherzyki, wysięk [9].

Analizy statystycznej wyników dokonano przy użyciu testu chi kwadrat z poprawką Yatesa dla małych grup, przyjmując poziom ufności dla $p < 0,05$.

Dla porównania siły zmiennych wyników obliczono czułość (SE) i swoistość (SP) APT, wyrażając wynik w procentach wg wzorów:

$$SE = \frac{WD}{WD+FN} \quad \text{i} \quad SP = \frac{WN}{WN+FD}$$

gdzie WD oznacza zaostrzenie w wywiadzie zmian skórnych po kontakcie z aeroalergenem i pozytywny wynik APT z tym alergenem, FN – wywiad pozytywny, APT – negatywny, WN – wywiad i APT negatywne, FD – wywiad negatywny, APT – pozytywny [11].

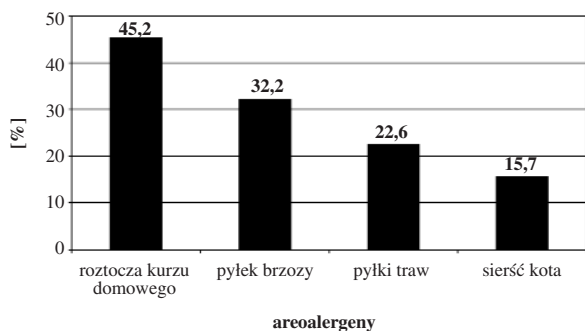
Wyniki

Prowokację świądu i/lub zaostrzenie zmian wypryskowych po kontakcie z kurzem podawało 63/115 (54,8%) chorych. Odsetki dotyczące nietolerancji pyłku brzozy, pyłków traw i sierści kota wynosiły odpowiednio 46,1 (53/115), 46,1 (53/115) i 33,0 (38/115).

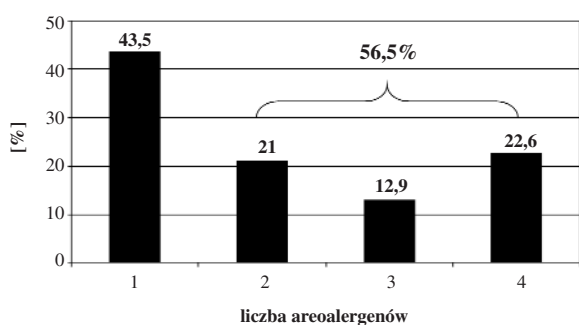
Nadwrażliwość na mieszaninę roztoczy kurzu domowego wykazano u 52/115 (45,2%) pacjentów. Dodatnie wyniki z pyłkiem brzozy stwierdzono u 37/115 (32,2%), z mieszaniną pyłków traw – u 26/115 (22,6%), a z sierścią kota u 18/115 (15,7%) chorych (ryc. 1.). W grupie kontrolnej u 6/98 (6,2%) badanych wykazano nadwrażliwość w APT na mieszaninę roztoczy kurzu domowego.

W badanej 115-osobowej grupie chorych u 62 (53,9%) stwierdzono co najmniej jeden pozytywny wynik APT na badane alergeny lub ich mieszaniny. W grupie kontrolnej odsetek ten wynosił 6,2% (6/98), a różnica była statystycznie istotna ($p < 0,001$).

U 27/62 (43,5%) z dodatnimi odczynami APT stwierdzono nadwrażliwość tylko na jedną grupę badanych aeroalergenów. U 13/62 (21%) nadwrażliwość ta dotyczyła dwóch, u 8/62 (12,9%) trzech, a u 14/62 (22,6%) wszystkich czterech grup alergenów powietrzno pochodnych (ryc. 2.).



Ryc. 1. Częstość występowania dodatnich wyników APT na badane areoalergeny u chorych na atopowe zapalenie skóry (n=115)



Ryc. 2. Częstość występowania dodatnich wyników APT na 1, 2, 3 lub 4 badane aeroalergeny (n=62)

Czułość APT wynosiła od 18,5% dla sierści kota do 66,6% – dla mieszaniny roztoczy kurzu domowego. Swoistość APT zawierała się między 75,9% dla pyłku brzozy a 85,7% – dla sierści kota (tab. 1.).

Omówienie

Zmiany skórne w przebiegu AZS nie mają swoistego charakteru, bowiem mogą występować także w innych

dermatozach. Brak jest również diagnostycznych kryteriów histologicznych, a wyniki badań laboratoryjnych mogą być odmienne u poszczególnych chorych. Pomimo kryteriów zaproponowanych przez Hanifina i Rajkę [2], obejmujących liczne cechy AZS, rozpoznanie choroby w przypadkach nietypowych może stwarzać duże trudności. Na przełomie lat, wielu autorów postuluje włączenie kolejnych kryteriów klinicznych (obecność szczelin pod małżowinami usznymi [12]), jak i laboratoryjnych, takich jak podwyższone stężenie sIgE przeciwko alergenom pokarmowym i/lub powietrzno pochodnym [3, 13], zwiększoną wartość ilorazu odsetka limfocytów Th:Ts [14] czy eozynofilię w krwi obwodowej [15].

Doniesienia literatury ostatnich lat wskazują na możliwość zastosowania APT w rozpoznawaniu AZS [16–18]. Do chwili obecnej nie ustalono jednak jednolitych kryteriów techniki wykonania badania, dlatego wyniki nie są jednoznaczne [19, 20]. W celu zwiększenia penetracji alergenu niektórzy autorzy zalecali, np. usunięcie powierzchniowych warstw naskórka przez mechaniczną abrazję lub dodawanie do zestawów kontaktowych środków drażniących [21]. Uszkodzenia te miały stwarzać warunki zbliżone do tych, w których alergen przenika w głąb skóry, np. na skutek drapania. Postępowanie to zwiększa częstość występowania reakcji nieswoistych [20]. Stąd większość autorów rekomenduje wykonywanie APT na skórze niezmienionej, co uznane jest za model najbardziej zbliżony do warunków występujących w środowisku pacjenta [17, 19, 22]. W oparciu o takie dane w badaniach własnych, roztwór alergenu nakładano pod okluzją na nieuszkodzoną skórę, wolną od zmian chorobowych.

Rozbieżności w danych na ten temat dotyczą również postaci i stężenia używanych alergenów. Stosowane stężenia są różne i wahają się od 1 000 do 10 000 PNU/g (*protein nitrogen units*) lub 200 IR (*biological units*) [8, 23, 24]. Wieloośrodkowe, randomizowane badania przeprowadzone metodą podwójnie ślepej próby wykazały, iż optymalnym stężeniem alergenów są wartości od 7 000 do 10 000 PNU/g [8, 9]. W badaniach po-

Tab. 1. Czułość i swoistość atopowych testów płatkowych z aeroalergenami u chorych na atopowe zapalenie skóry (n=115)

Alergen	WD		FN		FD		WN		Czułość [%]	Swoistość [%]
	n	%	n	%	n	%	n	%		
roztocza kurzu domowego	42	36,5	21	18,3	10	8,7	42	36,5	60,6	80,7
pyłek brzozy	22	19,2	31	26,9	15	13	47	40,9	41,6	75,9
pyłki traw	16	13,9	37	32,2	10	8,7	52	45,2	30,1	83,8
sierść kota	7	6,1	31	26,9	11	9,6	66	57,4	18,5	85,7

WD – wywiad (+), APT (+); FN – wywiad (+), APT (-); FD – wywiad (-), APT (+); WN – wywiad (-), APT (-)

równawczych przeprowadzonych przez Heinemanna i wsp. [10] uzyskano wysoką zgodność pomiędzy wynikami testów, wykonanymi przy użyciu odczynników o stężeniu alergenu 10 000 PNU/g (Allergopharma) oraz 200 IR (Stallergenes). Zależność tę potwierdzili Darasow i wsp. [9], porównując roztwory alergenu o stężeniu 7 000 PNU/g i 200 IR. Stwierdzono również, że najkorzystniejszą zaróbką jest wazelina biała [25, 26]. W badaniach własnych użyto odczynników firmy Stallergenes (Francja) o stężeniu alergenu wynoszącym 200 IR, zawieszonym w wazelinie białej. Czas aplikacji alergenów, wynoszący 48 godz., jest powszechnie akceptowany [8, 25, 27].

Oceniając częstość występowania pozytywnych wyników APT z alergenami powietrzno pochodnymi w badaniach własnych wykazano, że odsetek dodatnich wyników wśród chorych wynosił 53,9% i występował statystycznie istotnie częściej ($p < 0,001$) niż w grupie zdrowych ochotników – 6,2%. Dane są zbliżone i u ok. 50% chorych na AZS stwierdza się nadwrażliwość kontaktową na alergeny powietrzno pochodne [7, 20, 25]. W badaniach własnych w grupie kontrolnej obserwowano niską nadwrażliwość wyłącznie na alergeny roztoczy kurzu domowego. Obserwacje innych, dotyczące częstości występowania nadwrażliwości kontaktowej na alergeny roztoczy w grupach kontrolnych, zawierają się od 0 do 15% [8, 24, 28, 29]. Seidenari i wsp. [30] uważają, że dodatnie wyniki, uzyskane u zdrowych ochotników, mogą mieć wartość prognostyczną, wskazując na skłonność do rozwoju zmian wypryskowych w przyszłości i/lub do występowania tzw. *skazy atopowej*.

W badanej grupie najczęściej obserwowano nadwrażliwość na mieszaninę roztoczy kurzu domowego (45,2%) co potwierdzają obserwacje innych badaczy (39–45%) [8, 24]. Wyniki APT z alergenami pyłków traw i alergenem sierści kota były również zbliżone do danych literatury [8]. W badaniach własnych częstość występowania nadwrażliwości kontaktowej na pyłek brzozy (32,2%) stwierdzano 2-krotnie częściej niż zaobserwowali to Darasow i wsp. (15,8%) [8]. Różnicę tę można tłumaczyć odmienną częstością występowania tego drzewa w otoczeniu chorych. Ponieważ zjawisko to dotyczy również innych alergenów, wskazane jest stosowanie odmiennych zestawów diagnostycznych aeroalergenów w poszczególnych regionach świata [31].

W materiale własnym wykazano, że wśród chorych z dodatnimi wynikami APT, u 52,5% spośród nich była to nadwrażliwość wieloważna. Najczęściej dotyczyła ona 2 lub 4 grup alergenów. Darasow i wsp. – w badaniach obejmujących roztocze kurzu domowego, mieszaninę pyłków traw oraz sierść kota – stwierdzili nadwrażliwość wieloważną u zbliżonego odsetka chorych, a badani najczęściej reagowali na 2 alergeny [25].

O przydatności diagnostycznej testów alergologicznych decyduje ich czułość oraz swoistość. W oparciu o dane uzyskane z wywiadu – wskazujące na zaostrzenie przebiegu AZS pod wpływem badanych aeroalergenów w materiale własnym – wykazano, że czułość APT wahała się od 18,5 do 66,6%, a swoistość odpowiednio od 75,9 do 85,7%. Potwierdzają to obserwacje innych badaczy, wykazujących wysoką swoistość i znacznie niższą czułość atopowych testów płatkowych z alergenami powietrzno pochodnymi [8, 9].

Porównując częstość występowania pozytywnych wyników APT z aeroalergenami, ich czułość i swoistość w badaniach własnych z dodatnimi wynikami SPT i podwyższonymi stężeniami sIgE z tymi alergenami przedstawionymi w literaturze stwierdza się pewne podobieństwa, jak i różnice. Dodatnie wyniki natychmiastowych testów skórnych i/lub podwyższone stężenia sIgE występują o 30% częściej u chorych na AZS [3, 5] niż pozytywne APT. Wyższy odsetek dodatnich wyników SPT i/lub podwyższonych stężeń sIgE można tłumaczyć częstym współistnieniem *rhinitis allergica* i/lub atopowej astmy oskrzelowej [32]. Nie wykazano bowiem korelacji pozytywnych wyników APT z aeroalergenami u pacjentów z atopowymi chorobami dróg oddechowych [19, 33].

Dane wskazują, że nadwrażliwość na alergeny powietrzno pochodne – określana w SPT i/lub oznaczaniem stężeń sIgE – ma charakter wieloważny, podobnie jak wykazano w badaniach własnych dla APT [3, 5].

Aczkolwiek stwierdzona czułość APT jest mniejsza w porównaniu do SPT i oznaczeń stężeń sIgE, to istnieje zgodność poglądów co do wysokiej swoistości atopowych testów płatkowych [8, 9].

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że:

1. atopowe testy płatkowe, które cechują się znaczną swoistością potwierdzają rolę wieloważnej nadwrażliwości kontaktowej na alergeny powietrzno pochodne w rozwoju choroby;
2. dodatnie wyniki atopowych testów płatkowych z alergenami powietrzno pochodnymi, jako cecha występująca u większości chorych, mogą stanowić dodatkowe kryterium rozpoznawania alergicznego typu atopowego zapalenia skóry.

Piśmiennictwo

1. Hanifin JM, Lobitz NC: Newer concepts of atopic dermatitis. Arch Dermatol 1977; 113: 663-70.
2. Hanifin JM, Rajka G: Diagnostic features of atopic dermatitis. Acta Dermatol Venerol 1980; 92: 44-7.
3. Samochocki Z, Paluchowska E, Zabielski S: Punktowe testy skórne u dorosłych chorych na atopowe zapalenie skóry. Przegl Dermatol 2000; 87: 491-5.
4. Silny W, Wojnerowicz-Grajewska M: Testy skórne punktowe w atopowym zapaleniu skóry. Materiały XXII Zjazdu PTD. Postępy Dermatol 1984: 305-7.

5. Samochocki Z, Paluchowska E, Zabielski S: Przydatność oznaczeń stężeń swoistych IgE w atopowym zapaleniu skóry u dorosłych. *Przegl Dermatol* 2000; 87: 497-501.
6. Werfel T, Kapp A: Environmental and other major provocation factors in atopic dermatitis. *Allergy* 1998; 53: 731-9.
7. Fabrizi G, Romano A, Vultaggio P, et al.: Heterogeneity of atopic dermatitis defined by the immune response to inhalant and food allergens. *Eur J Dermatol* 1999; 9: 380-4.
8. Darasow 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.
9. Darasow U, Ring J: Atopic eczema, Allergy, and the Atopy Patch test. *ACI International* 2002; 14: 170-3.
10. Heinemann C, Schliemann-Willers S, Kelterer D, et al.: The atopy patch test – reproducibility and comparison of different evaluation methods. *Allergy* 2002; 57: 641-5.
11. Oktaba W: Elementy statystyki matematycznej i metodyka doświadczeń. PWN, Warszawa, Polska, 1976.
12. Tada J, Toi Y, Akiyama H, Arata J: Infra-auricular fissures in atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1994; 74 (2): 129-31.
13. Rudzki E, Samochocki Z, Litewska D, et al.: Clinical features of atopic dermatitis and a family history of atopy. *Allergy* 1991; 46: 125-8.
14. Samochocki Z, Zabielski S, Owczarek W: The usefulness of determinations of B and T lymphocytes in the diagnosis and prognostication of atopic dermatitis course. *Int Rev Allergol Clin Immunol* 2003; 9: 17-21.
15. Bird B: Certain observations upon the relationship of anger and eczema. *Am Pract Dig Treat* 1985; 9: 924-30.
16. Ring J, Darasow U, Gfesser M, et al.: The Atopy Patch Test in evaluating the role of aeroallergens in atopic eczema. *Int Arch Allergy Immunol* 1997, 113: 379-83.
17. Whitmore SE, Sheretz EF, Belsito DV, et al.: Aeroallergen patch testing for patients presenting to contact dermatitis clinics. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 700-4.
18. Langeveld-Wildschut EG, Bruijnzeel PLB, Mudde GC, 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.
19. Darasow U, Dietrich A, Ring J: Allergie und atopisches Ekzem: Zur Bedeutung des "Atopie-Patch-Tests". *Hautarzt*, 1997; 48: 528-35.
20. Żak-Prelich M, Arkuszewska C: Atopowe testy płatkowe. *Med Science Rev* 2002; 1: 38-41.
21. Mitchell EB, Crow J, Chapman MD, et al.: Basophils in allergen-induced patch test sites in atopic dermatitis. *Lancet* 1982; 1: 127-30.
22. De Bruin-Waller MS, Knol EF, Bruijnzeel-Koomen CAFM: Atopy patch testing – a diagnostic tool? *Allergy* 1999; 54: 784-91.
23. 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.
24. Manzini BM, Motolese A, Donini M, et al.: Contact allergy to *Dermatophagoides* in atopic dermatitis patients and healthy subjects. *Contact Dermatitis* 1995; 33: 243-46.
25. Darasow U, Vieluf D, Ring J: Atopy patch test with different vehicles and allergen concentrations: An approach to standardization. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95: 677-84.
26. Oldhoff JM, Bihari IC, Knol EF, et al.: Atopy patch test in patients with atopic eczema/dermatitis syndrome: comparison of petrolatum and aqueous solution as a vehicle. *Allergy* 2004; 59: 451-6.
27. Rance F: What is the optimal occlusion time for the atopy patch test in the diagnosis of food allergies in children with atopic dermatitis? *Pediatr Allergy Immunol*, 2004; 15: 93-6.
28. Castelain M, Birnbaum I, Castelain PY, et al.: Patch test reactions to mite antigens: a GERDA multicentre study. *Contact Dermatitis*, 1993; 29: 246-50.
29. Gaddoni G, Baldassarri L, Zucchini A: A new patch test preparation of dust mites for atopic dermatitis. *Contact Dermatitis*, 1994; 31: 132-3.
30. Seidenari S, Manzini BM, Danese P, Motolese A: Patch and prick test study of 593 healthy subjects. *Contact Dermatitis*, 1990; 23: 162-7.
31. Rudzki E, Parapura K: Czy podział atopowego zapalenia skóry ma znaczenie praktyczne? *Przegl Dermatol* 2003; 90: 59-63.
32. Samochocki Z: Rozpoznawanie, przebieg i rokowanie w atopowym zapaleniu skóry u dorosłych na podstawie kryteriów klinicznych i immunologicznych. Rozprawa habilitacyjna, Wojskowa Akademia Medyczna, Warszawa 1998.
33. Friedmann P: The role of dust mite antigen sensitization and atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 869-872.