



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

ANA LUÍSA AMBRÓSIO MARTA

**REAÇÕES ADVERSAS MEDICAMENTOSAS
CUTÂNEAS AOS ANTIBIÓTICOS:
REPRODUTIBILIDADE DO TESTE EPICUTÂNEO
NAS REAÇÕES NÃO IMEDIATAS.**

ARTIGO CIENTÍFICO

ÁREA CIENTÍFICA DE DERMATOLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
MARIA MARGARIDA MARTINS GONÇALO**

FEVEREIRO/2016

Índice

1. Título	2
2. Resumo	2
3. Palavras-chave	3
4. Summary	4
5. Key-words	5
6. Introdução	6
7. Objetivo	7
8. Metodologia	8
9. Resultados	11
a) Características demográficas dos doentes e reprodutibilidade do teste epicutâneo....	14
b) Infecção que motivou antibioterapia, características fenotípicas da RAMc e relação com a persistência da reatividade dos testes epicutâneos	15
c) Relação entre a classe de antibiótico e a reprodutibilidade do teste epicutâneo	17
d) Reprodutibilidade dos testes epicutâneos em relação com o intervalo de tempo.....	18
e) Reprodutibilidade dos testes em função da intensidade da reação no 1º teste.....	18
10. Discussão e conclusão	21
11. Agradecimentos	25
12. Bibliografia	26

1) Título: Reações adversas medicamentosas cutâneas aos antibióticos: reprodutibilidade do teste epicutâneo nas reações não imediatas.

2) Resumo:

Introdução: As reações adversas medicamentosas cutâneas (RAMc) retardadas são frequentes, nomeadamente as induzidas por antibióticos (ABs), e têm um grande impacto em orientações terapêuticas posteriores. O seu correto diagnóstico, nomeadamente recorrendo a testes epicutâneos, permite: identificar os fármacos responsáveis pelas RAMcs, contribuindo assim para a prevenção de futuras reações pelo mesmo fármaco, por vezes de maior gravidade, e para limitar o leque de fármacos que o doente ou o seu médico têm receio de utilizar.

Objetivos: Avaliar a reprodutibilidade dos testes epicutâneos positivos a ABs e sua importância na identificação do fármaco causal em RAMc retardadas clinicamente imputáveis aos ABs, nos diferentes grupos de ABs e de padrões de reação cutânea em diferentes períodos após a resolução da RAMc.

Métodos: A informação extraída para este estudo foi obtida através da recolha e avaliação das fichas alergológicas e processos clínicos dos doentes do Serviço de Dermatologia dos CHUC, que nos últimos 15 anos tiveram testes epicutâneos positivos a ABs e que repetiram os testes pelo menos 12 meses mais tarde. A reprodutibilidade dos testes foi avaliada em função das características demográficas dos doentes, do padrão das RAMc, da classe de AB com testes positivos, do intervalo de tempo entre a realização dos testes e da intensidade da reação.

Resultados: Avaliou-se um grupo de 20 doentes (12 do sexo feminino e 8 do sexo masculino), com idades compreendidas entre os 17 e os 72 anos, com antecedentes de RAMc (90% com exantema maculopapular) clinicamente imputável a um AB e testes epicutâneos iniciais

positivos. O intervalo de tempo entre os testes para cada doente variou entre 1,76 e 14,7 anos. O teste epicutâneo com o AB imputável foi reprodutível em 15/20 (75%) dos doentes. Das 35 reações observadas nos primeiros testes, 28 (80%) mantiveram-se positivas, sobretudo as relacionadas com betalactâmicos. A reprodutibilidade foi independente do sexo, idade, intervalo de tempo entre os testes e da intensidade do teste inicial ($p>0,05$), tendo contudo sido observada uma tendência para a redução da intensidade dos testes ($p<0,05$) ao longo do tempo.

Discussão: Neste estudo verificámos uma elevada reprodutibilidade dos testes epicutâneos, mesmo após longos intervalos de tempo entre os testes, sobretudo para os betalactâmicos e clindamicina, que foram testados em maior número de doentes. A reprodutibilidade dos testes positivos reforça a importância destes testes epicutâneos no diagnóstico de RAMc retardadas a ABs e a possibilidade da sua utilização como diagnóstico retrospectivo.

3) Palavras-chave:

Reação cutânea medicamentosa adversa, exantema maculopapular, exantema medicamentoso, antibióticos, betalactâmicos, clindamicina, testes epicutâneos, reprodutibilidade.

4) Summary:

Background: Delayed cutaneous adverse drug reactions (CADRs) are common, especially those induced by antibiotics (ABs) and they have a major impact on subsequent treatment. The correct diagnosis, namely using patch testing, often enables the precise identification of the responsible drug and, therefore, prevents future reactions from the same drug and limits the number of drugs the patient has to avoid.

Objectives: Evaluate the reproducibility of patch tests in identifying the causative drug in delayed CADRs clinically attributable to ABs, in different groups of ABs and different cutaneous reaction patterns performed in different periods after the resolution of CADRs.

Methods: The information for this study was collected through evaluation of medical records of patients of the CHUC Dermatology Service, who had positive patch tests to ABs in the last 15 years and repeated the tests at least 12 months thereafter. The reproducibility of the test was evaluated according to the demographic characteristics of the patients, the pattern of CADRs, the AB class with positive tests, the time period between the tests and the intensity of the reaction.

Results: We evaluated 20 patients (12 females and 8 males), aged between 17 and 72 years, with a history of CADRs (90% with maculopapular exanthema) and an initial positive patch test with the imputable antibiotic. The time period between tests for each patient ranged between 1.76 and 14.7 years. Patch tests were reproducible in 15/20 (75%) patients. Among the 35 patch test reactions observed in the first test in these 20 patients, 28 (80%) remained positive, particularly those related to beta-lactams (87,5%) and clindamycin (71,4%). The reproducibility was independent of sex, age, time period between the tests and the intensity of the initial test ($p>0.05$). However, a tendency to reduce the intensity of tests ($p<0.05$) was observed over time.

Discussion: In this study we found a high reproducibility of patch tests, even after long periods of time between tests, especially for beta-lactams and clindamycin, which have been tested in a greater number of patients. The high reproducibility reinforces the importance of patch tests in diagnosing delayed CADR to Abs, even as a retrospective diagnostic test.

5) Key-words:

Cutaneous adverse drug reaction, drug-induced exanthema, maculopapular exanthema, antibiotics, beta-lactams, clindamycin, skin tests, patch test, reproducibility.

6) Introdução:

As reações adversas medicamentosas cutâneas (RAMc) são definidas como erupções cutâneas induzidas pelo uso de medicamentos na indicação correta e em doses adequadas. Manifestam-se sob padrões clínicos muito diferentes, dependentes de distintos mecanismos patogénicos, imunológicos ou não. [1]

As RAMc do tipo imunológico podem envolver qualquer dos 4 diferentes tipos de reações de hipersensibilidade, mas estão representados sobretudo os do tipo I e IV. Tradicionalmente dividem-se em reações imediatas cujas manifestações ocorrem dentro de minutos a 1-6 horas e as reações não imediatas ou retardadas. As reações imediatas são dependentes da IgE específica e da desgranulação de mastócitos e/ou basófilos e incluem a urticária, o angioedema e a anafilaxia. As reações não-imediatas ou retardadas, ocorrem geralmente dentro de 24 a 48 horas ou até 3-6 semanas, são dependentes de linfócitos T específicos do fármaco e incluem o exantema maculopapular (EMP), a síndrome de DRESS (Drug reaction with eosinofilia and systemic symptoms), a pustulose exantemática aguda generalizada (PEAG), o eritema pigmentado fixo (EPF), a síndrome de Stevens-Johnson (SSJ) e a necrólise epidérmica tóxica (NET), entre outras. [2]

Estas RAMc retardadas representam 20-35% dos efeitos adversos a medicamentos [3] sendo os antibióticos (ABs), nomeadamente os betalactâmicos, um dos medicamentos mais envolvidos. Os testes epicutâneos, usados prioritariamente no estudo da dermatite de contacto alérgica, outra reação cutânea de hipersensibilidade retardada mediada por linfócitos T, podem também ser positivos em RAMcs retardadas ao fármaco administrado por via sistémica. [4] Estes testes, desde que realizados de acordo com as orientações da European Society of Contact Dermatitis (ESCD) [5] e da European Network on Drug Allergy (ENDA) [6], são considerados seguros e altamente específicos. A sua sensibilidade é variável, entre 11

e 44% [4], e depende de vários fatores, sobretudo do fármaco e do padrão de reação cutânea. Quando positivos, estes testes podem evitar provas de reintrodução medicamentosa de realização por vezes morosa e não isenta de riscos. [7,8,9,10]

As recomendações europeias sugerem a realização dos testes epicutâneos 6 semanas a 6 meses após a resolução da RAMc [4], mas a reatividade dos testes parece manter-se por vários anos, ainda que não se conheça a manutenção da reatividade ao longo do tempo, nem a sua reprodutibilidade.

7) Objetivo

O objetivo deste trabalho de investigação foi avaliar a reprodutibilidade dos testes epicutâneos positivos, obtidos no diagnóstico das RAMc não imediatas por ABs, e correlacionar a reprodutibilidade dos testes com as variáveis demográficas, os padrões clínicos de RAMc, os ABs que ocasionaram os testes positivos, o intervalo de tempo entre a realização dos testes e a intensidade dos testes.

Secundariamente pretendemos avaliar a reatividade dos testes epicutâneos realizados após um intervalo superior aos 6 meses, habitualmente recomendado para a realização dos testes.

8) Metodologia

Efetuámos um estudo retrospectivo com avaliação das fichas alergológicas e processos clínicos de doentes estudados entre 2001 e 2015 na Unidade de Alergologia do Serviço de Dermatologia dos CHUC, por RAMc não-imediata a ABs e cujo teste epicutâneo positivo foi repetido após um período superior a 12 meses.

Nos doentes em que se identificam ABs como possível causa da RAMc são efetuados regularmente testes epicutâneos nas 6 semanas a 6 meses após a resolução da RAMc, de acordo com as recomendações da ESCD [5] e da ENDA [6]. Pontualmente, aos doentes que realizam de novo testes epicutâneos, são também repetidos os testes epicutâneos com os ABs.

Os testes epicutâneos são realizados com todos os fármacos imputáveis de acordo com os critérios do sistema de Farmacovigilância Francês [11] e na suspeita de um AB os testes incluem uma série alargada de ABs testados a 10% em vaselina (Chemotechnique Diagnostics, Vellinge, Suécia). Alguns ABs são preparados localmente utilizando o pó das preparações para injectáveis ou dos comprimidos, diluídos a 10% em vaselina (Tabela 1).

Os testes são aplicados no dorso durante 48h utilizando Finn Chambers on Scanpor tape (Smartpractice Europe, Reinbeck, Germany) ou as câmaras IQ-Ultra (ChemotechniqueDiagnostics, Vellinge, Suécia). Os resultados são lidos ao fim de 2 a 7 dias e quantificados em negativos (-), fracamente positivos (1+), moderadamente positivos (2+) e intensamente positivos (3+), de acordo com as orientações internacionais [5].

Tabela 1. Série de antibióticos utilizada na realização dos testes epicutâneos

	Antibiótico – alergénio	Concentração e veículo
1	Penicilina G*	10% vas
2	Amoxicilina*	10% vas
3	Ampicilina*	10% vas
4	Dicloxacilina*	10% vas
5	Flucloxacilina (Floxapen®)	10% vas
6	Cefotaxime*	10% vas
7	Cefradina*	10% vas
8	Cefoxitina*	10% vas
9	Ceftazidima	10% vas
10	Ceftriaxone	10% vas
11	Doxiciclina*	10% vas
12	Minociclina*	10% vas
13	Eritromicina base*	10% vas
14	Espiramicina base*	10% vas
15	Claritromicina*	10% vas
16	Cotrimoxazol*	10% vas
17	Bactrim® (comp)	10% <i>aq</i>
18	Trimetoprim	10% vas
19	Ciprofloxacina*	10% vas
20	Norfloxacina*	10% vas
21	Levofloxacina (Tarivid®)	10% vas
22	Lomefloxacina Maxaquim®(comp)	10% vas
23	Meropenem	10% vas
24	Imipenem	10% vas
25	Piperacilina	10% vas
26	Tazobactam	10% vas

*Alergénios comercializados por ChemotechniqueDiagnostics, Vellinge, Suécia. Os restantes alergénios foram preparados nos CHUC a partir do pó para injectáveis, excepto quando referido que foi usado o pó dos comprimidos (comp).

Aq – diluição em água

Nas fichas alergológicas e processos clínicos foram recolhidos os seguintes dados: características demográficas dos doentes (idade, sexo, motivo para a utilização do AB); padrão das RAMc e AB (ou ABs) clinicamente imputável e resultados dos testes epicutâneos nas duas avaliações (nas 6 semanas a 6 meses após a RAMc e pelo menos 12 meses após a realização do primeiro teste). Os resultados dos testes epicutâneos foram correlacionados com as variáveis demográficas, o padrão de RAMc e o AB causal, o intervalo de tempo entre os testes e a intensidade do primeiro teste. O segundo teste foi considerado reprodutível quando se mantinha a reatividade, ainda que a intensidade pudesse ser distinta.

A análise estatística foi realizada usando IBM SPSS Statistics 23.0. Dado as variáveis numéricas (nomeadamente “intervalo de tempo entre os testes” e “idade no 2º teste”) terem uma distribuição normal (verificado pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e pelo teste de Shapiro-Wilk), foi realizado um teste paramétrico T de Student para comparar “intervalos de tempo entre os testes” e “idade no 2º teste” consoante o “resultado no 2º teste”. Relativamente às variáveis binominais “sexo” e “resultado final” foi realizado um teste exacto de Fisher para averiguar se estas estavam relacionadas ou eram independentes. Para avaliar se a positividade no 2º teste estava relacionada com a intensidade dos testes iniciais, foi realizado um teste Qui-quadrado. Para avaliar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as intensidades dos testes ao longo do tempo, foi realizado um teste de Wilcoxon. Para avaliar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as variações de intensidade ao longo do tempo consoante os 3 grupos de intensidade do 1º teste, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis e, para identificar qual o grupo em que se verificava essas diferenças, o teste Mann-Whitney. As conclusões apresentadas, sobre as estatísticas calculadas neste estudo, assumem sempre um nível de confiança de 95% e um valor de significância de 0,05.

9) Resultados:

No período de 15 anos em que decorreu o estudo foram efetuados testes epicutâneos a 260 doentes com RAMc retardadas clinicamente imputáveis a ABs, 79 do sexo masculino e 181 do sexo feminino, com idades variando de 12 a 93 anos (média 51.9 ± 19.4 anos). Destes 260 doentes tiveram testes epicutâneos positivos a ABs 56 (21.5%), 18 do sexo masculino e 38 do sexo feminino. [12]

Destes 56 doentes, 20 repetiram os testes epicutâneos com a série de ABs (8 do sexo masculino e 12 do sexo feminino) com idades à data dos primeiros testes variando entre os 17 e os 72 anos (média de $47,50 \pm 17,03$ anos). Nenhum destes doentes estava medicado com fármacos imunossuppressores e apenas um paciente referia outro episódio de exantema medicamentoso no intervalo entre os testes, imputável a cefalosporina utilizada no tratamento de erisipela.

Nestes 20 pacientes obtivemos 35 testes positivos no estudo inicial, 12 (34,29%) de intensidade fraca (1+), 17 de intensidade moderada (2+) e 6 de intensidade forte (3+) (Tabela 9). Nalguns pacientes, além do teste positivo ao AB imputável na RAMc, observámos testes positivos a outros ABs, explicados na sua maioria por reações cruzadas entre ABs com estruturas químicas semelhantes (ampicilina, amoxicilina e outras penicilinas) ou por possível sensibilização concomitante (Figura 1).

Nos testes repetidos após um intervalo de 1,75 a 14,71 anos (média de $6,78 \pm 4,10$ anos), os resultados com o AB imputável foram reprodutíveis em 15 (75%) (Tabela 2), em percentagens variáveis consoante os parâmetros que de seguida avaliamos. Dos 35 testes positivos na primeira avaliação a reação manteve-se positiva em 28 (80.0%) ainda que nalguns casos a intensidade da reação se tenha modificado (Tabela 2).



A



B



C



D



E

Figura 1 – **A**- Teste epicutâneo positivo para Amoxicilina (10% vas); **B**- Reatividade cruzada entre amoxicilina/ác clavulânico (10%vas) e ampicilina (10%vas); **C**- Reatividade cruzada entre penicilina G (10%vas), ampicilina (10%vas), amoxicilina (10%vas) e dicloxacilina (10%vas); **D**- Reatividade cruzada entre clindamicina (10%vas) e espiramicina (10%vas); **E**- Teste epicutâneo positivo para clindamicina (10%vas). Fotos disponibilizadas pela Unidade de Alergologia do Serviço de Dermatologia do Centro Hospitalar da Universidade de Coimbra.

Tabela 2. Resumo dos doentes, padrão de reação adversa medicamentosa cutânea, intervalo entre a realização dos 2 testes e resultados dos testes aos antibióticos na 1ª e 2ª avaliação.

Sexo	Idade no 1º teste	Idade no 2º teste	Intervalo de tempo entre testes	Padrão de RAMc	Tipo de Infecção prévia	Teste positivo ao(s) AB(s)	Resultado no 1º teste	Resultado no 2º teste
F	31	46	14,71	EMP	Cutânea	Amoxicilina <i>Ampicilina</i>	++ +	++ ++
F	58	72	14,10	EMP	ORL	Bactrim®aq Cotrimoxazol	+ -	- -
M	37	49	12,54	EMP	Respiratória	Amoxicilina <i>Ampicilina</i>	++ ++	++ ++
F	64	76	11,49	EMP	Cutânea	Clindamicina <i>Cefoxitina*</i> <i>Cefazolina*</i>	+ - -	++ + +
F	51	60	10,69	EMP	ORL	Flucloxacilina <i>Dicloxacilina</i> <i>Penicilina G</i>	+++ +++ +++	++ ++ -
F	33	42	8,52	EMP	Dentária	Clindamicina	++	-
F	67	75	7,94	EMP	Cutânea	Clindamicina	++	++
F	72	79	7,41	EMP	Ocular	Amoxicilina <i>Ampicilina</i>	+++ +++	+ +
F	55	62	7,04	EMP	Cutânea	Clindamicina	+	+
M	36	43	6,51	EMP- PEAG	Respiratória	Amoxicilina <i>Ampicilina</i> <i>Penicilina</i> <i>Piperacilina</i> <i>Dicloxacilina</i>	+ + ++ ++ ++	++ ++ ++ ++ ++
M	56	62	5,76	EMP	Ocular	Espiramicina Clindamicina	+++ ++	+++ +++
F	18	23	5,23	EMP	Urinária	Trimetoprim Cotrimoxazol	+ -	- -
M	70	85	4,94	EMP	Cutânea	Dicloxacilina	+	+
M	51	54	3,65	DRESS	Neurológica	Amoxicilina <i>Ampicilina</i>	+ ++	- -
F	35	39	3,39	EMP	Cutânea	Clindamicina	+	-
F	53	55	2,55	EMP	Dentária	Amoxicilina <i>Ampicilina</i>	++ ++	++ ++
M	26	28	2,60	EMP	Respiratória	Amoxicilina <i>Ampicilina</i>	++ ++	++ ++
M	17	20	2,48	EMP	Cardíaca	Vancomicina	+	+
F	60	62	2,30	EMP	Respiratória	Amoxicilina <i>Ampicilina</i> <i>Penicilina</i>	++ ++ +	++ ++ +
M	60	62	1,75	EMP	Cutânea	Clindamicina	++	++

*Positividade verificada no 2º teste, em paciente exposto no intervalo a cefoxitina com reativação do exantema.

Em itálico estão os fármacos cuja reação positiva foi atribuída a reação cruzada, ainda que não se possa em todos os casos excluir exposição prévia a este fármaco.

F, feminino; M, masculino; +, intensidade fraca; ++, intensidade moderada; +++, intensidade forte; -, negativo; EMP, exantema maculopapular; DRESS, Síndrome de reação a fármaco com eosinofilia e sintomas sistêmicos; PEAG, pustulose exantemática aguda generalizada.

Durante a realização dos testes, tanto nos primeiros como nos segundos testes, não houve qualquer reação adversa, nomeadamente reativação do exantema. Ainda, de toda a série de ABs testada, nunca foi encontrada reação a AB a que o indivíduo não tivesse sido exposto ou com o qual não fosse expectável uma reação cruzada.

a) Características demográficas dos doentes e reprodutibilidade do teste epicutâneo

Nos doentes do sexo feminino, 8 das 12 doentes (66,70%) mantiveram a positividade dos testes epicutâneos ao AB imputável, com uma média de intervalo de tempo entre os testes de $7,95 \pm 4,20$ anos e nos doentes do sexo masculino, 7 dos 8 doentes (87,50%) mantiveram a positividade, com uma média de intervalo de tempo entre os testes de $5,03 \pm 3,47$ anos (Tabela 3), sem diferença estatisticamente significativa entre os 2 sexos ($p > 0,05$).

Tabela 3. Sexo dos doentes e resultados no 2º teste.

Sexo	Total de doentes testados	Nº de doentes com testes positivos no 2º teste	% de doentes que mantiveram a positividade	Média do Intervalo de tempo entre os testes epicutâneos
Feminino	12 (60%)	8	66,70%	$7,95 \pm 4,20$
Masculino	8 (40%)	7	87,50%	$5,03 \pm 3,47$
Total	20 (100%)	15	75%	$6,78 \pm 4,10$

No total dos 20 doentes, as idades à data da realização dos primeiros testes epicutâneos variaram entre os 17 e os 72 anos (média de $47,50 \pm 17,03$ anos), e as idades, referentes à realização do 2º teste epicutâneo, variaram entre os 20 e os 85 anos (média de $54,70 \pm 18,48$ anos).

Relativamente às idades finais, para idades superiores ou iguais a 20 e inferiores a 40 anos, 2 dos 4 doentes (50%) mantiveram a positividade dos testes epicutâneos, com uma média de intervalo entre os testes de $3,43 \pm 1,27$ anos. Para idades superiores ou iguais a 40 e inferiores a 60 anos, 4 dos 6 doentes (66,67%) mantiveram a positividade dos testes epicutâneos, com

uma média de intervalo entre os testes de $8,08 \pm 4,83$ anos. Para idades superiores ou iguais a 60 anos, 9 dos 10 doentes (90%) mantiveram a positividade dos testes epicutâneos, com uma média de intervalo entre os testes de $7,34 \pm 3,94$ anos (Tabela 4). As médias das idades no 2º teste não diferiram entre os doentes com resultados positivos e os doentes com resultados negativos no 2º teste epicutâneo ($p > 0,05$).

Tabela 4. Idade dos doentes no 2º teste e resultados no 2º teste.

Idades dos doentes quando repetiram os testes epicutâneos	Total de doentes testados	Nº de doentes com testes positivos no 2º teste	% de doentes que mantiveram a positividade	Média do Intervalo de tempo entre os testes epicutâneos
20 a <40	4 (20%)	2	50%	$3,43 \pm 1,27$
40 a <60	6 (30%)	4	66,67%	$8,08 \pm 4,83$
≥60	10 (50%)	9	90%	$7,34 \pm 3,94$

b) Infecção que motivou a antibioterapia, características fenotípicas da RAMc e relação com a persistência da reatividade do teste epicutâneo

A antibioterapia neste grupo de doentes foi utilizada no tratamento de infecções de diversos sistemas ou órgãos: 7 doentes com infecção cutânea (35%), 4 com infecção respiratória (20%), 2 com infecção dentária (10%), 2 com infecção ocular (10%), 2 com infecção ORL (10%), 1 com infecção urinária (5%), 1 com infecção neurológica (5%) e 1 com infecção cardíaca (5%). Relativamente aos doentes que tiveram previamente infecção respiratória (4), ocular (2) e cardíaca (1), todos (100%) mantiveram a positividade dos testes epicutâneos, com uma média de intervalo entre os testes de $5,99 \pm 4,77$, $6,58 \pm 1,17$ e $2,48$ anos, respectivamente. Nos doentes que tiveram infecção cutânea, 6 dos 7 doentes (85,71%) mantiveram a positividade dos testes, com uma média de intervalo entre os testes de $7,32 \pm 4,56$ anos. Tanto nos 2 doentes com infecção ORL como nos 2 doentes com infecção dentária, apenas 1 de cada (50%) manteve a positividade dos testes, com uma média de intervalo entre os testes de $12,39 \pm 2,41$ e $5,53 \pm 4,23$ anos, respectivamente. Nos doentes com infecção

urinária e neurológica (1 em cada grupo), nenhum obteve positividade após repetir os testes epicutâneos após 5,23 e 3,65 anos, respectivamente. (Tabela 5)

Tabela 5. Tipo de infecção prévia à toma do antibiótico imputável e resultados no 2º teste.

Tipo de Infecção prévia à toma de antibiótico	Total de doentes testados	Nº de doentes com testes positivos no 2º teste	% de doentes que mantiveram a positividade	Média do Intervalo de tempo entre os testes epicutâneos
Cutânea	7 (35%)	6	85,71%	7,32 ± 4,56
ORL	2 (10%)	1	50%	12,39 ± 2,41
Respiratória	4 (20%)	4	100%	5,99 ± 4,77
Dentária	2 (10%)	1	50%	5,53 ± 4,23
Ocular	2 (10%)	2	100%	6,58 ± 1,17
Urinária	1 (5%)	0	0%	5,23
Neurológica	1 (5%)	0	0%	3,65
Cardíaca	1 (5%)	1	100%	2,48

Neste estudo, 18 doentes (90%) tinham desenvolvido EMP, 14 (77,78%) dos quais mantiveram positividade nos testes epicutâneos, realizados com uma média de intervalo de tempo de $6,97 \pm 4,26$ anos entre os testes. O único doente que tinha desenvolvido uma sobreposição de EMP e PEAG manteve positividade dos testes epicutâneos com um intervalo de tempo entre os testes de 6,51 anos. No doente com DRESS a positividade do teste epicutâneo ao AB após 3,65 anos, não foi reproduzível, mas a reatividade à carbamazepina e aciclovir, persistiu no 2º teste. (Tabela 6)

Tabela 6. Padrão da RAMc e resultados no 2º teste.

Padrão da RAMc	Total de doentes testados	Nº de doentes com testes positivos no 2º teste	% de doentes que mantiveram a positividade	Média do Intervalo de tempo entre os testes epicutâneos
EMP	18 (90%)	14	77,78%	6,97 ± 4,26
EMP-PEAG	1 (5%)	1	100%	6,51
DRESS	1 (5%)	0	0%	3,65

c) Relação entre a classe de antibiótico e a reatividade do teste epicutâneo

Dos 20 doentes, o teste com o AB imputável foi reprodutível em 15 (75%) com variação de acordo com a classe do fármaco. Em 9 dos 10 casos (90%) imputáveis a derivados de penicilinas, o teste manteve-se positivo com um intervalo de tempo médio entre os testes de $6,81 \pm 4,13$ anos. Nestes 9 doentes observámos 24 testes positivos a diferentes betalactâmicos (8 à amoxicilina, 8 à ampicilina, 3 à penicilina G, 3 à dicloxacilina, 1 à flucloxacilina e 1 à piperacilina). Após repetição 21 destes testes positivos (87,50%) foram reprodutíveis (Tabela 2 e 7).

Dos 7 doentes cuja RAMc foi devida a clindamicina, 5 (71,43%) mantiveram positividade dos testes epicutâneos, após um intervalo de tempo médio de $6,56 \pm 3,27$ anos. Os doentes que tiveram RAMc a vancomicina (1) e espiramicina (1) mantiveram a positividade dos testes epicutâneos, com um intervalo de tempo médio entre os testes de 2,48 e 5,76 anos, respectivamente.

Nas RAMc atribuíveis ao cotrimoxazol (2), nunca obtivemos testes positivos ao cotrimoxazol, mas nas primeiras avaliações obtivemos uma reação fracamente positiva ao pó do comprimido de Bactrim[®] testado em água a 10% e no outro caso ao trimetoprim a 10% em vaselina. Nenhuma destas reações foi reprodutível após um intervalo de tempo médio de $9,66 \pm 6,27$ anos. (Tabela 7)

Tabela 7. Antibiótico imputável à RAMc e resultados no 2º teste.

Antibiótico imputável à RAMc	Total de doentes testados	Nº de doentes com testes positivos no 2º teste	% de doentes que mantiveram a positividade	Média do Intervalo de tempo entre os testes epicutâneos
Penicilinas	24	21	87,50%	$6,81 \pm 4,13$
Clindamicina	7	5	71,43%	$6,56 \pm 3,27$
Vancomicina	1	1	100%	2,48
Cotrimoxazol	2	0	0%	$9,66 \pm 6,27$
Espiramicina	1	1	100%	5,76

d) Reprodutibilidade dos testes epicutâneos em relação com o intervalo de tempo

O intervalo de tempo decorrido entre os testes iniciais e a sua repetição variou entre 1,76 e 14,7 anos (média de 6,78 anos). Para um intervalo de tempo inferior a 5 anos, 6 dos 8 doentes (75%) mantiveram a positividade dos testes epicutâneos. Para um intervalo de tempo superior ou igual a 5 anos e inferior a 10 anos, 5 dos 7 doentes (71,43%) mantiveram a positividade dos testes. Para um intervalo de tempo superior ou igual a 10 anos, 4 dos 5 doentes (80%) mantiveram a positividade dos testes (Tabela 8). As médias do intervalo de tempo entre os testes não diferiram entre os doentes com resultados positivos e os doentes com resultados negativos, relativos ao 2º teste epicutâneo ($p > 0,05$).

Tabela 8. Intervalos de tempo entre os testes e resultados no 2º teste.

Intervalo entre testes	Total de doentes testados	Nº de doentes com testes positivos no 2º teste	% de doentes que mantiveram a positividade
<5	8 (40%)	6	75%
5 a <10	7 (35%)	5	71,43%
≥10	5 (25%)	4	80%

e) Reprodutibilidade dos testes em função da intensidade da reação no 1º teste.

Do total de 35 testes epicutâneos positivos nos 20 doentes incluídos neste estudo, 28 em 35 (80.0%) foram reprodutíveis: 5 em 6 (83.33%) dos testes com intensidade forte (3+), 15 em 17 (88.24%) dos testes com intensidade moderada (2+) e 8 em 12 (66,67%) dos testes com intensidade fraca (1+), não sendo significativa a diferença de positividade consoante a intensidade da reação inicial ($p > 0,05$).

Em 19 dos 35 (54,29%) testes positivos, a intensidade manteve-se: 4 em 12 (33,33%) dos testes 1+, 14 em 17 (82,35%) dos testes 2+ e 1 em 6 (16,67%) dos testes 3+.

Em 5 dos 35 (14,29%) testes positivos, houve aumento da intensidade: 4 em 12 (33,33%) dos testes 1+ e 1 em 17 (5,88%) dos testes 2+.

Em 11 dos 35 (31,43%) testes positivos, registámos uma diminuição da intensidade: 4 em 12 (33,33%) dos testes 1+, 2 em 17 (11,76%) dos testes 2+ e 5 em 6 (83,33%) dos testes 3+.
(Tabela 9)

Tabela 9. Intensidades no 1º e no 2º teste.

Intensidade no 1º teste	Intensidade no 2º teste	Nº de testes
+	-	4 (33,33%)
	+	4 (33,33%)
	++	4 (33,33%)
	+++	0
Positividade:		8+/12 (66,67%)
++	-	2 (11,76%)
	+	0
	++	14 (82,35%)
	+++	1 (5,88%)
Positividade:		15+/17 (88,24%)
+++	-	1 (16,67%)
	+	2 (33,33%)
	++	2 (33,33%)
	+++	1 (16,67%)
Positividade:		5+/6 (83,33%)

Na totalidade dos testes, a intensidade dos testes iniciais, em relação à intensidade dos testes epicutâneos repetidos, foi superior em 11 testes, inferior em 5 testes e igual em 19 testes. Efetuou-se o teste de Wilcoxon para a avaliar a magnitude das diferenças entre os testes realizados no mesmo doente em diferentes períodos de tempo e verificaram-se diferenças estatisticamente significativas entre intensidades dos testes iniciais e as intensidades dos testes repetidos ($p < 0.05$).

Efetuuou-se o teste de Kruskal-Wallis para a avaliar a existência de diferenças significativas na variação das intensidades ao longo do tempo, entre os testes com intensidades iniciais fraca (+), moderada (++) ou forte (+++) e verificou-se que nestes 3 grupos a intensidade variou de

maneira diferente ao longo do tempo ($p < 0,05$). Comparando os 3 grupos dois a dois, através do teste de Mann-Whitney, verificou-se no grupo com intensidade forte nos testes iniciais uma menor variação da intensidade ao longo do tempo comparativamente aos grupos com intensidade moderada e fraca, respectivamente ($p < 0,05$).

10) Discussão e conclusão:

Neste estudo verificámos, como previamente referido, que os testes epicutâneos podem ser úteis no estudo de RAMc não-imediatas e contribuem para comprovar o agente etiológico de exantemas medicamentosos imputáveis a ABs. Mostrámos ainda que, numa avaliação sistemática de 20 doentes, estes testes são reprodutíveis numa elevada percentagem de casos, mesmo ao fim de longos intervalos de tempo. A reprodutibilidade dos testes verificada em 75% dos doentes e 80% das reações positivas vem reforçar a especificidade dos testes no estudo das RAMcs.

Os testes epicutâneos com ABs utilizando alergénios estandardizados são considerados altamente específicos, como documentam os testes que realizámos com uma extensa série de fármacos em que, mesmo quando repetidos, obtivemos reações positivas apenas aos ABs imputáveis ou àqueles em que estão descritas reações cruzadas [13]. Noutros estudos de RAMc de início não-imediato têm sido descritas também reações cruzadas entre os betalactâmicos a nível do teste epicutâneo explicadas, muito provavelmente, pela partilha de cadeiras laterais na estrutura química. À semelhança dos resultados nos testes epicutâneos, a reatividade cruzada mostra-se clinicamente relevante e tem impacto significativo em escolhas terapêuticas posteriores [14,15].

A percentagem de testes positivos a ABs observada foi pouco superior a 20%, mas o grau de imputabilidade dos ABs nestes reações foi muito variável, havendo frequentemente outros fármacos imputáveis na RAMc [12]. O sexo, a idade e o tipo de infecção prévia não mostraram ser um factor que influenciasse o resultado dos testes epicutâneos, tal como já foi referido noutros estudos [16], nem influenciaram o grau de reprodutibilidade dos testes.

A sensibilidade dos testes epicutâneos nos doentes com RAMc depende sobretudo da seleção dos doentes, do padrão clínico da RAMc e do fármaco [5], sendo maior nos exantemas

maculo-papulares, DRESS e PEAG [5], a quase totalidade dos doentes incluídos neste estudo. Relativamente aos fármacos, é espectável que a percentagem de positividade nos testes epicutâneos nos doentes com RAMc seja 20 a 30% nos betalactâmicos [5] e 30% na clindamicina [10], os principais fármacos que foram objeto deste estudo e que mostraram valores semelhantes. Os testes são muitas vezes negativos ao cotrimoxazol [1], também repetidamente negativos em dois casos, apesar de nos testes iniciais termos observados reações fracas ao trimetoprimo ao pó dos comprimidos de Bactrim®. Não existem dados na literatura em relação aos resultados dos testes com espiramicina e vancomicina, mas neste estudo revelaram-se positivos e também reprodutíveis, ainda que apenas num doente cada.

Esta elevada taxa de reprodutibilidade dos testes verificou-se nos doentes com EMP (14 em 18) e PEAG (1 em 1), contrariamente ao único doente com DRESS, que não manteve a positividade nos testes à amoxicilina. Contudo, este doente manteve a reatividade à carbamazepina, cuja reatividade nos testes epicutâneos é habitualmente superior a 70% [17,18,19], e ao aciclovir, associado a uma baixa reatividade [20], mas que neste caso eram os principais fármacos imputáveis. Mesmo incluindo este caso, neste estudo, verificámos uma reprodutibilidade superior dos testes epicutâneos aos betalactâmicos e à clindamicina, 87,50% e 71,43%, respectivamente, mesmo após longos intervalos de tempo entre os testes.

A tendência para a redução da intensidade dos testes ($p < 0,05$) ao longo do tempo verificada neste estudo, poderá estar relacionada com o estado imunológico do indivíduo, bem como outros factores que teoricamente podem enfraquecer a resposta do teste epicutâneo (medicamentos, luz UV, bronzamento) [5], apesar de nenhum doente estar sobre terapêutica imunossupressora.

Contudo, e tendo em conta o conceito de reprodutibilidade, a positividade dos testes verificada ao longo do tempo, ainda não referenciada na literatura até a data no caso de

RAMc, tem um importante impacto clínico ao reforçar a consistência destes testes; ao evitar testes não isentos de risco como os de reintrodução do fármaco; e ao possibilitar a quebra de eventuais limites temporais na identificação de fármaco imputáveis à RAMc, nomeadamente o intervalo entre as 6 semanas e os 6 meses após resolução da RAMc [5,6].

A sensibilidade dos testes epicutâneos nos doentes com RAMc, é menor do que nos doentes com dermatite de contacto alérgica (30-70%) [5], variando entre 11 a 44% [4] ou pode chegar mesmo a 50% [21], o que se confirmou, neste estudo, tendo em conta a amostra inicial dos 260 doentes, em que 21,5% dos doentes obteve testes positivos nos testes iniciais.

Ainda que neste caso sejam incluídos apenas 20 indivíduos a reprodutibilidade do teste epicutâneo revelou-se semelhantes ou até superior a alguns estudos que avaliaram a reprodutibilidade do teste epicutâneo no estudo da dermatite de contacto alérgica [22,23].

Comparando os testes epicutâneos com outros testes disponíveis para a identificação ou confirmação de RAMc retardadas a ABs, a sensibilidade é inferior nos prick tests, com aproximadamente 24% de testes positivos, e superior nos testes intradérmicos, com 64% [21].

Comparando com os testes usados na detecção de reações imediatas mediadas por IgE, verifica-se que o nível de IgE específica pode diminuir com o tempo, nomeadamente nos casos de hipersensibilidade às penicilinas, tendo sido documentado níveis indetectáveis de IgE em 70% de adultos com alergia documentada a penicilina após 10 anos [24]. Neste estudo, os beta-lactâmicos apresentaram uma reprodutibilidade de 87,50% nos testes epicutâneos, o que reforça a potencialidade dos testes epicutâneos no diagnóstico de RAMc mesmo após longos períodos de tempo.

A realização dos testes epicutâneos, mesmo na sua repetição, revelou ser segura sem qualquer reativação de RAMc, vantagem marcada sobre os testes de provocação oral considerados o teste de referência no estudo das RAMc de menor gravidade, mas contra-indicados nas reações graves como o DRESS ou a necrólise epidérmica tóxica.

Conclusão:

Neste estudo, a elevada reprodutibilidade dos testes epicutâneos positivos ao longo do tempo reforça a importância destes testes epicutâneos no diagnóstico de RAMc retardadas a ABs e mesmo no seu uso como diagnóstico retrospectivo.

11) Agradecimentos:

Agradeço, em primeiro lugar, à minha orientadora a disponibilidade, paciência e empenho que teve ao longo de todo o processo de elaboração da tese;

ao Dr. André Pinho, na elaboração dos testes epicutâneos nos doentes, bem como na elaboração da base de dados;

aos responsáveis da biblioteca dos CHUC pela ajuda de uma parte da pesquisa bibliográfica;

e aos meus pais, irmã e Pedro por todo o apoio que me deram nesta etapa de formação.

12) Bibliografia

- [1] Gonçalo M, Bruynzeel DP. Patch Testing in Adverse Drug Reactions. In: Johansen JD, Frosch PJ, Lepoittevin JP, editores. Contact Dermatitis. 5th ed. Berlin: Springer; 2011. p. 475-491.
- [2] Lebrun-Vignes B, Valeyrie-Allanore L. Cutaneous adverse drug reactions. *Le Revue de médecine interne*. 2015; 36(4): 256-270.
- [3] Repositório Digital da Universidade de Coimbra [homepage na Internet]. Reações Adversas Medicamentosas Cutâneas [document on the Internet]. Coimbra; 2008 [consultado 2015 Dezembro 27]. Disponível em: <https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/13266/1/Reac%C3%A7%C3%B5es%20Adversas%20Medicamentosas%20Cut%C3%A2neas.pdf>
- [4] Barbaud A. Skin Testing and Patch Testing in Non-IgE-Mediated Drug Allergy. *Current allergy and asthma reports*. 2014; 14(6):442.
- [5] Johansen J, Aalto-Korte K, Agner T, Andersen K, Bircher A, Bruze, M, et al. European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing – recommendations on best practice. *Contact Dermatitis*. 2015; 73(4): 195–221.
- [6] Brockow K, Garvey LH, Aberer W, Atanaskovic-Markovic M, Barbaud A, Bilo MB, et al. Skin test concentrations for systemically administered drugs -an ENDA/EAACI Drug Allergy Interest Group position paper. *Allergy*. 2013; 68(6): 702–12.
- [7] Hjortlund J, Mortz CG, Skov PS, Bindslev-Jensen C. Diagnosis of penicillin allergy revisited: the value of case history, skin testing, specific IgE and prolonged challenge. *Allergy*. 2013; 68(8): 1057–64.

- [8] Hjortlund J, Mortz CG, Skov PS, Eller E, Poulsen JM, Borch JE, et al. One-week oral challenge with penicillin in diagnosis of penicillin allergy. *Acta Dermato Venereologica*. 2012; 92(3): 307–12.
- [9] Romano A, Blanca M, Torres MJ, Bircher A, Aberer W, Brockow K, et al. Diagnosis of nonimmediate reactions to beta-lactam antibiotics. *Allergy*. 2004; 59(11): 1153–60.
- [10] Pereira N, Canelas MM, Santiago F, Brites MM, Gonçalo M. Value of patch tests in clindamycin-related drug eruptions. *Contact Dermatitis*. 2011. 65(4): 202–207.
- [11] Bégau B, Evreux J, Jouglard J, Lagier G. Imputation of the unexpected or toxic effects of drugs. Actualization of the method used in France. *Thérapie*. 1985; 40: 111–8.
- [12] Pinho A, Coutinho I, Gameiro A, Gouveia M, Gonçalo M. Patch-testing – a valuable tool for investigating cutaneous adverse drug reactions to antibiotics. *Allergy*. 2016 (submetido).
- [13] Romano A, Viola M, Gaeta F, Rumi G, Maggioletti M. Patch testing in non-immediate drug eruptions. *Allergy, Asthma, and Clinical Immunology*. 2008; 4(2):66-74.
- [14] University of Wisconsin-Madison [homepage na Internet]. Guidelines For the Use of Beta-Lactam Antibiotics in Patients with Reported Allergies to Penicillin [document on the Internet]. Madison; 2011 [consultado 2016 Fevereiro 10]. Disponível em : http://www.uwhealth.org/files/uwhealth/docs/antimicrobial/Guidelines_for_the_use_of_Beta-lactam_antibiotics_in_patients_with_reported_allergies_to_penicillin.pdf

- [15] Vancouver Acute Pharmaceutical Sciences [homepage na Internet]. Parenteral Antibiotic Allergy Cross-Sensitivity CHART 2014 [document on the Internet]. Canada; 2014 [consultado 2016 Fevereiro 10]. Disponível em: <http://www.vhpharmsci.com/vhformulary/Tools/ANTIBIOTIC%20CROSS-SENSITIVITY%20CHART.pdf>
- [16] Ponvert C, Perrin Y, Bados-Albiero A, Le Bourgeois M, Karila C, Delacourt C, et al. Allergy to betalactam antibiotics in children: results of a 20-year study based on clinical history, skin and challenge tests. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2011; 22(4): 411–8.
- [17] Barbaud A, Collet E, Milpied B, Assier H, Staumont D, Avenel-Audran M, et al. A multicentre study to determine the value and safety of drug patch tests for the three main classes of severe cutaneous adverse drug reactions. *The British Journal of Dermatology*. 2013; 168(3):555-62.
- [18] Lin Y, Chang Y, Hui R, Yang C, Ho H, Hung S, et al. A patch testing and cross-sensitivity study of carbamazepine-induced severe cutaneous adverse drug reactions. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2013; 27(3):356-64.
- [19] Santiago F, Gonçalo M, Vieira R, Coelho S, Figueiredo A. Epicutaneous patch testing in drug hypersensitivity syndrome (DRESS). *Contact Dermatitis*. 2010; 62:47–53.
- [20] Serra D, Ramos L, Brinca A, Gonçalo M. Acute generalized exanthematous pustulosis associated with acyclovir, confirmed by patch testing. *Contact Dermatitis* 2012; 23(2):99-100.
- [21] Barbaud A. Skin Testing in Delayed Reactions to Drugs. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. 2009; 29: 517–535.

- [22] Mortz CG, Kjaer HF, Eller E, Osterballe M, Norberg LA, Høst A, Bindslev-Jensen C, Andersen KE. Positive nickel patch tests in infants are of low clinical relevance and rarely reproducible. *Pediatric Allergy and Immunology* 2013; 24(1):84-7.
- [23] Jensen CD, Andersen KE. Course of contact allergy in consecutive eczema patients patch tested with TRUE Test panels 1 and 2 at least twice over a 12-year period. *Contact Dermatitis* 2005; 52(5):242-6.
- [24] Zvonar R. Cross-Allergy Among the β -lactam Antibiotic Agents: A Review of the Risks. *The Canadian Journal of Hospital Pharmacy*. 2005; 58:90-6.