

ROSALY VIEIRA DOS SANTOS

**ANÁLISE E VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS DE IMAGENS
FOTOGRAFICAS DIGITAIS E TRIDIMENSIONAIS PARA LEITURA DO
TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente, com área de concentração em Alergia, Imunologia e Pneumologia Pediátrica, Departamento de Pediatria, Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

**Orientador: Prof. Dr. José Hermênio Cavalcante Lima Filho
Co-orientador: Prof. Dr. Marcus Maurer**

CURITIBA

2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Ao meu pai, *in memorium*, e à minha mãe. Vocês
sempre serão as pessoas mais valiosas da minha
vida e o porto seguro para os momentos difíceis,
onde quer que estejamos.

Aos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Hermênio Cavalcante Lima Filho, orientador desta tese, pelo ensinamento e valiosas sugestões. Sua determinação em sempre buscar o conhecimento e seu incentivo contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos professores, médicos, enfermeiros, residentes, especializandos, mestrandos, doutorandos e funcionários do Departamento de Pediatria da UFPR, pela contribuição na formação profissional.

Ao Jorge e à Lucinete, secretários do SAM 2, pelo auxílio na busca dos voluntários para a pesquisa.

Em especial, a todos os voluntários que participaram deste estudo.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e DAAD (Deutscher Akademischer Austauschdienst), pela bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Marcus Maurer, que me recebeu no Departamento de Alergia do Hospital Charité, dando-me oportunidade para o meu crescimento profissional e pessoal.

A toda equipe do Departamento de Alergia e Dermatologia do Hospital Charité, pela dedicação, compreensão, paciência, oportunidade, ensinamento e amizade. Em especial, ao Prof. Dr. Zuberbier, que me recebeu e abriu as portas do Departamento de Dermatologia; às enfermeiras Nikki e Hesna, pela organização e solicitação dos materiais necessários para os meus estudos; ao Dr. Markus Magerl e Dr. Frank Siebenharr, pela ajuda, especialmente com a língua alemã, durante as reuniões, nos ambulatórios e nos setores burocráticos do hospital; ao Prof. Dr. Martus Peter, pelo auxílio nas análises estatísticas; à Susanne Lescau, pelo incentivo; ao Dr. Nikolas, pelo interesse na cultura brasileira, que fez com que minha adaptação no hospital fosse mais descontraída; à Agnieszka, amiga dentro e fora do hospital; à nutricionista Stephani, pelo auxílio nos testes de provocação – dados que não entraram na tese, mas que me animaram a continuar estudando fora do Brasil; à secretária Karen Ballentin, pela amizade.

Aos amigos doutorandos na Alemanha: Vanete, Ticiane, Aristeu, Leandro, Victor, Danilo, Mateus e Simone, Valter, Anderson, Andrey, Juliano Fellini, Juliano Cabral, Francis, Wendel, Hans, Maria, Karen e Alireza. O companheirismo que

tivemos durante a permanência na Alemanha foi fundamental para a realização desta tese e me dá a certeza de que nossa amizade será eterna. À Vanete, agradeço também pelas sugestões na correção gramatical desta tese.

A todos os meus amigos, em especial às amigas Elke Mascarenhas, Oda Fortes e Paula Kussakawa, por eu poder ter a certeza de que a amizade não tem preço e de que, mesmo estando longe, estamos perto.

À minha família, que sempre esteve presente, acompanhando o período de realização deste trabalho e em todos os outros momentos importantes da minha vida.

A Deus, que guia os meus passos.

Ao Cláudio, por estar ao meu lado e me apoiar nesta fase.

A todos os outros que participaram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

*Algo só é impossível até que alguém duvide e
acabe provando o contrário*

Albert Einstein

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVOS	3
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	4
2.2 TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA	6
2.2.1 Preparo Para Realizar um Teste Cutâneo.....	6
2.2.2 Reações Adversas dos Testes Cutâneos.....	6
2.2.3 Técnica do Teste Cutâneo Por Puntura	6
2.2.4 Mecanismo do Teste Cutâneo por Puntura.....	8
2.2.5 Alguns Erros Comuns na Realização do Teste Cutâneo por Puntura.....	9
2.2.6 Variáveis que Afetam o Teste Cutâneo	9
2.2.6.1 Área do corpo.....	9
2.2.6.2 Idade	10
2.2.6.3 Gênero	10
2.2.6.4 Etnia	10
2.2.6.5 Ritmo circadiano.....	10
2.2.6.6 Variações sazonais	10
2.2.6.7 Condições patológicas	11
2.2.6.8 Drogas.....	11
2.2.6.9 Imunoterapia	12
2.2.7 Quando o Teste Cutâneo não Puder Ser Realizado	12
2.2.8 Leitura do Teste Cutâneo Por Puntura	12
2.2.8.1 Fotografia digital.....	17
2.2.8.2 Termometria cutânea de alta resolução.....	17

2.2.8.3	Scanner óptico 3D	18
2.2.9	Escolha de Anti-histamínicos Não-sedantes X Sedantes no Tratamento de Doenças Alérgicas.....	20
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	AÇÃO DOS ANTI-HISTAMÍNICOS SEDANTE E NÃO-SEDANTES NOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA, ANALISADA ATRAVÉS DO MÉTODO DA FOTOGRAFIA DIGITAL	22
3.1.1	Desenho	22
3.1.2	Sujeitos	22
3.1.3	Teste Clínico.....	23
3.1.4	Testes Cutâneos por Puntura.....	23
3.1.5	Avaliação do Teste Cutâneo por Puntura.....	23
3.1.5.1	Determinação da área da pápula pela fotografia digital.....	24
3.1.5.2	Determinação da área do eritema pela fotografia digital.....	24
3.1.6	Análise Estatística	25
3.2	ANÁLISE POR IMAGEM TRIDIMENSIONAL DAS REAÇÕES INDUZIDAS PELOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA	26
3.2.1	Desenho	26
3.2.2	Sujeitos	26
3.2.3	Captura da Imagem Tridimensional.....	26
3.2.4	Teste de Reprodutibilidade.....	27
3.2.4.1	<i>In vitro</i>	28
3.2.4.2	<i>In vivo</i>	28
3.2.5	Teste de Acurácia.....	28
3.2.6	Análise Estatística	29
4	RESULTADOS	30
4.1	AÇÃO DOS ANTI-HISTAMÍNICOS SEDANTE E NÃO-SEDANTES NOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA, ANALISADA ATRAVÉS DO MÉTODO DA FOTOGRAFIA DIGITAL	30
4.2	ANÁLISE POR IMAGEM TRIDIMENSIONAL DAS REAÇÕES INDUZIDAS PELOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA	32

4.2.1	Analisando a Reprodutibilidade do Método de Imagem Tridimensional.....	33
4.2.1.1	Análises das imagens 3D da figura (<i>in vitro</i>).....	33
4.2.1.2	Análises das imagens 3D da reação cutânea (<i>in vivo</i>)	33
4.2.2	Avaliando a Reprodutibilidade do Método da Medida do Diâmetro (<i>In Vivo</i>)	34
4.2.3	Avaliação da Acurácia	35
4.2.4	Calibração.....	35
4.2.5	Curva ROC	35
5	DISCUSSÃO	37
5.1	AÇÃO DOS ANTI-HISTAMÍNICOS SEDANTE E NÃO-SEDANTES NOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA, ANALISADA ATRAVÉS DO MÉTODO DA FOTOGRAFIA DIGITAL	37
5.2	ANÁLISE POR IMAGEM TRIDIMENSIONAL DAS REAÇÕES INDUZIDAS PELOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA	38
6	CONCLUSÃO	41
6.1	COMENTÁRIOS FINAIS	41
	REFERÊNCIAS	43
	ANEXO 1 - DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS	49
	ANEXO 2 - ARTIGOS PUBLICADOS RELACIONADOS E NÃO RELACIONADOS À TESE	53

LISTA DE TABELAS

1	TESTES NEGATIVOS AO ALÉRGENO APÓS ANTI-HISTAMÍNICOS NÚMERO DOS SUJEITOS QUE APRESENTARAM TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA NEGATIVO AO <i>D. PTERONYSSINUS</i> APÓS ADMINISTRAÇÃO ORAL DOS ANTI-HISTAMÍNICOS	32
2	VALORES DAS MEDIDAS <i>IN VITRO</i> MÉDIA DOS VALORES DA MÉDIA E DESVIO PADRÃO PARA VOLUME, ÁREA E ALTURA, DAS MEDIDAS REPETIDAS <i>IN VITRO</i>	33
3	REPRODUTIBILIDADE, <i>IN VIVO</i> , DA IMAGEM 3D EXPRESSA PELO COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV), DOS PARÂMETROS 3D, <i>IN VIVO</i> , NO 5.º, 10.º, 15.º E 20.º MINUTO PÓS-PUNTURA	33
4	REPRODUTIBILIDADE, <i>IN VIVO</i> , DO MÉTODO DO DIÂMETRO EXPRESSA PELO COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV), DO MÉTODO DO DIÂMETRO, <i>IN VIVO</i> , NO 5.º, 10.º, 15.º E 20.º MINUTO PÓS-PUNTURA.....	34
5	REPRODUTIBILIDADE EXPRESSA PELO r^2 <i>ADJUST</i> CALCULADO POR REGRESSÃO SIMPLES, PARA CADA TEMPO DE ANÁLISE, DOS MÉTODOS 3D E DIÂMETRO	34
6	ACURÁCIA EXPRESSA PELO r^2 <i>ADJUST</i> CALCULADO POR REGRESSÃO POLINOMIAL NO TEMPO TOTAL DE ANÁLISE	35

LISTA DE FIGURAS

1	APLICAÇÃO DOS EXTRATOS NA SUPERFÍCIE ANTERIOR DO ANTEBRAÇO PARA REALIZAÇÃO DO TESTE POR PUNTURA.....	7
2	MECANISMO DE LIBERAÇÃO DE HISTAMINA PELO MASTÓCITO. LIGAÇÃO DE ANTÍGENOS À IgE.....	8
3	PÁPULA E ERITEMA INDUZIDOS PELA HISTAMINA, NO 10º MIN APÓS O TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA.....	9
4	LEITURA REPRESENTATIVA DA PÁPULA INDUZIDA PELO TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA, PELA RÉGUA.....	13
5	ÁREA PELO SCANNER: CONTORNO MANUAL DA PÁPULA E DO ERITEMA INDUZIDOS PELA HISTAMINA, NO TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA, DESENHADOS EM UMA FITA ADESIVA. CÍRCULO COMO REFERÊNCIA DE TAMANHO.....	14
6	FOTOGRAFIA DIGITAL DA REAÇÃO CUTÂNEA INDUZIDA POR HISTAMINA E ALERGENO, APÓS TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA, NO ANTEBRAÇO. ADESIVOS AO REDOR COMO REFERÊNCIAS DE TAMANHO E CORES.....	15
7	TERMOMETRIA CUTÂNEA: AUMENTO DA TEMPERATURA NO LOCAL DO TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA. REAÇÃO INDUZIDA POR ALERGENO, NA SUPERFÍCIE ANTERIOR DO ANTEBRAÇO.....	16
8	GMF PRIMOS PORTÁTIL. IMAGENS ARMAZENADAS NO COMPUTADOR APLICANDO O SOFTWARE <i>PRIMOS</i>	19
9	ALINHAMENTO DE DUAS IMAGENS DA MESMA LESÃO DE PELE, EM TEMPOS DIFERENTES.....	20
10	FILTROS PARA CONTORNO DA PÁPULA.....	24
11	FOTOGRAFIA DIGITAL AO 10.º MINUTO PÓS-PUNTURA. ÁREA SELECIONADA DO LOCAL DA PUNTURA UTILIZANDO A HISTAMINA.....	25
12	IMAGEM TRIDIMENSIONAL (3D) DA PÁPULA INDUZIDA NO DÉCIMO MINUTO APÓS PUNTURA.....	26
13	IMAGEM NO SOFTWARE GMF: PÁPULA PELA HISTAMINA. IMAGEM ARMAZENADA PELO SOFTWARE <i>GMF PRIMOS 5.075 D</i> ®. PÁPULA INDUZIDA PELO ALERGENO, NO 10.º MIN PÓS-PUNTURA.....	27
14	IMAGEM NO SOFTWARE <i>GMF</i> : PÁPULA PELO ALÉRGENO IMAGEM ARMAZENADA PELO SOFTWARE <i>GMF PRIMOS 5.075 D</i> ®. PÁPULA INDUZIDA PELO ALÉRGENO, NO 10.º MIN PÓS-PUNTURA.....	27
15	SUPRESSÃO DAS REAÇÕES CUTÂNEAS, INDUZIDAS POR HISTAMINA NOS VOLUNTÁRIOS TRATADOS, PELOS ANTI-HISTAMÍNICOS.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	- Tridimensional
AHns	- Anti-histamínicos não-sedantes
Ahs	- Anti-histamínico sedante
ANOVA	- Análise da Variância
CCD	- <i>Charge Coupled Device</i>
CLIA	- <i>Clinical Laboratory Improvement Amendments</i>
CV	- Coeficiente de variação
DM	- Diâmetro médio pela régua
FC	- Fragmento cristalizável
FD	- Fotografia digital
FDA	- <i>Food and Drug Administration</i>
IgE	- Imunoglobulina E
IL-4	- Interleucina 4
JPEG	- <i>Joint Pictures Expert Group</i>
RA	- Rinite alérgica
RAST	- <i>Radioallergosorbent test</i>
SD	- Desvio padrão
SPSS	- <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TCP	- Teste cutâneo por puntura
UC	- Urticária crônica

RESUMO

Introdução: Métodos objetivos de avaliação da reação cutânea a histamina ou extratos alergênicos são importantes para reduzir a subjetividade e permitir a padronização de avaliações mundiais. Tais métodos podem ser usados para medir, de maneira precisa e comparativa, a eficiência de anti-histamínicos. Além disso, parâmetros ainda não estudados podem ser incorporados às medidas tradicionais de avaliação do teste cutâneo por puntura.

Objetivo: Comparar a ação de anti-histamínicos, sedante (AHs) e não-sedantes (AHns), nas reações induzidas pelo teste cutâneo por puntura, utilizando a técnica da fotografia digital, e avaliar a reprodutibilidade e acurácia de um novo método de leitura deste teste por meio de imagens tridimensionais.

Métodos: Os testes cutâneos por puntura foram feitos com extratos de *D. pteronyssinus*, histamina e solução salina. Para análise dos efeitos dos anti-histamínicos nos testes pela fotografia digital, realizou-se estudo caso-controle, randomizado. Os testes foram realizados em 75 voluntários pré e pós-administração de dose única, via oral, de 25mg de hidroxizina, 5 mg de desloratadina, 20mg de epinastina, 120mg de fexofenadina ou placebo. Os testes foram avaliados 10 minutos após a puntura por fotografia digital é método do diâmetro médio. Para análise tridimensional (3D) do teste, uma figura de área conhecida foi medida 10 vezes por dois observadores. Os testes por puntura foram realizados em 10 voluntários e as imagens 3D do local dos testes foram obtidas nos tempos 0, 5, 10, 15 e 20 min, após a puntura, por dois observadores, usando o sistema PRIMOS 5.075 D. Em todos os tempos de leitura dos testes, realizou-se também o método do diâmetro médio. **Resultados:** AHns preveniram o desenvolvimento de reações positivas à histamina somente em 10-20% de todos os sujeitos testados. Em contrapartida, mais de 50% dos que utilizaram hidroxizina apresentaram o teste negativo. Resultados estes semelhantes ao obtidos pelo método do diâmetro médio. Pequena variabilidade inter e intra-observador foi encontrada na avaliação da pápula pela imagem 3D. Logo, o sistema se mostrou reprodutível. Os resultados também demonstraram ser um método preciso ($r^2=0,93$ para avaliação da área da pápula). **Conclusões:** Os resultados aqui descritos mostram o potencial de evolução de técnicas úteis na determinação da reação cutânea mediada pela histamina. Tais resultados podem ser úteis para avaliação de estudos de efetividade de drogas ou da fisiopatologia dessa reação.

Palavras-chave: Anti-histamínicos, teste cutâneo por puntura, análise de imagens, imagem tridimensional.

ABSTRACT

Background: Objective methods of evaluation of skin prick tests performed using histamine or allergens are important to reduce the subjectivity and to allow the standardization of world-wide evaluations. Such methods can be used to measure the efficacy of antihistamines with high reproducibility and precision. In addition, new parameters can be incorporated in the traditional measures of evaluation of skin prick test. **Objectives:** To compare the effect of sedating (AHs) and non-sedating (AHns) antihistamines using digital photography, and to assess the reproducibility and accuracy of a new three-dimensional (3D) imaging system for skin reaction induced by prick test. **Methods:** Skin prick tests with histamine and *D. pteronyssinus* extract were performed. This study was double-blind, randomized to assess the effect of antihistamines using digital photography. Seventy-five volunteers were underwent to skin prick test, before and 4 h after treatment with hydroxyzine 25mg, desloratadine 5mg, epinastine 20 mg, fexofenadine 120mg, or placebo. The reaction development was assessed by digital photography and mean diameter. For 3D analysis of the reaction, a figure with known area was measured ten times by two observers. The skin prick test was performed in ten volunteers and the 3D images obtained at 0, 5, 10, 15 and 20 min after prick by two observers using PRIMOS 5.075 D system. The two observers also performed the mean diameter in each point of analysis. **Results:** AHns prevented the development of positive reactions to histamine in only 10-20% of all subjects tested. In contrary, more than 50% of all hydroxyzine-treated subjects showed negative test reactions. Similar results were detected by mean diameter. A low inter- and intra-observer variability was observed for the 3D imaging evaluation of figure and of skin prick test reactions. With the 3D imaging analysis system, reproducibility was achieved. Moreover, results were accurate ($r^2=0.93$ for wheal size evaluation). **Conclusions:** The results show the potential of evolution of useful techniques in the determination of the skin reactions mediated by histamine. The methods can be useful for evaluation of studies of effectiveness of drugs or pathophysiology of these reactions.

Key-words: Antihistamines, skin prick test, image analysis, three-dimensional imaging.

1 INTRODUÇÃO

Os sinais cardinais inflamatórios são dor, rubor, edema e calor. Na metade do século XIX Virchow acrescentou “perda da função” aos sinais inflamatórios (PLYTYCZ e SELJELID, 2003). A reação cutânea induzida pelo teste cutâneo por punção (TCP) mostra características de inflamação. Por isso e por apresentar alta sensibilidade, baixo custo, simplicidade na realização e resultado imediato, é o teste padrão para diagnósticos de doenças alérgicas tipo I (TRIPATHI e PATTERSON, 2001).

No TCP é utilizado histamina e extrato alérgico para indução da reação cutânea, através de punção com agulha ou lanceta. A histamina é o controle positivo do teste e usado para simular uma reação alérgica, atua diretamente nos componentes da pele causando vasodilatação, aumento do fluxo sanguíneo e edema (pápula). No teste cutâneo com extrato alérgico, em sujeitos sensibilizados, a histamina produzida e estocada nos mastócitos, e outros mediadores pré-formados, são liberados (SERAFIN e AUSREN, 1987). As fibras-c também são estimuladas, o que induz a um reflexo axonal (eritema), com liberação de neuropeptídeos, provavelmente os componentes principais na pápula e no eritema induzidos por alérgico no TCP (HÄGERMANRK, HÖKFELT e PERNOW, 1978).

Os resultados do TCP são baseados no tamanho da pápula e têm um grande impacto nas decisões clínicas (BERNSTEIN e STORMS, 1995). Resultados positivos podem indicar a causa provável de uma hipersensibilidade a insetos, alimentos ou drogas com risco de vida, ou de doenças alérgicas causadas por aeroalérgicos. Além disso, a indicação e a eficácia terapêutica da imunoterapia são baseadas no TCP (TRIPATHI e PATTERSON, 2001).

Os testes clínicos, como o TCP, são aceitos quando o teste apresenta uma metodologia bem definida e validada, e seus resultados sob os regulamentos derivados do *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA) de 1988, como acurácia, precisão e documentação dos resultados. O respeito às normas na realização e na

interpretação do TCP é necessária para a própria padronização do extrato alérgeno pelo *Food and Drug Administration* (FDA) (CLIA).

Não existe um sistema mundialmente aceito de documentação e interpretação dos testes cutâneos por puntura e por isso vários métodos são utilizados. O método considerado preciso, mais realizado em estudos clínicos para quantificar o tamanho da pápula e do eritema induzidos pelo TCP, baseia-se em imagens obtidas dos contornos da pápula, desenhados com caneta em fita adesiva transparente, transferidos para um sistema digital por *scanner* (PIJNENBORG, NILSSON e DREBORG, 1996). Embora seja um método altamente reprodutível e confiável, o contorno da pápula é feito a olho nu e precisa de análise manual da imagem. Quando o método de leitura é subjetivo, a interpretação pode não ser a mesma, dependendo das diferentes pessoas e locais.

Foi desenvolvido um método semi-automatizado de interpretação do TCP usando fotografias digitais, que permite análise objetiva da pápula e documentação icnográfica ou científica (VIEIRA DOS SANTOS, TITUS e CAVALCANTE LIMA, 2007). Apesar de ser objetivo, não foi testado em estudo clínico e precisa ser automatizado.

Estudos sobre o TCP geralmente não contemplam todas as variáveis nas análises da reação induzida. Embora o tamanho da pápula seja o principal indicador da intensidade da reação, variações individuais são observadas, entre as quais a presença de eritema sem pápula e vice-versa, cujo significado é pouco compreendido. O método da fotografia digital, além de avaliar o tamanho da pápula, quantifica o tamanho e a intensidade do eritema, mesmo em indivíduos melanodérmicos, possibilitando o melhor entendimento da relação pápula-eritema induzidos por alérgenos e, por conseguinte, a fisiopatologia (VIEIRA DOS SANTOS e CAVALCANTE LIMA, 2007).

Dos sinais cardinais da inflamação no TCP, a temperatura é o parâmetro menos estudado, talvez pela dificuldade técnica para realização de estudos precisos e acesso à aparelhagem apropriada. Finalmente, a intensidade do prurido (dor) é dependente da subjetividade do paciente.

Foi evidenciada a cinética de três sinais inflamatórios (edema, rubor e calor) da reação induzida pelo TCP, relacionada entre si *in vivo*, pela análise de fotografia

digital e termometria cutânea (VIEIRA DOS SANTOS e CAVALCANTE LIMA, 2007). Através dessa metodologia, foi possível a mensuração da reação tríplice de Lewis pela intensidade e cinética de desenvolvimento. Além disso, adicionou variáveis que podem ser medidas em conjunto sob outras condições experimentais.

O mais novo método na medicina para avaliar a superfície cutânea é através da imagem tridimensional (3D). Já muito utilizado na ortodontia e nos planejamentos cirúrgicos, a superfície da pele pode ser medida rapidamente por um método não-invasivo e com maior acurácia (LOUKAS et al., 2006; HAJEER et al., 2005). Entretanto, não há estudos da interpretação do TCP por este método.

1.1 OBJETIVOS

1. Avaliar a eficácia do efeito supressor dos anti-histamínicos não sedantes (desloratadina, epinastina, e fexofenadina) com um sedante, a hidroxizina, na formação da pápula e do eritema induzidos por histamina ou alérgeno, por meio do teste cutâneo por puntura, através do método da fotografia digital:
2. Avaliar um novo método de leitura dos testes cutâneos por puntura através do método de imagem tridimensional.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Muitas substâncias causam inflamação quando introduzidas na pele. Alguns compostos causam reação inflamatória local em todos os indivíduos expostos e geralmente são chamados de irritantes ou tóxicos. Aquelas reações que ocorrem com base em resposta imune específica são chamadas de reações de hipersensibilidade àquele antígeno. As doenças alérgicas mediadas por IgE são por reação de hipersensibilidade imediata ou do tipo I (TRIPATHI e PATTERSON, 2001).

Em países desenvolvidos, 30 a 40% da população é atópica, com uma proporção de doença alérgica, por exemplo, para asma, de 5 a 10%, rinite de 10 a 20% e alergia alimentar de 1 a 3%. Atopia refere-se a hiperresponsividade da IgE e representa a predisposição à doença alérgica. Alergia refere-se à expressão clínica da doença atópica mediada por IgE (HOLGATE, CHURCH e LAWRENCE, 2000).

As reações alérgicas exigem uma exposição prévia ao alérgeno. A primeira exposição a um determinado alérgeno ou antígeno induz à produção de anticorpos IgE contra o antígeno em questão, guiados pela produção de IL-4 pelas células T auxiliares. A IgE une-se aos mastócitos via porção FC. Os precursores dos mastócitos migram para os tecidos, onde se tornam mastócitos maduros, com localização predominante próxima aos vasos sanguíneos e nervos abaixo dos epitélios. Uma vez que uma quantidade suficiente de anticorpo IgE está presente nos mastócitos, a re-exposição ao mesmo antígeno induz sua ativação, pela ligação cruzada do antígeno com as moléculas de anticorpo IgE, causando a liberação de mediadores inflamatórios no tecido circundante, como histamina e triptase. Outros mediadores, como prostaglandina D₂, leucotrienos C e D, estão envolvidos nesta reação, mas a histamina é a principal (FOREMAN, 1987).

O diagnóstico de uma doença alérgica do tipo I deve basear-se na história clínica, no exame físico do paciente e na determinação de anticorpos IgE específicos. O teste cutâneo só tem valor diagnóstico quando interpretado no contexto clínico do paciente, pois indivíduos assintomáticos também podem apresentar resultados positivos (TRIPATHI e PATTERSON, 2001).

Há dois tipos de teste cutâneo para a detecção do IgE: o teste por puntura (também chamado de teste cutâneo de leitura imediata, teste epicutâneo ou *prick test*) e o intradérmico (ou intracutâneo). O teste intradérmico é realizado em ocasiões especiais e o teste cutâneo por puntura (TCP) é o mais empregado por ser rápido, barato, sensível e específico (TRIPATHI e PATTERSON, 2001).

A reação cutânea induzida pelo TCP apresenta características de inflamação. Observa-se, inicialmente, uma reatividade vascular (eritema) após a introdução de histamina ou alérgeno na pele, seguida de vasodilatação reflexa ao redor do local da inoculação, e da formação de edema por extravasamento de líquido. Essa seqüência caracteriza a reação tríplice de Lewis, que, no final do processo, resulta em aumento da temperatura e edema local (pápula), em eritema reflexo ao redor da pápula e prurido. Tudo isso, em conjunto, forma os sinais cardinais da inflamação (PLYTYCZ e SELJELID, 2003; LEWIS, 1927).

O TCP teve sua primeira aplicação prática para detecção clínica da hipersensibilidade do tipo I no ano de 1912 (SCHLOSS, 1912), mas se tornou popular em 1970, após ser modificado por Pepys (PEPYS, 1975). É recomendado como teste inicial para investigação de doença alérgica mediada por IgE. Além da sua importância clínica, é indispensável para padronização dos extratos alérgenos e para estudos dos mecanismos alérgico, inflamatório e farmacológico (TRIPATHI e PATTERSON, 2001; CLIA, 2007; FOREMAN, 1987; PUROHIT et al., 2003).

2.2 TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA

2.2.1 Preparo Para Realizar um Teste Cutâneo

Antes de iniciar qualquer teste cutâneo, deve-se ter algumas precauções: deve ser realizado se houver um médico disponível para atender reações sistêmicas, ter equipamento de emergência rapidamente disponível; ser cuidadoso com os pacientes que já tiveram reações sistêmicas; determinar a validade e a estabilidade do extrato alergênico a ser usado; incluir controle positivo e negativo; realizar o teste em pele normal; avaliar o paciente para dermatografismo; investigar quais as medicações em uso pelo paciente e o tempo transcorrido desde a última dose (DOLEN, 2001).

2.2.2 Reações Adversas dos Testes Cutâneos

Embora complicações oriundas do teste cutâneo sejam infreqüentes, podem ocorrer, especialmente pelo intradérmico. As reações locais são mais freqüentes e geralmente envolvem com aplicação de compressas frias e administração de anti-histamínicos via oral. O TCP, utilizando aeroalérgenos, é seguro e nenhum caso de fatalidade é conhecido (DOLEN, 2001).

2.2.3 Técnica do Teste Cutâneo Por Puntura

O TCP é realizado colocando uma pequena gota de cada extrato a ser testado, incluindo as soluções de controle negativo (solução salina) e positivo (histamina), na superfície anterior do antebraço. As gotas devem ser colocadas com 2cm ou mais de distância entre elas (figura 1) (TRIPATHI e PATTERSON, 2001).

FIGURA 1 - APLICAÇÃO DOS EXTRATOS NA SUPERFÍCIE ANTERIOR DO ANTEBRAÇO PARA REALIZAÇÃO DO TESTE POR PUNTURA



FONTE: www.separ.es/pacientes/imagenes/rinitis1.jpg

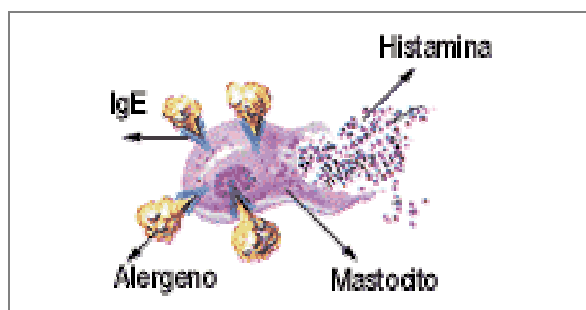
Uma agulha descartável 26-G é passada através da gota e inserida dentro da superfície epidérmica em ângulo de 45°. A ponta da agulha é delicadamente levantada para elevar uma pequena porção da epiderme sem induzir sangramento. A agulha é então retirada e a solução removida (TRIPATHI e PATTERSON, 2001).

Há outras técnicas para o TCP e as opiniões sobre estas técnicas variam de acordo com a habilidade, a experiência e a preferência de quem o realiza (OSTERBALLE e WEEKE, 1979; NELSON et al., 1993). Os extratos escolhidos para realizar o teste são baseados na idade, na história e na exposição alérgica do paciente, e no local onde o paciente mora. Os extratos mais utilizados são de aeroalérgenos. O TCP usando extratos de veneno de vespa, abelha ou formiga, é considerado o método mais sensível e específico para confirmar anticorpos IgE específicos nos pacientes com história prévia de reação à picada de insetos. Poucos extratos são de alimentos, ou outros alérgenos, pela falta de qualidade ou de padronização. Em algumas situações pode ser feito o *prick-to-prick*, que consiste em realizar uma puntura com agulha em uma fruta, por exemplo, e, com a mesma agulha, uma puntura na pele (FINEMAN et al., 1995).

2.2.4 Mecanismo do Teste Cutâneo por Puntura

O antígeno, introduzido na pele, dá início a uma resposta de hipersensibilidade imediata em um indivíduo sensibilizado, que é a ligação do antígeno à IgE na superfície dos mastócitos ou basófilos. Essas células são ativadas por ligação cruzada de moléculas pré-fixadas à superfície da IgE, induzindo a liberação de mediadores, particularmente a histamina (figura 2).

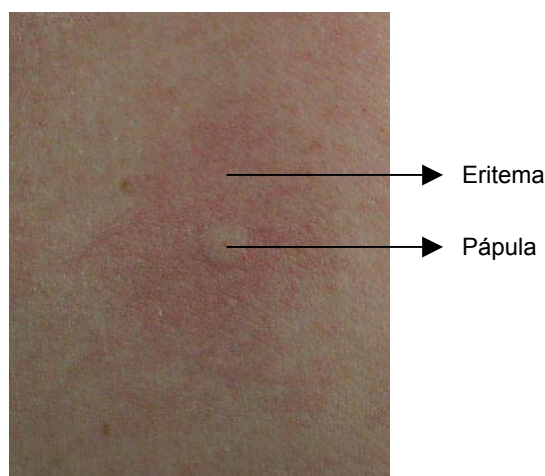
FIGURA 2 - MECANISMO DE LIBERAÇÃO DE HISTAMINA PELO MASTÓCITO. LIGAÇÃO DE ANTÍGENOS À IGE



FONTE: <http://med.javeriana.edu.co/fisiologia/fw/c32.htm>

A histamina é um agonista H1 e H2 endógeno que pela ação H1 mobiliza cálcio e, pela H2, estimula a adenilciclase nos neurônios, levando à vasodilatação que caracteriza o eritema. Este, por sua vez, é substituído por um edema mole resultante do extravasamento de plasma, o que forma a pápula (figura 3). A histamina induzindo reações cutâneas no TCP simula uma reação como a causada pelo alérgeno, mas não é idêntica, e sua fisiopatologia não é completamente conhecida (FOREMAN, 1987).

FIGURA 3 - PÁPULA E ERITEMA INDUZIDOS PELA HISTAMINA, NO 10^o MIN APÓS O TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA



FONTE: A autora

A reação imediata pode ser seguida pela reação tardia, com pico entre 6 a 12 horas que se resolve em aproximadamente 24 a 48 horas e é representada por uma reação inflamatória eritematosa local (FREW e KAY, 1988).

2.2.5 Alguns Erros Comuns na Realização do Teste Cutâneo por Puntura

Alguns erros comuns na realização do TCP incluem: colocação dos extratos de alérgenos muito próximos, a menos de 2cm, impossibilitando a individualização das reações; indução de sangramento, pela possibilidade de falso positivo; penetração insuficiente de material na pele, levando a falso negativo (mais comuns com outros dispositivos que não a agulha); mistura de soluções alérgenas durante a realização do teste ou quando da sua remoção (DOLEN, 2001).

2.2.6 Variáveis que Afetam o Teste Cutâneo

2.2.6.1 Área do corpo

A região superior do dorso é mais reativa que a região anterior do antebraço. A fossa antecubital é a porção mais reativa do braço e a região do punho a menos

reativa. Pela praticidade, o teste é feito no terço médio do antebraço, na face anterior (NELSON, KNOETZER e BUCHER, 1996).

2.2.6.2 Idade

Lactentes reagem, predominantemente, com eritema maior e pápula menor. A maioria dos lactentes acima dos 3 meses de idade reage à histamina com pápula significativamente maior que os lactentes abaixo dessa idade (BARBEE et al., 1981; SKASSA-BROCIEK et al., 1987).

2.2.6.3 Gênero

Não há diferença na reatividade ao teste entre homens e mulheres. Apesar da fase do ciclo menstrual alterar o tamanho da pápula de histamina, não tem significância clínica (KALOGEROMITROS et al., 1995).

2.2.6.4 Etnia

As pápulas induzidas por histamina são maiores em indivíduos negros do que em brancos, e a avaliação do eritema é mais difícil de ser realizada em indivíduos negros (JOSEPH et al., 2004).

2.2.6.5 Ritmo circadiano

A influência do ritmo circadiano é mínima e não afeta a interpretação do TCP (TRIPATHI e PATTERSON, 2001).

2.2.6.6 Variações sazonais

O teste para IgE específico para pólen deve ser feito na estação do pólen, já que a sensibilidade da pele pode diminuir fora desta estação (HAAHTELA e JOKELA, 1980).

2.2.6.7 Condições patológicas

O TCP não deve ser realizado em área de eczema ou qualquer lesão de pele (TRIPATHI e PATTERSON, 2001) para evitar falso-positivo. Os pacientes com insuficiência renal crônica, e/ou em hemodiálise, geralmente apresentam uma diminuição da reatividade da pele (BOUSQUET et al., 1988), podendo ocorrer teste falso-negativo. Alguns pacientes com câncer têm reatividade cutânea diminuída mais no eritema que na pápula (BOUSQUET et al., 1991), o que pode dificultar a leitura do teste. Injúrias na coluna espinhal ou nervos periféricos bloqueiam o eritema oriundo do reflexo axonal. Em caso prévio de reação anafilática, deve-se esperar pelo menos uma semana para realização do teste pela depleção dos mediadores inflamatórios nos grânulos dos mastócitos (TRIPATHI e PATTERSON, 2001).

2.2.6.8 Drogas

Os anti-histamínicos, antagonistas H1, inibem a formação da pápula e do eritema e a duração da inibição depende da farmacocinética do medicamento. Por exemplo, os anti-histamínicos não-sedantes podem suprimir a reação de 3 a 10 dias após o seu uso (PUROHIT et al., 2003). Os antagonistas H2 (por exemplo, a cimetidina) podem alterar o TCP se em associação com os H1. Orienta-se a suspender seu uso apenas no dia do teste (MILLER e NELSON, 1989).

Os antidepressivos tricíclicos e antieméticos podem diminuir a reatividade cutânea se usados a longo prazo. Nesses casos, é aconselhável suspender a medicação por uma semana antes da realização do TCP (RAO et al., 1988).

A utilização de corticóides por via oral a longo prazo pode afetar o resultado do teste cutâneo, dependendo da dose. Roches e colaboradores observaram que a reatividade cutânea não foi afetada em asmáticos que há dois anos utilizavam dose diária de 20mg. A aplicação de corticóides tópicos podem alterar o TCP e não devem ser aplicados no local do teste por pelo menos uma semana antes da sua realização (NELSON, 2001).

O uso de teofilina altera muito pouco o TCP e não é necessária a sua suspensão para a realização do teste (FINE et al., 1980).

Os agentes β -adrenérgicos, administrados por via oral, interferem pouco e de forma não significativa na realização do teste (SPECTOR, 1978). Já os bloqueadores β 2-adrenérgicos, como o propranolol, inibidor da enzima conversora da angiotensina e da monoaminoxidase, podem aumentar significativamente a reatividade cutânea (ANDERSON e DESHAZO, 1990). Os pacientes que usam essas medicações devem ter cuidados particulares ao realizar o teste cutâneo, pelo risco aumentado de reações sistêmicas, principalmente quando o teste for intradérmico.

2.2.6.9 Imunoterapia

A imunoterapia pode diminuir a reatividade cutânea nos indivíduos na fase de manutenção (GARCIA-ORTEGA et al., 1993).

2.2.7 Quando o Teste Cutâneo não Puder Ser Realizado

Nos indivíduos em que o teste cutâneo não pode ser realizado, pode-se determinar a IgE específica no soro. O teste mais conhecido é o RAST (*radioallergosorbent test*). O RAST não é afetado pelo uso de drogas nem por doença cutânea, é completamente seguro e podem ser testados tantos alérgenos quanto forem necessários (WOOD et al., 1999). Comparando-o com o TCP, este último é mais barato, o resultado é imediato, tem valor educacional e geralmente é mais sensível e específico.

2.2.8 Leitura do Teste Cutâneo Por Puntura

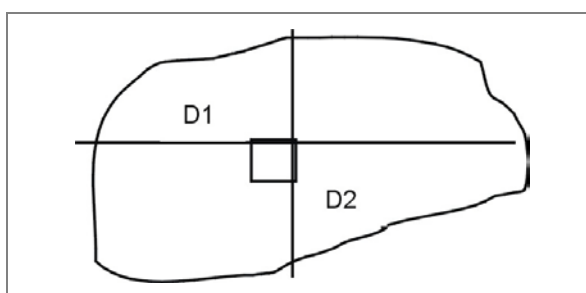
O resultado do teste é baseado principalmente no tamanho da pápula. Alguns autores consideram também o eritema na determinação da reatividade cutânea ao antígeno (BERNSTEIN e STORMS, 1995; NELSON et al., 1993). O pico máximo do tamanho da pápula induzida pela administração de histamina ocorre em

10 a 15 minutos após a puntura e do aeroalérgeno pode ocorrer até 30 minutos após sua aplicação (NELSON, KNOETZER e BUCHER 1996). Recomenda-se a interpretação do teste 15 minutos após a leitura, embora a reação já esteja definida como positiva ou negativa ao 10.º minuto.

Há vários métodos de leitura do TCP. Um deles é pela comparação visual da área da pápula induzida por um antígeno com aquela induzida por histamina. O resultado é graduado de zero a 4+ (0: nenhuma reação ou reação sem diferença da pápula pelo controle negativo; 1+: eritema menor que 21 mm e maior que o controle negativo controle; 2+: eritema maior que 21 mm; 3+: eritema e pápula sem pseudópodes; 4+: eritema e pápula com pseudópodes) (DOAN e ZEISS, 1993). Este método é semiquantitativo, não muito utilizado e, por não ser preciso, não é recomendado para estudos clínicos. O método do diâmetro médio é o mais utilizado na rotina clínica, por ser mais conveniente.

Através de uma régua transparente milimetrada, é calculado o diâmetro médio das medidas do diâmetro mais longo (D1) da pápula e do menor diâmetro (D2) perpendicular e central a ele (diâmetro médio = $D1+D2 / 2$) (figura 4). É considerado positivo quando o tamanho da pápula é ≥ 3 mm de diâmetro (AAS, 1975). Embora freqüentemente utilizado, é um método subjetivo e o coeficiente de variação tem sido descrito de 7 a 80% em diferentes centros (DREBORG et al., 1987; EICHLER et al, 1988; VOHLONEN et al., 1989).

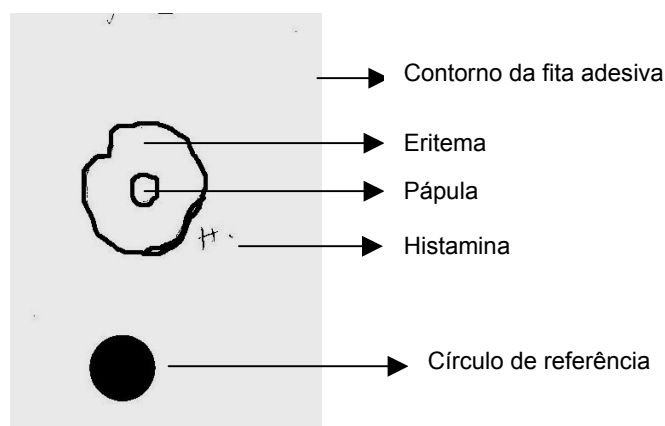
FIGURA 4 - LEITURA REPRESENTATIVA DA PÁPULA INDUZIDA PELO TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA, PELA RÉGUA



FONTE: A autora

O método considerado preciso, e mais usado nos estudos clínicos, para avaliação do TCP, é por meio da determinação da área da pápula pela transferência do seu contorno, desenhado com uma caneta em fita transparente para um sistema digital por *scanner* (figura 5) e a área da pápula é calculada por um software. É considerado positivo quando o tamanho da pápula é $\geq 7\text{mm}^2$ (PIJNENBORG, NILSSON e DREBORG, 1996). Novo software foi desenvolvido para calcular a área da reação, com a vantagem de permitir o cálculo da pápula a partir de uma imagem processada por um sistema automático (WOHRL et al., 2006). Apesar de ser um método mais preciso que os convencionais, a imagem a ser analisada é criada a partir do contorno manual da pápula.

FIGURA 5 - ÁREA PELO SCANNER: CONTORNO MANUAL DA PÁPULA E DO ERITEMA INDUZIDOS PELA HISTAMINA, NO TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA, DESENHADOS EM UMA FITA ADESIVA. CÍRCULO COMO REFERÊNCIA DE TAMANHO



FONTE: A autora

O método mais recentemente descrito para avaliação do TCP é através da fotografia digital (figura 6), aonde o contorno da pápula é obtido da imagem digitalizada através da aplicação de filtros disponíveis no software. Vantagens ainda desse método, em relação aos outros, estão na possibilidade de avaliar objetivamente o tamanho e a intensidade do eritema, e na documentação do teste (VIEIRA DOS SANTOS, TITUS e CAVALCANTE LIMA, 2007).

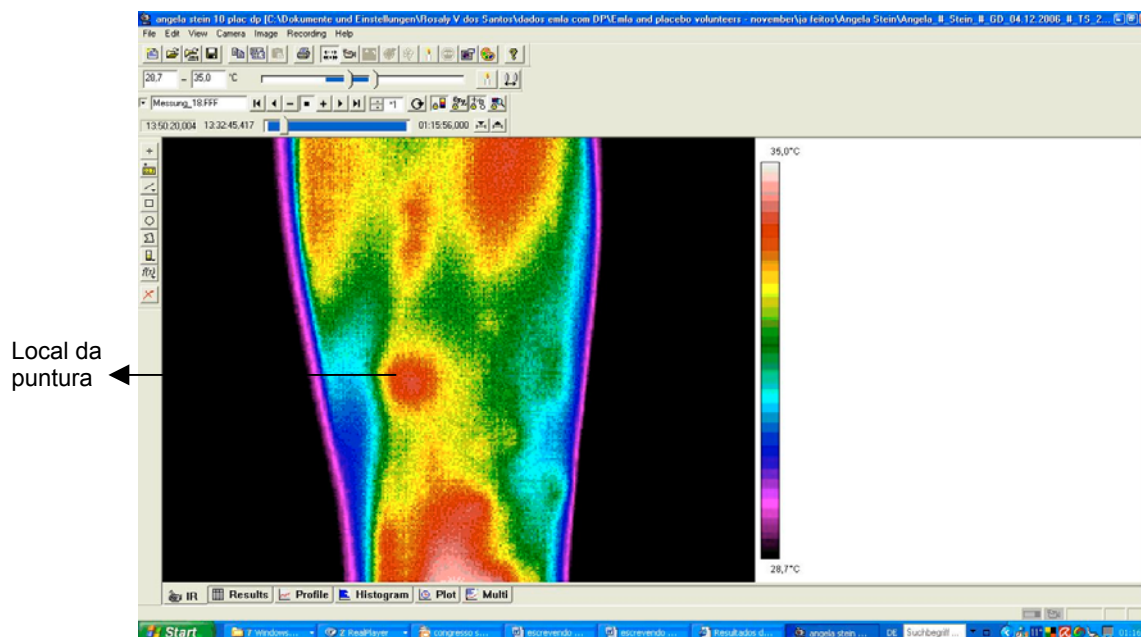
FIGURA 6 - FOTOGRAFIA DIGITAL DA REAÇÃO CUTÂNEA INDUZIDA POR HISTAMINA E ALERGENO, APÓS TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA, NO ANTEBRAÇO. ADESIVOS AO REDOR COMO REFERÊNCIAS DE TAMANHO E CORES



FONTE: A autora

Também utilizando o mesmo método da fotografia digital, associado à termometria cutânea, foi demonstrada a cinética da reação cutânea induzida por histamina e alérgeno no TCP. A temperatura correlacionou-se significativamente, em todos os pontos da análise, com o tamanho da pápula (VIEIRA DOS SANTOS e CAVALCANTE LIMA, 2007) (figura 7), resultado este semelhante ao encontrado por Bagnato et al., correlacionando o aumento da temperatura, através da termometria infravermelha, no TCP, com o tamanho da pápula, avaliado pelo diâmetro médio (BAGNATO et al., 1997). Embora tenha se demonstrado a objetividade do método da fotografia digital, ele não foi utilizado em estudos clínicos, e precisa ser automatizado e padronizado. A termometria cutânea vem sendo lentamente utilizada no TCP e mais estudos são necessários para correlacionar os parâmetros analisados por este método, como a intensidade e a área da temperatura no local do teste, com a fisiopatologia da reação.

FIGURA 7 - TERMOMETRIA CUTÂNEA: AUMENTO DA TEMPERATURA NO LOCAL DO TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA. REAÇÃO INDUZIDA POR ALERGENO, NA SUPERFÍCIE ANTERIOR DO ANTEBRAÇO



FONTE: A autora

Recentes avanços na tecnologia computadorizada e maior conhecimento das análises de imagens tridimensionais, tem introduzido novos horizontes para a aplicação da imagem tridimensional em medicina. O método tridimensional é o método mais novo para avaliar a superfície cutânea, sendo mais usado entre os dermatologistas, cirurgiões e ortodontistas (LOUKAS et al., 2006; HAJEER et al., 2005). Entretanto, não há estudos da interpretação do TCP por este método.

Doppler, microdiálise, entre outros estudos experimentais, têm sido descritos para a análise da reação inflamatória induzida pelo TCP (CLOUGH, BENNETT e CHURCH, 1998; OKAHARA et al., 1995).

A fotografia digital, a termometria cutânea de alta resolução e a imagem tridimensional são, assim, os métodos não-invasivos mais promissores quanto a acurácia e precisão na leitura do TCP.

2.2.8.1 Fotografia digital

A câmera digital consiste em uma máquina com corpo e lentes convencionais com CCD ou *Charge Coupled Device*, que ocupa o lugar do filme. O CCD é um *chip* de silicone composto por elementos individuais, ou *pixels*, que reage à luz como os filmes nas câmeras tradicionais e a transforma em voltagem. O microcomputador imbutido na câmera converte essa voltagem em dados binários. O CCD é insensível a cores, mas com um filtro vermelho, verde ou azul à sua frente, o *chip* digitaliza os componentes individuais das cores na imagem para reproduzir a representação colorida. O CCD é a unidade crítica da câmera; sua habilidade em reproduzir uma imagem digital é função de sua resolução, que pode ser definida como a densidade dos elementos fotossensíveis, ou *pixels*, que ela contém (SMITH, 2002; ATNER, THOMAS e BICKERS, 1999).

Documentação fotográfica médica:

A documentação fotográfica médica deve ser tecnicamente perfeita e fiel. Os objetos importantes e seus detalhes devem estar todos em foco, ou seja, nítidos. A imagem deve ser padronizada e reprodutível; para isso, deve-se antes padronizar e adequar a iluminação, a exposição e a profundidade de campo, o enquadramento e o fundo das fotos. A fotografia digital é bastante satisfatória nos quesitos qualidade e precisão, além de possibilitar a realização de análises colorimétricas computadorizadas e a quantificação objetiva dos resultados dos procedimentos.

2.2.8.2 Termometria cutânea de alta resolução

Os sistemas infravermelhos têm por objetivo transformar a radiação captada em informação térmica, que pode ser qualitativa ou quantitativa. A visão humana abrange a faixa espectral de comprimentos de onda entre 0,40 e 0,75 μm . A sensibilidade máxima ocorre entre 0,50 e 0,55 μm , dependendo do grau de adaptação dos olhos à luminosidade. Os recursos da fotografia infravermelha estendem-se até o comprimento de onda de 0,9 μm , além do qual a energia associada à radiação já não é suficiente

para sensibilizar emulsões fotográficas. Nessa faixa, a imagem registrada deve-se à radiação refletida a partir de alguma fonte externa, visto que a emissão própria de corpos com temperaturas menores que 250°C é muito pequena. A detecção de comprimentos de ondas mais longos é obtida com auxílio de equipamentos denominados sistemas infravermelhos, que convertem a radiação captada em sinais eletrônicos, possibilitando a formação de imagens térmicas e a medição de temperatura à distância. Os elementos básicos que compõem esse sistema são: óptica do sistema, mecanismo de varredura, detector, processador e *display*. Normalmente as imagens são formadas a partir da varredura bidimensional da cena; são apresentadas em tubos de raios catódicos, onde um feixe eletrônico varre a tela em sincronismo com os movimentos do mecanismo de varredura. O deslocamento do feixe produz linhas que formam a imagem, composta por uma sucessão de pontos denominados *pixels*. Para ter boa qualidade visual, a imagem deve incluir o maior número de *pixels*, e a frequência de varredura deve ser tal que não produza cintilação. As medições baseiam-se na comparação entre o sinal gerado no detector a partir de uma referência de temperatura e o sinal decorrente do corpo em medição (KAPLAN, 2000).

2.2.8.3 *Scanner* óptico 3D

Um *scanner* 3D é um aparelho que coleta dados de um objeto em sua forma e sua aparência. Há várias tecnologias para se obter uma imagem 3D. Cada tecnologia apresenta suas próprias limitações, vantagens e custos.

O aparelho GMF PRIMOS[®] portátil, um *scanner* óptico 3D, foi especialmente desenvolvido com intuito de medir a superfície da pele em tempo real. Pode ser utilizado fixo a um tripé ou segurado pelas mãos (figura 8).

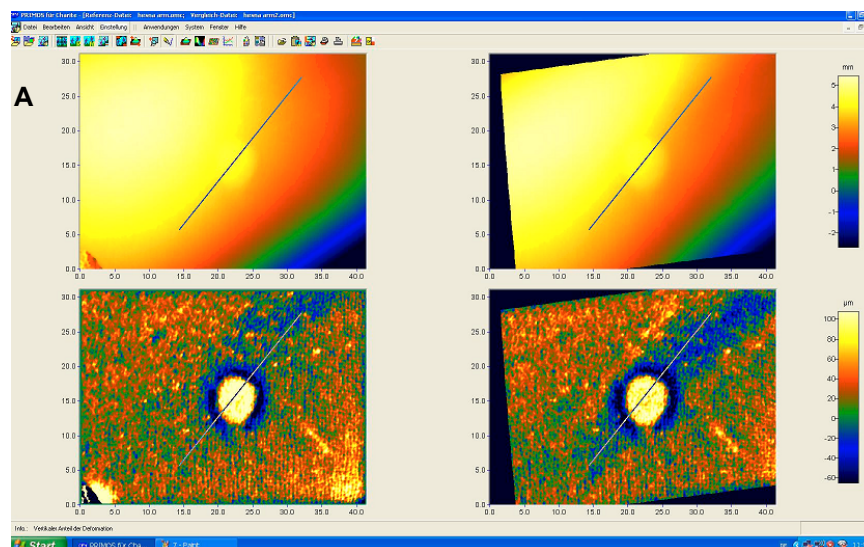
FIGURA 8 - GMF PRIMOS PORTÁTIL. IMAGENS
ARMAZENADAS NO COMPUTADOR
APLICANDO O SOFTWARE *PRIMOS*



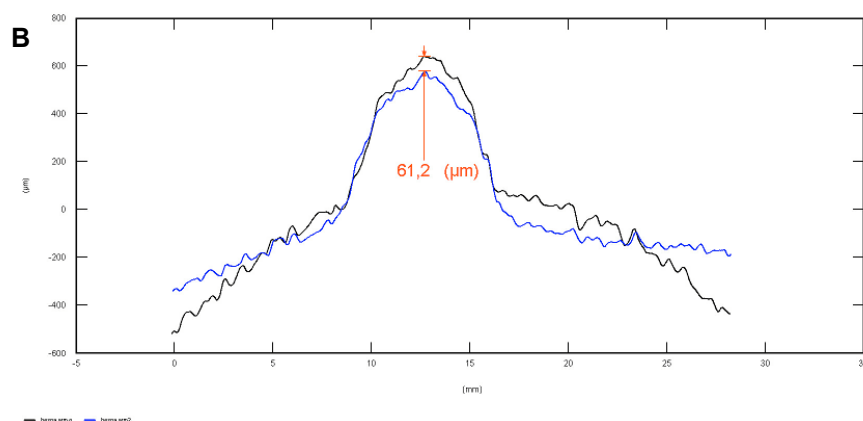
FONTE: <http://www.gfmesstechnik.com/de/life-science/primos-portable-2.html>

Com este aparelho, a área de captura da imagem é de até 40mm². Listras paralelas são projetadas no objeto ou na pele. O desvio e a topografia dessas listras são capturados em linhas perfeitamente paralelas por uma câmera CCD e transformados em coordenadas X, Y e Z, utilizando mais de 310.000 pontos de medida para um único parâmetro 3D. O tempo de captura de uma imagem é muito curto (68ms) devido a um sistema de câmera CCD de 60 Hz. As imagens são armazenadas em um banco de dados e avaliadas através do software GMF 5.075D. Esse sistema permite medida automática e simultânea de todos os parâmetros 3D da superfície da pele, com variação de micrômetros na resolução da imagem, em todos os eixos, garantindo precisão em todos os parâmetros. Ainda, medições em tempos diferentes do mesmo local podem ser feitas e comparadas por alinhamentos de imagens, usando ferramentas do software (figura 9) (ROSÉN, BLUNT e THOMAS, 2005).

FIGURA 9 - ALINHAMENTO DE DUAS IMAGENS DA MESMA LESÃO DE PELE, EM TEMPOS DIFERENTES



Aplicando ferramentas do software *Primos 5.075 D* para alinhamento de duas imagens. Traço em linha reta no local a ser calculado.



Exemplo para cálculo de comparação das duas imagens.

FONTE: A autora

2.2.9 Escolha de Anti-histamínicos Não-sedantes X Sedantes no Tratamento de Doenças Alérgicas

Anti-histamínicos (AH) são drogas de primeira escolha no tratamento de doenças alérgicas como rinite alérgica (RA) e outras doenças mediadas por mastócitos como a urticária crônica (UC) e a mastocitose. Para o tratamento dessas doenças, recomenda-se o uso de anti-histamínicos não-sedantes (AHns) (ZUBERBIER et al., 2006). Essas recomendações são baseadas no fato dos AHns mostrarem-se efetivos no tratamento da RA, UC e mastocitoses (LEE et al., 2004; HANDA, DOGRA e KUMAR,

2004). Prefere-se os AHns que os sedantes (AHs) justamente pelo seu menor efeito de sedação (TASHIRO et al., 2005). Entretanto, AHs são ainda muito utilizados para o tratamento de doenças mediadas por histamina. Isso ocorre, provavelmente, devido a uma ou combinações de razões: a) AHs são geralmente mais baratos que os AHns, os quais não são reembolsados pelos seguros de saúde em diversos países (SULLIVAN e NICHOL, 2004). b) Pacientes e médicos são mais familiarizados com os AHs e, por isso, relutantes em compostos que não costumam prescrever (CIPHER, HOOKER e GUERRA 2006), c) A segurança dos AHs está bem caracterizada pelo seu uso há mais de 4 décadas (SPAETH, KLIMEK e MOSGES, 1996).

Os AHns são freqüentemente considerados mais eficazes quando comparados aos AHs. Isto tem sido aceito pelo fato de poucos estudos terem sido realizados mostrando a superioridade dos AHns sobre os AHs (MORGAN, KHAN e NATHAN, 2005, GREAVES, 2005; KALIVAS et al., 1990). A maioria dos estudos para avaliar a eficácia dos AH baseia-se na ação da droga sobre a pápula e eritema induzidos por teste cutâneo, embora a potência da droga na supressão da reação pápula-eritema não possa ser diretamente extrapolada para sua eficácia clínica no tratamento das doenças mediadas pela histamina. Não há conhecimento sobre estudos comparando a eficácia da hidroxizina, AHs seguro, com valor terapêutico nos eczemas que apresentam prurido intenso pelo seu efeito sedativo, com os AHns, como fexofenadina, desloratadina e epinastina, através do teste cutâneo por puntura.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Dois estudos foram realizados para atingir os objetivos estabelecidos na pesquisa:

- Estudo da ação dos anti-histamínicos sedante e não-sedantes nos testes cutâneos por puntura, analisada através do método da fotografia digital e;
- Análise por imagem tridimensional das reações induzidas pelos testes cutâneos por puntura.

3.1 AÇÃO DOS ANTI-HISTAMÍNICOS SEDANTE E NÃO-SEDANTES NOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA, ANALISADA ATRAVÉS DO MÉTODO DA FOTOGRAFIA DIGITAL

3.1.1 Desenho

Foi realizado um estudo experimental, transversal, prospectivo, analítico, caso-controle e randomizado. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas (HC) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e todos os sujeitos forneceram consentimento informado assinado (aprovação no Anexo 1).

3.1.2 Sujeitos

Setenta e cinco voluntários (estudantes e funcionários do HC, UFPR, Brasil) foram incluídos neste estudo (idade entre 19 a 61 anos, mediana de $28,8 \pm 8,9$; 42 deles do sexo feminino). Nenhum deles foi tratado com anti-histamínicos (AH), estabilizadores de membrana dos mastócitos ou corticosteróides durante as duas semanas que precederam o teste. Sujeitos sob imunoterapia ou doenças dermatológicas no local do teste foram excluídos.

3.1.3 Teste Clínico

Os sujeitos receberam dose única oral de hidroxizina (25mg), fexofenadina (120mg), epinastina (20mg), desloratadina (5mg) ou placebo. Em cada grupo de medicação participaram 15 voluntários. As doses dos AH foram escolhidas de acordo com as recomendações de consenso no tratamento de rinite e urticária alérgica (BOUSQUET et al., 2003; ZUBERBIER et al., 2006). O placebo foi administrado em forma de tablete contendo 25mg de lactose.

3.1.4 Testes Cutâneos por Puntura

Os testes cutâneos por puntura foram realizados antes da ingestão de AH ou placebo e 4 horas após a ingestão (VIEIRA DOS SANTOS, TITUS e CAVALCANTE LIMA, 2007). Resumidamente, uma gota de extrato de histamina (10mg/mL, IPI-ASAC, São Paulo, Brasil), uma de *D. pteronyssinus* (113KU/mL, São Paulo, Brasil) e uma de solução salina (IPI-ASAC, São Paulo, Brasil) foram aplicadas na superfície anterior do antebraço esquerdo. Agulhas descartáveis 26-G foram usadas em todos os testes. Os testes foram avaliados 10 minutos após a puntura por fotografia digital e cálculo do diâmetro médio pela régua milimetrada e transparente. O resultado foi considerado positivo quando o tamanho da pápula foi $\geq 3\text{mm}$ ou $\geq 7\text{mm}^2$ e eritema $\geq 10\text{mm}$ ou $\geq 80\text{mm}^2$ (BERNSTEIN e STORMS, 1995; NELSON et al., 1993).

3.1.5 Avaliação do Teste Cutâneo por Puntura

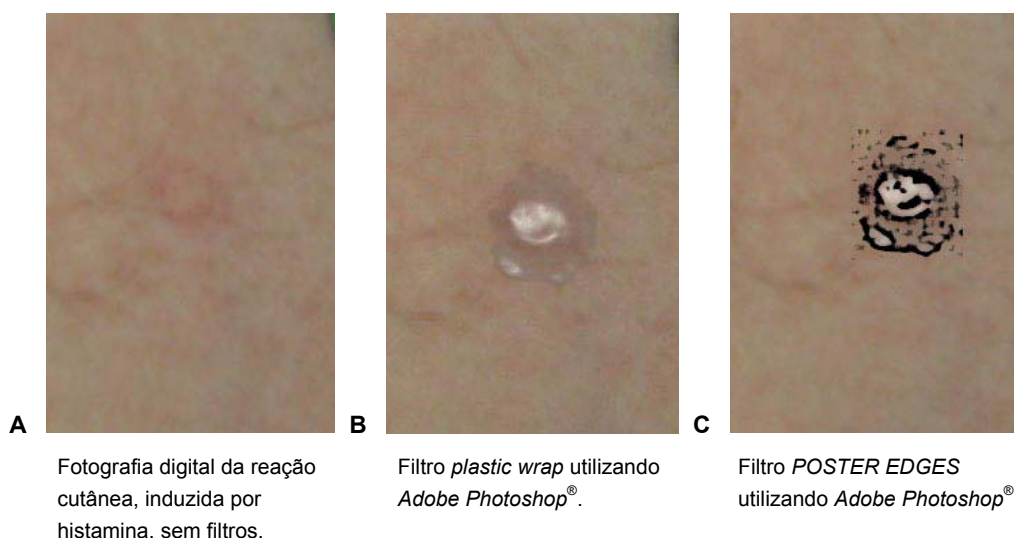
As imagens das reações cutâneas, no local do teste, foram obtidas por meio de máquina fotográfica Olympus 650 C[®] e analisadas através do software *Adobe Photoshop*[®] 6.0 (VIEIRA DOS SANTOS, TITUS e CAVALCANTE LIMA, 2007). Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão. As medidas dos diâmetros (do maior e do menor perpendicular àquele) da pápula e do eritema foram determinadas com

régua milimetrada transparente e com ferramentas do software *Adobe Photoshop*[®] 6.0 na imagem fotográfica digital. O diâmetro médio foi calculado em milímetros.

3.1.5.1 Determinação da área da pápula pela fotografia digital

Para avaliação da pápula, por fotografia digital, foi selecionada uma região ao redor da reação e se determinou o contorno da pápula com dois filtros de transformação de imagem, o *Plastic Wrap* e o *Poster Edges*, aplicados pelo software *Adobe Photoshop* 6.0[®] (figura 10A, B e C). Uma correlação matemática foi estabelecida comparando a quantidade de *pixels* da área da pápula com os da área conhecida. Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão.

FIGURA 10 - FILTROS PARA CONTORNO DA PÁPULA



FONTE: A autora

3.1.5.2 Determinação da área do eritema pela fotografia digital

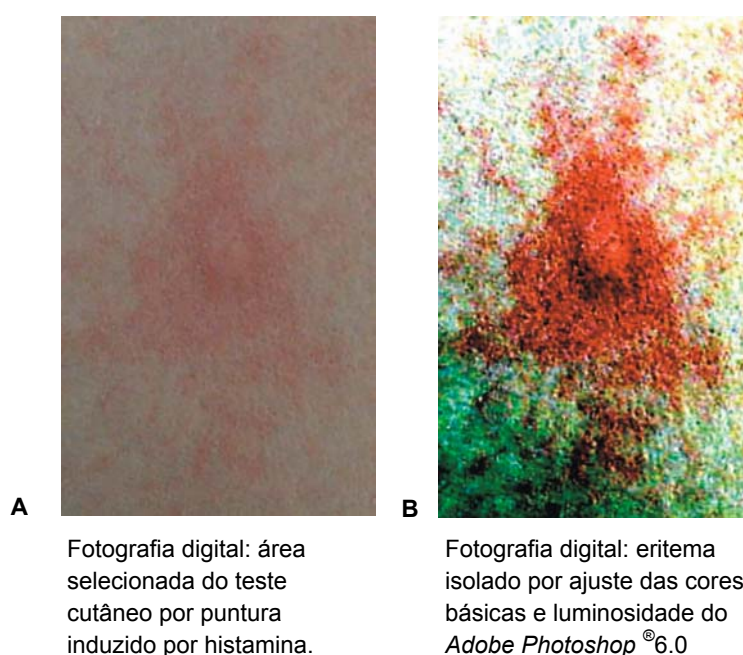
Para avaliação da área do eritema pela fotografia digital, recorreu-se à área previamente conhecida colocada próxima ao local do teste. As fotos armazenadas foram analisadas com auxílio do software *Adobe Photoshop* 6.0[®].

O local do eritema foi selecionado e, nessa imagem, foi feito o ajuste de níveis das cores básicas e da luminosidade (figura 11A e B). Uma área do eritema e

todas as áreas similares foram selecionadas com a ferramenta *magic wand*, chegando-se ao histograma, cuja quantidade de *pixels* foi comparada à quantidade de *pixels* da área conhecida.

Uma vez obtida a área de cada eritema nos diferentes pontos de análise, seus dados foram colocados no software *Microsoft Excel*[®] e analisados, com dados em média \pm erro padrão.

FIGURA 11 - FOTOGRAFIA DIGITAL AO 10.^o MINUTO PÓS-PUNTURA. ÁREA SELECIONADA DO LOCAL DA PUNTURA UTILIZANDO A HISTAMINA



FONTE: A autora

3.1.6 Análise Estatística

Para avaliação das diferenças entre os tempos, empregou-se ANOVA, e teste exato de Fisher para análise dos resultados positivos ou negativos, em porcentagem.

Para a comparação dos diferentes métodos de obtenção das medidas da pápula e do eritema, utilizou-se regressão linear ou polinomial.

O valor de $p < 0,05$ foi associado à significância estatística. Os dados foram analisados com auxílio dos softwares *Statistica*[®] (Statsoft, USA) e *JMP*[®] (SAS Institute, USA).

3.2 ANÁLISE POR IMAGEM TRIDIMENSIONAL DAS REAÇÕES INDUZIDAS PELOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA

3.2.1 Desenho

Foi realizado um estudo experimental, transversal, prospectivo e analítico, aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade de Medicina Charité (Berlim, Alemanha), onde foi realizado, após o consentimento informado de todos os indivíduos participantes (aprovação no Anexo 1).

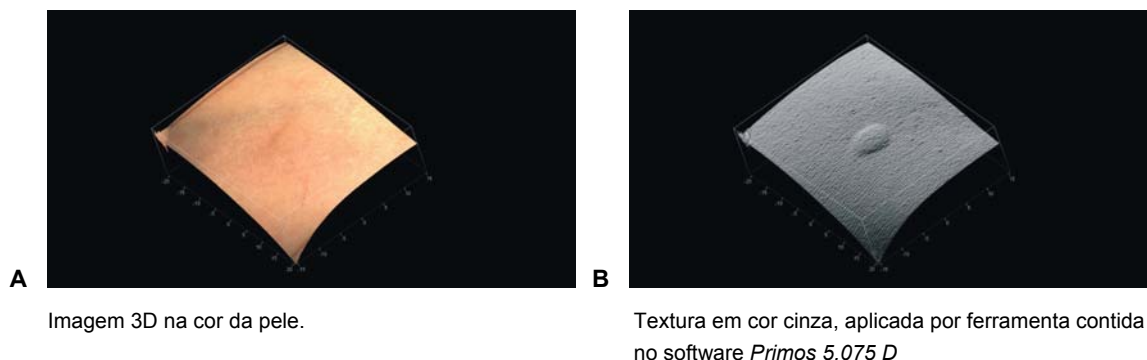
3.2.2 Sujeitos

Dez voluntários, cinco deles com história positiva para rinite alérgica, participaram deste estudo. Nenhum deles foi tratado com anti-histamínicos, estabilizadores de membrana dos mastócitos ou corticosteróides durante as duas semanas que antecederam o teste. Sujeitos sob imunoterapia ou doenças dermatológicas no local do teste foram excluídos.

3.2.3 Captura da Imagem Tridimensional

As imagens 3D (figura 12 A e B) foram obtidas usando um sistema de *scanner* óptico e câmera de alta resolução (Primos 5.075 D[®]).

FIGURA 12 - IMAGEM TRIDIMENSIONAL (3D) DA PÁPULA INDUZIDA NO DÉCIMO MINUTO APÓS PUNTURA



A região a ser medida foi centralizada na imagem de cruz (cruz projetada no objeto a ser medido pelo próprio aparelho) e armazenadas em formato JPEG, omc e kam. As imagens em omc (figura 13A) foram realizadas através do software *GMF Primos 5.075 D*[®]. As ferramentas utilizadas foram um filtro chamado *Robuster Hochpassfilter* (figuras 13B e 14B) e *Knoten- Parameter bestimmen* (figuras 13C e 14C). Os parâmetros volume, área e altura foram obtidos automaticamente.

FIGURA 13 - IMAGEM NO SOFTWARE GMF: PÁPULA PELA HISTAMINA. IMAGEM ARMAZENADA PELO SOFTWARE *GMF PRIMOS 5.075 D*[®]. PÁPULA INDUZIDA PELO ALÉRGENO, NO 10.^o MIN PÓS-PUNTURA

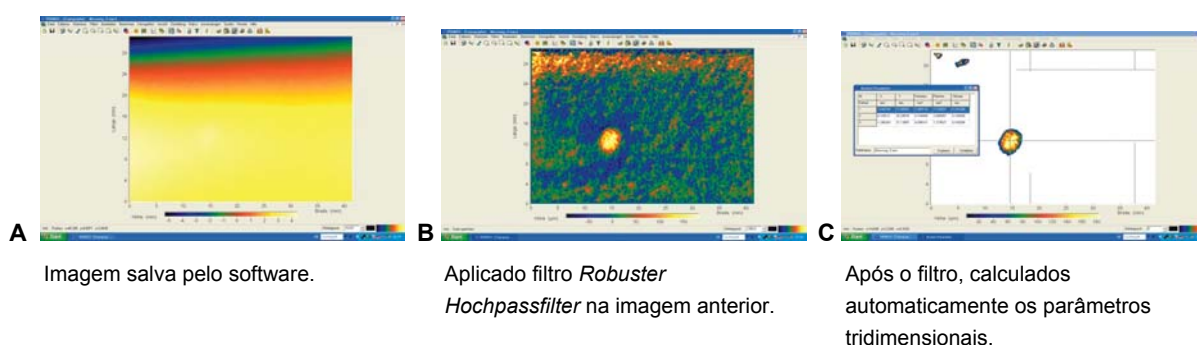
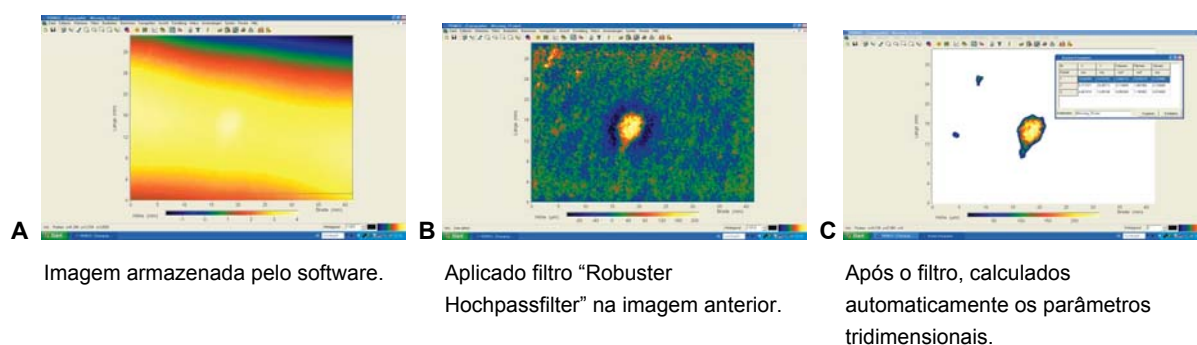


FIGURA 14 - IMAGEM NO SOFTWARE *GMF*: PÁPULA PELO ALÉRGENO IMAGEM ARMAZENADA PELO SOFTWARE *GMF PRIMOS 5.075 D*[®]. PÁPULA INDUZIDA PELO ALÉRGENO, NO 10.^o MIN PÓS-PUNTURA



3.2.4 Teste de Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do novo método foi conduzida em dois estágios. O primeiro envolveu a medição de uma figura de área conhecida (*in vitro*). O segundo envolveu a medição de reações cutâneas induzidas pelo teste cutâneo por puntura (*in vivo*).

3.2.4.1 *In vitro*

Para o teste de reprodutibilidade *in vitro*, foi utilizada uma figura (adesivo redondo de área conhecida) como modelo. Foram obtidas imagens 3D da mesma figura 10 vezes, em dias diferentes, por dois observadores. A variabilidade intra e interobservador foi determinada através do coeficiente de variação (CV) entre as 20 medidas da mesma figura.

3.2.4.2 *In vivo*

Para o teste de reprodutibilidade *in vivo*, foram realizados testes cutâneos por punção em 10 voluntários. Em cada um deles, aplicou-se uma gota de histamina (10mg/mL, ALK-Abelló), uma de solução salina (ALK-Abelló) e uma de extrato de *D. pteronyssinus* (ALK-Abelló) na superfície anterior do antebraço esquerdo, à distâncias mínimas de 3cm entre os extratos. Foi usada uma lanceta estéril, com ponta de 1mm de espessura, para cada gota de extrato. A lanceta foi pressionada através da gota, formando um ângulo de 90° com a pele. As gotas foram removidas no primeiro minuto após a punção. Todos os testes cutâneos foram feitos pelo mesmo médico treinado no procedimento. Antes de realizar o teste, os pêlos longos apresentados no local do teste por alguns dos voluntários foram cortados com tesoura. As imagens 3D foram obtidas nos tempos 0, 5, 10, 15 e 20 minutos após a punção. Em cada tempo de análise, as imagens foram obtidas por dois observadores.

3.2.5 Teste de Acurácia

Para avaliar a acurácia, dois observadores mediram o diâmetro mais longo (D1) e o mais curto, perpendicular àquele (D2) da pápula, com régua transparente e milimetrada, imediatamente após a obtenção da imagem 3D da reação. O diâmetro médio (em mm) foi calculado $(D1+D2)/2$. As áreas das pápulas foram calculadas por meio da seguinte fórmula matemática: $\text{área (mm}^2\text{)} = 3,14 \times [((D1/2) + (D2/2))/2]^2$.

Os valores do tamanho das pápulas foram comparados interobservador e entre os dois métodos.

O coeficiente de variação (CV = desvio padrão X 100/ média da amostra) das dez medidas da figura feitas pelo mesmo observador foi calculado para determinar a variabilidade intraobservador. Para analisar o CV interobservador, foi utilizada a seguinte fórmula: $[(\text{média da amostra do observador 1} - \text{média do observador 2}) / (\text{média da amostra do observador 1} + \text{média do observador 2} / 2)] \times 100$. *In vivo*, o CV interobservador foi calculado em cada tempo de análise.

O sistema de calibração do aparelho foi avaliado três vezes durante o estudo.

O teste cutâneo foi considerado positivo quando tamanho da pápula foi $\geq 7\text{mm}^2$.

3.2.6 Análise Estatística

Os valores obtidos pelas medições *in vitro* e *in vivo* foram digitados em planilha eletrônica (*Microsoft Excel*[®]), conferidos e exportados para o software *SPSS*[®], 13.0 para *Windows*[®]. Para avaliar as diferenças dos valores médios de cada parâmetro (volume, área e altura), obtidos interobservador e entre os métodos, foi aplicado o teste t de *Student* para amostras dependentes. Os testes de regressão simples e polinomial foram aplicados para correlacionar os resultados intra e interobservador. Para avaliar a especificidade e sensibilidade, foi aplicada a curva ROC. O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

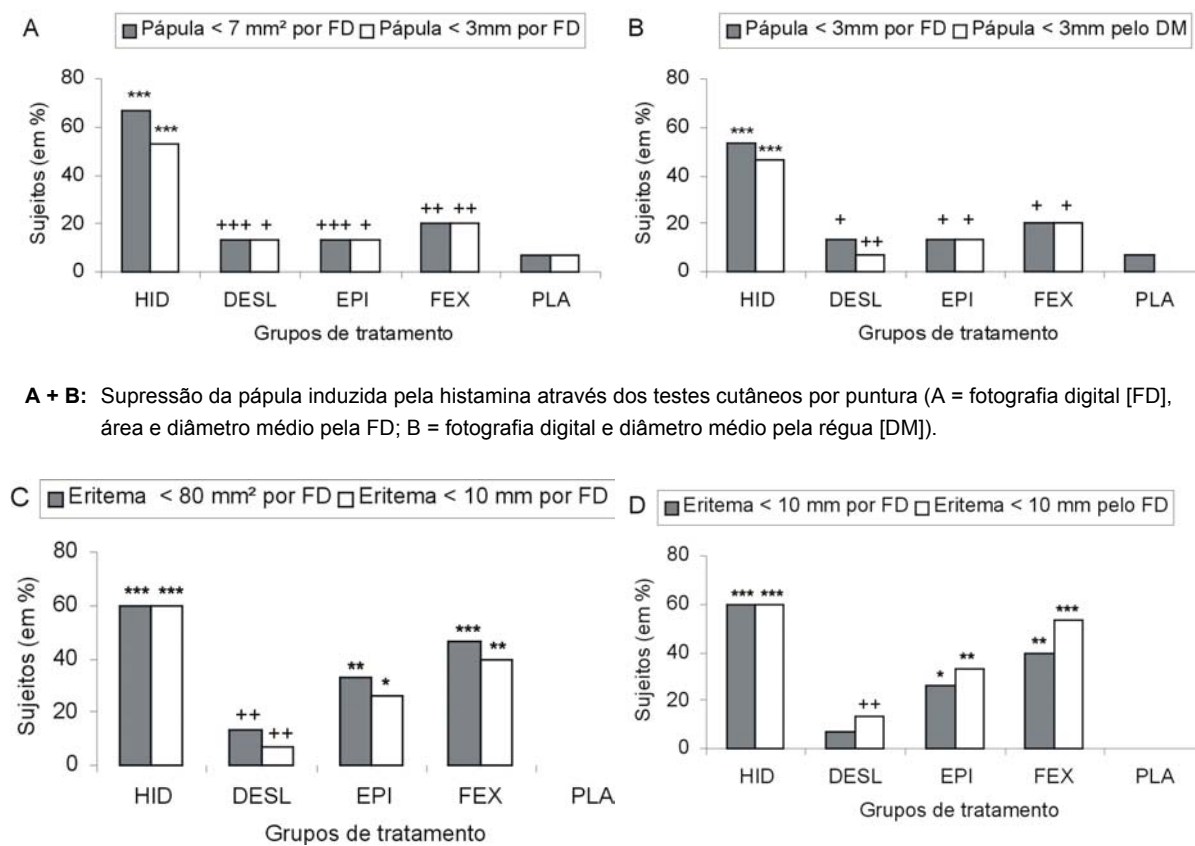
4 RESULTADOS

4.1 AÇÃO DOS ANTI-HISTAMÍNICOS SEDANTE E NÃO-SEDANTES NOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA, ANALISADA ATRAVÉS DO MÉTODO DA FOTOGRAFIA DIGITAL

A fexofenadina, epinastina e desloratadina, administradas em doses recomendadas, preveniram os testes cutâneos por puntura positivo à histamina em somente 10 a 20% dos sujeitos testados, avaliados por fotografia digital (figura 15A). Ao contrário, mais de 50% de todos que tomaram hidroxizina apresentaram teste cutâneo negativo à histamina. Como ilustrado na figura 15B, resultados idênticos foram obtidos através do cálculo do diâmetro médio. A supressão máxima foi vista nos sujeitos que utilizaram hidroxizina (75% de redução para histamina e 57% para alérgeno). Reduções menores no tamanho da pápula induzida por histamina foram vistas nos grupos que utilizaram AHns, isto é, 32%, 55% e 58% de supressão nos sujeitos tratados com desloratadina, epinastina e fexofenadina, respectivamente.

Resultados similares, embora menos pronunciados, foram encontrados ao se comparar o tamanho do eritema das reações cutâneas à histamina nos sujeitos tratados com AH (figura 15C e D). A hidroxizina preveniu o desenvolvimento do eritema em 60% de todos os sujeitos testados (figura 15C). Já no grupo dos indivíduos que receberam AHns, observou-se prevenção da reação em somente 8% (desloratadina), 24% (epinastina) e 40% (fexofenadina) dos sujeitos. Avaliando o tamanho do eritema pela fotografia digital e pelo diâmetro médio, os resultados foram equivalentes (figura 15D).

FIGURA 15 - SUPRESSÃO DAS REAÇÕES CUTÂNEAS, INDUZIDAS POR HISTAMINA NOS VOLUNTÁRIOS TRATADOS, PELOS ANTI-HISTAMÍNICOS



A + B: Supressão da pápula induzida pela histamina através dos testes cutâneos por puntura (A = fotografia digital [FD], área e diâmetro médio pela FD; B = fotografia digital e diâmetro médio pela régua [DM]).

C + D: Supressão do eritema induzido pela histamina através dos testes cutâneos por puntura (C = fotografia digital [FD], área e diâmetro médio pela FD; D = fotografia digital e diâmetro médio pela régua [DM]).

NOTA: * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$ vs. placebo. + = $p < 0.05$, ++ = $p < 0.01$, +++ = $p < 0.001$ vs. hidroxizina.

Abreviaturas: HID = Hidroxizina 25 mg; DESL = Desloratadina 5 mg; EPI = Epinastina 20 mg; FEX = Fexofenadina 120 mg; PLA = Placebo.

A Hidroxizina é mais eficaz que desloratadina, epinastina ou fexofenadina na supressão das reações cutâneas por puntura induzidas por histamina nos voluntários tratados.

Para avaliar se AHns e hidroxizina também diferem na eficácia em suprimir reações cutâneas induzidas por alérgeno, foi realizado um estudo piloto e avaliados os efeitos dos AH nas reações cutâneas por puntura induzidas em sujeitos sensibilizados pelo *D. pteronyssinus* ($n = 31$), tratados com placebo, hidroxizina ou AHns. Os testes cutâneos por puntura foram negativos em somente metade ou menos que a metade de todos os sujeitos tratados com AHns (tabela 1). Por outro lado, mais de 70% de

todos que tomaram hidroxizina apresentaram testes cutâneos negativos, avaliados pela fotografia digital e pelo diâmetro médio (tabela 1).

TABELA 1 - TESTES NEGATIVOS AO ALÉRGENO APÓS ANTI-HISTAMÍNICOS NÚMERO DOS SUJEITOS QUE APRESENTARAM TESTE CUTÂNEO POR PUNTURA NEGATIVO AO *D. PTERONYSSINUS* APÓS ADMINISTRAÇÃO ORAL DOS ANTI-HISTAMÍNICOS

TRATAMENTO	PÁPULA (total dos responsivos à medicação)			ERITEMA (total dos responsivos à medicação)		
	Área por FD (< 7 mm ²)	Diâmetro por FD (< 3 mm)	Diâmetro por DM (< 3 mm)	Área por FD (< 80 mm ²)	Diâmetro por FD (< 10 mm)	Diâmetro por DM (< 10 mm)
Hidroxizina (n=7)	(*)5	(*)4	(*)4	(**)57	(*)4	(*)4
Desloratadina (n=6)	(*)1	(*)0	(*)1	(*)1	(*)0	1
Epigastria (n=6)	3	2	3	(*)3	2	(*)3
Fexofenadina (n=6)	2	2	3	2	2	(*)3
Placebo (n=6)	0	(*)0	(*)0	(++)0	(*)0	(*)0

NOTA: FD = fotografia digital; DM = diâmetro médio pela régua.

(*) p<0.05

(**) p<0.01

(+) p<0.05

(++) p<0.01

A hidroxizina é mais eficaz que desloratadina, epinastina ou fexofenadina na supressão das reações cutâneas por puntura induzidas por *D. pteronyssinus* nos voluntários tratados.

4.2 ANÁLISE POR IMAGEM TRIDIMENSIONAL DAS REAÇÕES INDUZIDAS PELOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA

Todos os dez voluntários (6 do sexo masculino, idade entre 25 e 36 anos, com uma mediana de 28,6 ± 3,62 anos) apresentaram TCP positivos para histamina. No total, 120 imagens com testes positivos (80 pápulas induzidas pela histamina e 40 pelo *D. pteronyssinus*) foram analisadas.

4.2.1 Analisando a Reprodutibilidade do Método de Imagem Tridimensional

4.2.1.1 Análises das imagens 3D da figura (*in vitro*)

A média do CV interobservador foi de 0,43%, 0,02% e 1,73% e a média do CV intraobservador foi de 0,83%, 0,36% e 5,15%, para volume, área e altura, respectivamente. Os valores médios da média e do desvio padrão (SD) obtidos a partir de cada parâmetro da imagem 3D pelos dois observadores estão representados na tabela 2.

TABELA 2 - VALORES DAS MEDIDAS *IN VITRO* MÉDIA DOS VALORES DA MÉDIA E DESVIO PADRÃO PARA VOLUME, ÁREA E ALTURA, DAS MEDIDAS REPETIDAS *IN VITRO*

FIGURA (50 mm ²)	VOLUME (mm ³)	ÁREA (mm ²)	ALTURA (mm)
Média 1 / SD	1,61 / 0,014	49,916 / 0,201	0,058 / 0,004
Média 2 / SD	1,617 / 0,013	49,904 / 0,163	0,057 / 0,002

NOTA: Média 1 = média obtida pelo observador 1; média 2 = média obtida pelo observador 2.

4.2.1.2 Análises das imagens 3D da reação cutânea (*in vivo*)

O CV na mesma reação, em cada ponto de análise (interobservador), é mostrado na tabela 3. O CV interobservador variou de 0,24 a 9,8%, quando considerados todos os parâmetros. Nos parâmetros volume e área, o CV interobservador foi maior no 5.^o minuto para a reação induzida pelo *D. pteronyssinus* do que para histamina (tabela 3).

TABELA 3 - REPRODUTIBILIDADE, *IN VIVO*, DA IMAGEM 3D EXPRESSA PELO COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV), DOS PARÂMETROS 3D, *IN VIVO*, NO 5.^o, 10.^o, 15.^o E 20.^o MINUTO PÓS-PUNTURA

MÉTODO 3D	5'	10'	15'	20'
Volume (mm ³)	3,42 / 9,8	0,5 / 4,48	1,54 / 0,6	1,79 / 2,38
Área (mm ²)	3,09 / 5,61	1,73 / 0,61	1,81 / 1,88	0,24 / 0,42
Altura (mm)	2,65 / 2,57	2,31 / 6,68	4,4 / 2,6	2,16 / 1,1

NOTA: O primeiro CV corresponde ao CV da pápula induzida pela histamina e o segundo ao da pápula induzida pelo alérgeno

4.2.2 Avaliando a Reprodutibilidade do Método da Medida do Diâmetro (*In Vivo*)

O CV na mesma reação em cada ponto de análise (interobservador) é mostrado na tabela 4.

TABELA 4 - REPRODUTIBILIDADE, *IN VIVO*, DO MÉTODO DO DIÂMETRO EXPRESSA PELO COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV), DO MÉTODO DO DIÂMETRO, *IN VIVO*, NO 5.^o, 10.^o, 15.^o E 20.^o MINUTO PÓS-PUNTURA

MÉTODO DO DIÂMETRO	5'	10'	15'	20'
Tamanho da pápula (mm ²)	5,82 / 87,9	6,38 / 26,3	6,5 / 21,1	4,92 / 13,8
Tamanho da pápula (mm)	3,28 / 44,6	4,0 / 13,33	3,9 / 13,0	3,3 / 7,0

NOTA: O primeiro CV corresponde ao CV da pápula induzida pela histamina e o segundo ao da pápula induzida pelo alérgeno.

O CV interobservador do método do diâmetro médio variou de 3,28 a 87,9%. Neste método, o CV foi maior para a área da pápula do que para o diâmetro médio e maior para as pápulas induzidas pelo *D. pteronyssinus* do que pela histamina, até o 20.^o minuto. A análise de cada parâmetro, por regressão simples, pode ser vista na tabela 5.

TABELA 5 - REPRODUTIBILIDADE EXPRESSA PELO r^2 ADJUST CALCULADO POR REGRESSÃO SIMPLES, PARA CADA TEMPO DE ANÁLISE, DOS MÉTODOS 3D E DIÂMETRO

MÉTODOS 3D E DIÂMETRO	5'	10'	15'	20'
<i>Histamina</i>				
Volume (mm ³)	0,95	0,98	0,98	0,94
Área (mm ²)	0,98	0,98	0,98	0,93
Altura (mm)	0,72	0,87	0,77	0,90
Diâmetro (mm ²)	0,60	0,76	0,50	0,50
Diâmetro (mm)	0,70	0,80	0,50	0,50
<i>D. pteronyssinus</i>				
Volume (mm ³)	0,97	0,96	0,90	0,90
Área (mm ²)	0,99	0,90	0,95	0,94
Altura (mm)	0,73	0,90	0,90	0,90
Diâmetro (mm ²)	0,50	0,70	0,70	0,76
Diâmetro (mm)	0,70	0,80	0,70	0,75

4.2.3 Avaliação da Acurácia

A acurácia foi avaliada pela comparação dos valores obtidos pela imagem 3D com os valores obtidos pela medida dos diâmetros, expressos em mm². As correlações foram similares para histamina e *D. pteronyssinus*. Houve boa correlação entre os parâmetros área e volume da imagem 3D (r^2 *adjust* = 0,73 e 0,78, observador 1 e 2, respectivamente, para o volume, e r^2 *adjust* = 0,91 e 0,93 observador 1 e 2, respectivamente, para a área). Não houve boa correlação com o parâmetro altura (r^2 *adjust* = 0,44 – 0,47, observador 1 e 2, respectivamente) (tabela 6).

TABELA 6 - ACURÁCIA EXPRESSA PELO r^2 *ADJUST* CALCULADO POR REGRESSÃO POLINOMIAL NO TEMPO TOTAL DE ANÁLISE

PARÂMETROS DA PÁPULA NO TEMPO TOTAL	OBSERVADOR 1	OBSERVADOR 2
<i>Histamina</i>		
Volume X Área	0,85	0,84
Área X Altura	0,4	0,37
Altura X Volume	0,6	0,61
Volume X Diâmetro (mm)	0,73	0,78
Área X Diâmetro (mm)	0,91	0,93
Altura X Diâmetro (mm)	0,44	0,47
<i>D. pteronyssinus</i>		
Volume X Área	0,9	0,91
Área X Altura	0,37	0,36
Altura X Volume	0,6	0,55
Volume X Diâmetro (mm)	0,7	0,74
Área X Diâmetro (mm)	0,86	0,88
Altura X Diâmetro (mm)	0,4	0,42

NOTA: Valores obtidos pelos observadores 1 e 2.

4.2.4 Calibração

Não houve diferença nos valores das três calibrações realizadas durante o estudo.

4.2.5 Curva ROC

Comparou-se a variação da sensibilidade e especificidade do método de leitura do TCP por meio de imagem 3D com o método do diâmetro médio pela régua,

aplicando a curva ROC em cada período de tempo analisado. Nessa amostra, não houve número de falsos positivos ou falsos negativos. A partir do 5.º minuto após a punção, todos os testes positivos ao método do diâmetro médio pela régua também o foram para o método da imagem 3D. Procedeu-se da mesma forma com relação aos testes negativos. A distribuição da amostra não se superposicionou em nenhum momento da curva.

5 DISCUSSÃO

5.1 AÇÃO DOS ANTI-HISTAMÍNICOS SEDANTE E NÃO-SEDANTES NOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA, ANALISADA ATRAVÉS DO MÉTODO DA FOTOGRAFIA DIGITAL

No presente estudo, a hidroxizina foi comparada à desloratadina, epinastina e fexofenadina, três anti-histamínicos não-sedantes. Observa-se que esses três AHns foram menos efetivos que a hidroxizina na prevenção da formação da pápula e do eritema induzidos por histamina e alérgeno, quando administrados nas doses diárias recomendadas.

Similar à literatura, no grupo placebo observou-se nenhuma ou mínima supressão da reação (PUROHIT et al., 2001; PUROHIT et al., 2003; GRANT et al., 1999; GOETZ et al., 1991; ROONGAPINUN et al., 2004; PUROHIT et al., 2004; KALINER et al., 2003). Já a hidroxizina se revelou um potente supressor (SIMONS, SUSSMAN e SIMONS, 1995). A desloratadina (PUROHIT et al., 2003), fexofenadina e epinastina (GRANT et al., 1999) apresentaram potência intermediária na supressão da formação da pápula induzida por histamina.

Nenhum dos anti-histamínicos utilizados neste estudo foi testado anteriormente para avaliação de seus efeitos na supressão da formação da pápula induzida por alérgeno, pelo teste cutâneo por puntura. Entretanto, a hidroxizina e fexofenadina têm sido avaliadas por injeção intradérmica. Interessantemente, esses estudos mostram efeitos supressivos similares àqueles observados pela hidroxizina e fexofenadina neste estudo. Por exemplo, a hidroxizina (25mg) suprimiu em 57% das formações das pápulas induzidas por alérgeno (teste por puntura) neste estudo quando comparada à supressão de 63% observada no estudo de Cook *et al.* (teste intradérmico) (COOK et al., 1973).

A fotografia digital foi utilizada previamente para interpretar o teste cutâneo por puntura (VIEIRA DOS SANTOS, TITUS e CAVALCANTE LIMA, 2007). Os resultados

apresentados neste estudo validam o uso dessa técnica, já que os resultados são similares aos obtidos pela interpretação macroscópica feita pela régua. Logo, a fotografia digital é um método simples e válido para avaliar a resposta ao teste cutâneo por puntura, especialmente em estudos clínicos, nos quais minimizar as diferenças interobservadores dos resultados obtidos pode ser útil e muito importante.

A potência de cada AHns na supressão da pápula induzida por histamina ou alérgeno não pode ser diretamente extrapolada para sua eficácia clínica no tratamento de todas as doenças mediadas pela histamina (PERSI et al., 1999). Entretanto, nossos achados indicam que AHns, administrados em dose única diária, são geralmente menos efetivos que a hidroxizina, AHs, na prevenção de reações cutâneas por puntura induzidas por histamina ou alérgeno. Isto sugere que os AHns também podem ser menos efetivos que os AHs quando administrados nas doses recomendadas no tratamento de dermatoses dependentes de histamina. Esta hipótese, entretanto, precisa de confirmação, que pode ser obtida por meio de estudos comparando os AHns com AHs na urticária, por exemplo.

5.2 ANÁLISE POR IMAGEM TRIDIMENSIONAL DAS REAÇÕES INDUZIDAS PELOS TESTES CUTÂNEOS POR PUNTURA

Os resultados dos testes cutâneos por puntura foram baseados no tamanho das pápulas. Na rotina clínica e em vários estudos, os resultados são estimados pelo diâmetro médio, em milímetros, medidos com uma régua transparente (KALINER et al., 2003; PIETTE et al., 2002). Poulsen e Pijnenborg descreveram um método considerado preciso para quantificar a reação induzida pelo teste cutâneo por puntura baseado em imagem obtida do contorno da pápula, feita à mão, com uma caneta, transferida para uma fita adesiva e, então, escaneada. A área da pápula é calculada por meio de um software específico (POULSEN et al., 1993; PIJNENBORG, NILSSON e DREBORG, 1996). Um novo software foi desenvolvido para esse cálculo (WOHRL et al., 2006), que possibilita calcular o tamanho da pápula de forma automática.

Embora mais preciso que os métodos convencionais, a imagem inicial da pápula é gerada a partir do contorno manual da mesma.

Recentemente, foi relatado o método de leitura do TCP usando a fotografia digital (VIEIRA DOS SANTOS, TITUS e CAVALCANTE LIMA, 2007), que apesar de ser objetivo para análise, é um método que foi testado apenas *in vivo* e precisa ser automatizado.

Neste estudo, foi demonstrado um método novo de avaliação do TCP usando o sistema de *scanner* óptico PRIMOS 3D, um novo instrumento para análise tridimensional.

O contorno da pápula e os dados matemáticos do volume, área e altura são armazenados e fornecidos automaticamente pelo sistema, sem contato direto com a pele. Por meio desse método, obtém-se imagem do TCP em fotografia com formato 3D, o que permite a documentação padronizada do teste, sua interpretação em diferentes centros de estudos, podendo levar a novas idéias e a técnicas de medida aplicáveis anos após o término de um estudo.

Analisando o TCP ao 20.^o minuto, o maior CV para a imagem 3D foi de 2,38% e, para o método do diâmetro, foi de 13,8%. O CV pela fotografia digital foi de 5,95%, maior que o obtido pela imagem 3D.

Comparando o CV entre os maiores e menores valores das pápulas, obtidos pela imagem 3D (ao 5.^o e ao 20.^o minuto, respectivamente), os resultados foram melhores para as pápulas de tamanho maior. Pijnenborg, Nilsson e Dreborg também encontraram melhor congruência entre o método do diâmetro e da área pelo *scanner* com pápulas maiores. Mesmo para pápulas menores, o CV para aquelas induzidas pela histamina foi menor que 3,5% e, para pápulas induzidas pelo alérgeno, menor que 9,8%. Esta diferença pode ser justificada pelo fato de a reação cutânea induzida pelo alérgeno ser mais lenta do que a induzida pela histamina e pela indefinição dos contornos no início da reação.

A reprodutibilidade da leitura do TCP tem sido relatada em vários estudos. Para o método do diâmetro, o CV varia de 7 a 80% (DREBORG et al., 1987; EICHLER et al., 1988; VOHLONEN et al., 1989). Para o método da área pelo *scanner*, o c.v.

médio intraobservador foi 1,43% e interobservador 2,34% *in vitro*. Já *in vivo*, foram encontrados o CV médio para os testes duplicados induzidos pela histamina de 30,4% e para o alérgeno de 39,8% (PIJNENBORG, NILSSON e DREBORG, 1996). No presente estudo, pela imagem 3D, o CV médio intraobservador para área da pápula foi de 0,36% e, interobservador, de 0,024%. O maior CV para pápula induzida pela histamina foi de 3,09% e, induzida pelo alérgeno, de 5,61%. Estes resultados são melhores que os encontrados pelo método da área pelo *scanner* ou por outros métodos descritos anteriormente.

Os valores dos parâmetros volume e altura também se mostraram precisos e repetitivos. Interessantemente, a imagem fotográfica, armazenada em formato JPEG, é obtida automática e simultaneamente à imagem 3D, na mesma distância e luz, e ambas podem ser usadas posteriormente para análise da intensidade e área do eritema, possibilitando melhor compreensão da relação entre pápula e eritema induzidos por alérgenos. Pela sincronização na coleta de dados, precisão, acurácia, fácil manuseio do aparelho e técnica simples de análise, esse método pode ser facilmente aceito como método padrão de leitura do teste cutâneo por puntura.

6 CONCLUSÃO

É possível avaliar a ação dos anti-histamínicos sedante e não-sedantes através do método da fotografia digital com acurácia e objetividade;

A hidroxizina é um inibidor mais potente das reações cutâneas, induzidas por histamina e *D. pteronyssinus*, do que a desloratadina, epinastina e fexofenadina.

O método de imagem tridimensional é simples, altamente reprodutível e o mais preciso para a leitura dos testes cutâneos por puntura.

6.1 COMENTÁRIOS FINAIS

Pela hidroxizina apresentar maior poder de supressão da pápula e do eritema induzidos pelo TCP do que anti-histamínicos não-sedantes, sugere-se que a dose diária recomendada da hidroxizina e dos AHns não são bioequivalentes na supressão da inflamação cutânea mediada pela histamina. Mais estudos de testes diagnósticos, como o TCP, associados a clínicos são necessários para melhor avaliação dos efeitos das drogas anti-histamínicas nas doenças mediadas pela histamina. Ainda, não participaram indivíduos negros neste estudo, o que poderia ter causado diferenças nos resultados da comparação entre os dois métodos de leitura, uma vez que o método do diâmetro médio pela régua é subjetivo.

O sistema de *scanner* óptico (Primos 5.075 D) é de fácil manuseio, possibilita captura rápida e simultânea de fotografias digitais em formato JPEG e imagens tridimensionais. O software *GMF Primos 5.075 D* calcula automaticamente os parâmetros 3D da pápula induzida pelo teste cutâneo por puntura, independentemente do observador, das configurações geométricas e do tamanho da pápula. Possui, ainda, ferramentas que possibilitam análise de lesões cutâneas avaliadas em diferentes tempos, importante em várias situações dermatológicas.

Estudo para avaliar o efeito de um anestésico tópico (EMLA) na inflamação cutânea induzida pela histamina e alérgeno no TCP, utilizando medidas volumétricas e termográficas da reação, associadas à cinética do eritema analisada através da fotografia digital, está sendo realizado.

REFERÊNCIAS

- AAS, K. Clinical and experimental aspects of standardization and purification of allergen. *Int. Arch. Allergy Appl Immunol*, v.49, n.1-2, p.44-54, 1975.
- ANDERSON, M.W.; DESHAZO, R.D. Studies of the mechanism of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor-associated angioedema: the effect of an ACE inhibitor on cutaneous responses to bradykinin, codeine, and histamine. *J Allergy Clin Immunol*, v.85, n.5, p.856-858, 1990.
- ATNER, D.; THOMAS, C.O.; BICKERS, D. The users of digital photography in dermatology. *J Am Acad Dermatol*, v.41, n.5, p.749-756, 1999.
- BAGNATO, G.F.; GULLI, S.; DENUZZO, G.; DI CESARE, E.; SANSOTTA, C.; D'AMBROSIO, F.P.; VERMIGLIO, G. Measurement of allergen-induced skin reactions by computerized dynamic telethermography (CDTT). *J Investig Allergol Clin Immunol*, v.7, n.4, p.238-241, 1997.
- BARBEE, R.A.; BROWN, W.G.; KALTENBORN, W.; HALONEN, M. Allergen skin-test reactivity in a community population sample: correlation with age, histamine skin reactions and total serum immunoglobulin E. *J Allergy Clin Immunol*, v.68, n.1, p.15-19, 1981.
- BERNSTEIN, L.; STORMS, W.W. Practice parameters for allergy diagnostic testing. *Ann Allergy Asthma Immunol*, v.75, p.553-625, 1995.
- BOUSQUET, J.; MAURICE, F.; RIVORY, J.P.; SKASSA-BROCIEK, W.; FLORENCE, P.; CHOUZENOUX, R.; MION, C.; MICHEL, F.B. Allergy in long-term hemodialysis. II. Allergic and atopic patterns of a population of patients undergoing long-term hemodialysis. *J Allergy Clin Immunol*, v.81, n.3, p.605-610, 1988.
- BOUSQUET, J.; PUJOL, J.L.; BARNEON, G.; HEJJAOU, A.; NARDOUX, J.; AUSSEIL, M.; GODARD, P.; JOYEUX, H.; MICHEL, F.B. Skin test reactivity in patients suffering from lung and breast cancer. *J Allergy Clin Immunol*, v.87, n.6, p.1066-1072, 1991.
- BOUSQUET, J.; VAN CAUWENBERGE, P.; BACHERT, C.; CANONICA, G.W.; DEMOLY, P. et al. Requirements for medications commonly used in the treatment of allergic rhinitis. European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI), Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA). *Allergy*, v.58, p.192-197, 2003.
- CIPHER, D.J.; HOOKER, R.S.; GUERRA, P. Prescribing trends by nurse practitioners and physician assistants in the United States. *J Am Acad Nurse Pract*, v.18, p.291-296, 2006.
- CLIA Program Clinical Laboratory Improvement Amendments. Disponível em: <<http://www.cms.hhs.gov/>>. Acesso em: 21 abr. 2007.
- CLOUGH, G.F.; BENNETT, A.R.; CHURCH, M.K. Effects of H1 antagonists on the cutaneous vascular response to histamine and bradykinin: a study using scanning laser Doppler imaging. *Br J Dermatol*, v.38, n.5, p.806-814, 1998.

- COOK, T.J.; MACQUEEN, D.M.; WITTIG, H.J.; THORNBY, J.I.; LANTOS, R.L.; VIRTUE, C.M. Degree and duration of skin test suppression and side effects with antihistamines. A double blind controlled study with five antihistamines. **J Allergy Clin Immunol**, v.51, p.71-77, 1973.
- DOAN, T.; ZEISS, C.R. Skin testing in allergy. **Allergy Proc**, v.14, n.2, p.110-111, 1993.
- DOLEN, W.K. Skin Testing techniques. **Allergy**, v.56, n.5, p.273-279, 2001.
- DREBORG, S.; BASOMBA, A.; BELIN, L.; DURHAM, S.; EINARSSON, R.; ERIKSSON, N.E.; FROSTAD, A.B.; GRIMMER, O.; HALVORSEN, R.; HOLGERSSON, M. et al. Biological equilibration of allergen preparations: methodological aspects and reproducibility. **Clin Allergy**, v.17, n.6, p.537-550, 1987.
- EICHLER, I.; GOTZ, M.; JARISCH, R.; EICHLER, H.G.; MOSS, R. Reproducibility of skin prick testing with allergen extracts from different manufacturers. **Allergy**, v.43, n.6, p.458-463, 1988.
- FINE, S.R.; FOGARTY, M.; GOEL, Z.; GRIECO, M.H. Correlation of serum theophylline levels with inhibition of allergen and histamine-induced skin tests. **Int Arch Allergy Appl Immunol**, v.61, n.2, p.241-244, 1980.
- FINEMAN, S.; SPECTOR, S.L.; NICKLAS, R.A.; BERNSTEIN, I.L.; BLESSING-MOORE, J.; STRUNK, R.C.; GUTMAN, A.A.; PEARLMAN, D.S.; LEE JR., R.E. Preliminary proposal for practice parameters. **Ann Allergy Asthma Immunol**, v.75, p.482-84, 1995.
- FOREMAN, J.C. Substance P and calcitonin gene-related peptide: effects on mast cells and in human skin. **Int Arch Allergy Appl Immunol**, v.83, n.3-4, p.366-371, 1987.
- FREW, A.J.; KAY, A.B. The relationship between infiltrating DC4 lymphocytes, activated eosinophils, and the magnitude of the allergen-induced late-phase cutaneous reaction in man. **J Immunol**, v.141, p.4158-4164, 1988.
- GARCIA-ORTEGA, P.; MERELO, A.; MARRUGAT, J.; RICHART, C.; GARCIA-ORTEGA, P.; MERELO, A.; MARRUGA, J. et al. Decrease of skin and bronchial sensitization following short-intensive scheduled immunotherapy in mite-allergic asthma. **Chest**, v.103, p.183-187, 1993.
- GOETZ, D.W.; JACOBSON, J.M.; APALISKI, S.J.; KEPPEGER, D.W.; MARTIN, M.E. Objective antihistamine side effects are mitigated by evening dosing of hydroxyzine. **Ann Allergy**, v.67, p.448-454, 1991.
- GRANT, J.A.; DANIELSON, L.; RIHOUX, J.P.; DEVOS, C. A double-blind, single-dose, crossover comparison of cetirizine, ebastine, epinastine, fexofenadine, terfenadine, and loratadine versus placebo: suppression of histamine-induced wheal and flare response for 24 h in healthy male subjects. **Allergy**, v.54, p.700-707, 1999.
- GREAVES, M.W. Antihistamines in dermatology. **Skin Pharmacol Physiol**, v.18, p.220-229, 2005.
- HAAHTELA, T.; JOKELA, H. Influence of the pollen season on immediate skin test reactivity to common allergens. **Allergy**, v.35, p.15-21, 1980.

- HÄGERMANRK, O.; HÖKFELT, T.; PERNOW, B. Flare and itch induced by substance P in human skin. **J Invest Dermatol**, v.71, p.233-235, 1978.
- HAJEER, M.Y.; MAO, Z.; MILLETT, D.T.; AYOUB, A.F.; SIEBERT, J.P. A new Three-Dimensional Method of Assessing Facial Volumetric Changes After Orthognathic Treatment. **Cleft Palate Craniofac J**, v.42, n.2, p.113-120, 2005.
- HANDA, S.; DOGRA, S.; KUMAR, B. Comparative efficacy of cetirizine and fexofenadine in the treatment of chronic idiopathic urticaria. **J Dermatolog Treat**, v.15, p.55-57, 2004.
- HOLGATE, S.; CHURCH, M.; LAWRENCE, L. **Allergy**. 2.ed. Mosby, 2000.
- JOSEPH, C.L.; PETERSON, E.L.; JOHNSON, C.C.; OWNBY, D.R. Racial differences in allergen sensitivity. **Chest**, v.125, n.1, p.85-92, 2004.
- KALINER, M.A.; WHITE, M.V.; ECONOMIDES, A.; CRISALIDA, T.; HALE, M.; LIAO, Y.; CHRISTIAN, C.D.; GEORGES, G.C.; WOODWORTH, T.H.; MEEVES, S.G. Relative potency of fexofenadine HCL 180 mg, loratadine 10 mg, and placebo using a skin test model of wheal-and-flare suppression. **Ann Allergy Asthma Immunol**, v.90, p.629-634, 2003.
- KALIVAS, J.; BRENEMAN, D.; THARP, M.; BRUCE, S.; BIGHY, M. Urticaria: Clinical efficacy of cetirizine in comparison with hydroxyzine and placebo. **J Allergy Clin Immunol**, v.86, p.1024-1028, 1990.
- KALOGEROMITROS, D.; KATSAROU, A.; ARMENAKA, M.; RIGOPOULOS, D.; ZAPANTI, M.; STRATIGOS, I. Influence of the menstrual cycle on skin-prick test reactions to histamine, morphine and allergen. **Clin Exp Allergy**, v.25, n.5, p.461-466, 1995.
- KAPLAN, H. Infrared spectral bands: the importance of color in the infrared. **InfraMation, Proceedings**, v.1, n.24-27, p.95-102, 2000.
- LEE, D.K.; GARDINER, M.; HAGGART, K.; FUJIHARA, S.; LIPWORTH, B.J. Comparative effects of desloratadine, fexofenadine, and levocetirizine on nasal adenosine monophosphate challenge in patients with perennial allergic rhinitis. **Clin Exp Allergy**, v.34, p.650-653, 2004.
- LEWIS, T. **The blood vessels of the human skin and their responses**. London: Shaw & Sons, 1927. p.46-466.
- LOUKAS, M.; KAPOUS, T.; LOUIS JR, R.G.; WARTMAN, C.; JONES, A.; HALLNER, B. Gross anatomical, CT and MRI analyses of the buccal fat pad with special emphasis on volumetric variations. **Surg Radiol Anat**, v.28, n.3, p.254-260, 2006.
- MILLER, J.; NELSON, H.S. Suppression of immediate skin tests by ranitidine. **J Allergy Clin Immunol**, v.84, n.6, fasc 1, p.895-899, 1989.
- MORGAN, M.M.; KHAN, D.A.; NATHAN, R.A. Treatment for allergic rhinitis and chronic idiopathic urticaria: focus on oral antihistamines. **Ann Pharmacother**, v.39, p.2056-2064, 2005.
- NELSON, H. S. Variables in allergy skin testing. **Immunol Allergy Clin North Am**, v.21, n.2, p.281-290, 2001.

- NELSON, H.S.; KNOETZER, J.; BUCHER, B. Effect of distance between sites and region of the body on results of skin prick tests. **J Allergy Clin Immunol**, v.97, n.2, p.596-601, 1996.
- NELSON, H.S.; ROSLONIEC, D.M.; MCCALL, L.I.; IKLE, D. Comparative performance of five commercial prick skin test devices. **J Allergy Clin Immunol**, v.92, n.5, p.750-6, 1993.
- OKAHARA, K.; MURAKAMI, T.; YAMAMOTO, S.; YATA, N. Skin microdialysis: detection of in vivo histamine release in cutaneous allergic reactions. **Skin Pharmacol**, v.8, n.3, p.113-118, 1995.
- OSTERBALLE, O.; WEEKE, B. A new lancet for skin testing. **Allergy**, v.34, n.209-212, 1979.
- PEPYS, J. Skin testing. **Br J Hosp Med**, v.14, p.412-417, 1975.
- PERSI, L.; DEMOLY, P.; HARRIS, A.G.; TISSERAND, B.; MICHEL, F.B.; BOUSQUET, J. Comparison between nasal provocation tests and skin tests in patients treated with loratadine and cetirizine. **J Allergy Clin Immunol**, v.103, p.591-594, 1999.
- PIETTE, V.; BOURRET, E.; BOUSQUET, J.; DEMOLY, P. Prick tests to aeroallergens: is it possible simply to wipe the device between tests ? **Allergy**, v.57, p.940-942, 2002.
- PIJNENBORG, H.; NILSSON, L.; DREBORG, S. Estimation of skin prick test reactions with a scanning program. **Allergy**, v.51, n.11, p.782-788, 1996.
- PLYTYCZ, B.; SELJELID, R. From inflammation to sickness: historical perspective. **Arch Immunol Ther Exp**, v.51, n.2, p.105-109, 2003.
- POULSEN, L.K.; LIISBERG, C.; BINDSLEV-JENSEN, C.; MALLING, H.J. Precise area determination of skin-prick tests: validation of a scanning device and software for a personal computer. **Clin Exp Allergy**, v.23, p.61-68, 1993.
- PUROHIT, A.; DUVERNELLE, C.; MELAC, M.; PAULI, G.; FROSSARD, N. Twenty-four hours of activity of cetirizine and fexofenadine in the skin. **Ann Allergy Asthma Immunol**, v.86, p.287-392, 2001.
- PUROHIT, A.; MELAC, M.; PAULI, G.; FROSSARD, N. Twenty-four hours of activity and consistency of activity of levocetirizine and desloratadine in the skin. **J Clin Pharmacol**, v.56, p.388-394, 2003.
- PUROHIT, A.; N'GOM, A.S.; DESLANDES, B.; PAULI, G.; FROSSARD, N. Similar rapid onset of action and magnitude of effect of fexofenadine and cetirizine as assessed by inhibition of histamine-induced wheal-and-flare reaction. **Ann Allergy Asthma Immunol**, v.93, p.562-667, 2004.
- RAO, K.S.; MENON, P.K.; HILMAN, B.C.; SEBASTIAN, C.S.; BAIRNSFATHER, L. Duration of the suppressive effect of tricyclic antidepressants on histamine-induced wheal-and-flare reactions in human skin. **J Allergy Clin Immunol**, v.82, n.5, fasc 1, p.752-757, 1988.
- ROCHES, A.D.; PARADIS, L.; BOUGEARD, Y.H.; GODARD, P.; BOUQUET, P.; CHANEZ, P. Long-term oral corticosteroid therapy does not alter the results of immediate-type allergy skin prick tests. **J Allergy Clin Immunol**, v.98, n.3, p.522-527, 1996.

- ROONGAPINUN, S.; WAJAJAMREON, S.; FOOANANT, S. Comparative efficacy of wheal-and-flare suppression among various non-sedating antihistamines and the pharmacologic insights to their efficacy. **J Med Assoc Thai**, v.87, p.551-555, 2004.
- ROSÉN, B-G.; BLUNT, L.; THOMAS, T.R. On in-vivo skin topography metrology and replication techniques. **Journal of Physics: Conference Series**, v.13, p.325-329, 2005.
- SCHLOSS, O.M. A case of allergy to common foods. **Am J Dis Child**, v.3, p.341, 1912.
- SERAFIN, W.E.; AUSREN, K.F. Current concepts: mediation of immediate hypersensitivity reactions. **N Engl J Med**, v.317, p.30, 1987.
- SIMONS, F.E.R.; SUSSMAN, G.L.; SIMONS, K.J. Effect of the H₂-antagonist cimetidine on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of the H₁-antagonists hydroxyzine and cetirizine in patients with chronic urticaria. **J Allergy Clin Immunol**, v.95, p.685-693, 1995.
- SKASSA-BROCIEK, W.; MANDERSCHIED, J.C.; MICHEL, F.B.; BOUSQUET, J. Skin test reactivity to histamine from infancy to old age. **J Allergy Clin Immunol**, v.80, n.5, p.711-716, 1987.
- SMITH, R.V. The digital camera in clinical practice. Otolaryngol. **Clin North Am**, v.35, n.6, p.1175-1189, 2002.
- SPAETH, J.; KLIMEK, L.; MOSGES, R. Sedation in allergic rhinitis is caused by the condition and not by antihistamine treatment. **Allergy**, v.51, p.893-906, 1996.
- SPECTOR, S.L. Effect of beta-adrenergic agents on skin test responses and bronchial challenge responses. **Chest**, v.73, n.6, p.976-977, 1978.
- SULLIVAN, P.W.; NICHOL, M.B. The economic impact of payer policies after the Rx-to-OTC switch of second-generation antihistamines. **Value Health**, v.7, p.402-412, 2004.
- TASHIRO, M.; HORIKAWA, E.; MOCHIZUKI, H.; SAKURADA, Y.; KATO, M. et al. Effects of fexofenadine and hydroxyzine on brake reaction time during car-driving with cellular phone use. **Hum Psychopharmacol**, v.20, p.501-509, 2005.
- TRIPATHI, A.; PATTERSON, R. Clinical interpretation of skin test results. **Immunol. Allergy Clin North Am**, v.21, n.2, p.291-300, 2001.
- VIEIRA DOS SANTOS, R.; CAVALCANTE LIMA, H. Cinética da reação cutânea induzida por puntura através de fotografia digital e termometria cutânea. **Rev Bras Alergia Imunopatol**, 2007. (no prelo)
- VIEIRA DOS SANTOS, R.; TITUS, R.G.; CAVALCANTE LIMA, H. Objective evaluation of skin prick test reactions using digital photography. **Skin Res Technol**, v.13, n.2, p.148-153, 2007.
- VOHLONEN, I.; TERHO, E.O.; KOIVIKKO, A.; VANTO, T.; HOLMEN, A.; HEINONEN, O.P. Reproducibility of the skin prick test. **Allergy**, v.44, n.8, p.525-531, 1989.
- WOHRL, S.; VIGL, K.; BINDER, M.; STINGL, G.; PRINZ, M. Automated measurement of skin prick tests: an advance towards exact calculation of wheal size. **Exp Dermatol**, v.15, n.2, p.119-124, 2006.

WOOD, R.A.; PHIPATANAKUL, W.; HAMILTON, R.G.; EGGLESTON, P.A. Comparison of skin prick tests, intradermal skin tests, and RASTs in the diagnosis of cat allergy. **J Allergy Clin Immunol**, v.103, n.5, fasc. 1, p.773-779, 1999.

ZUBERBIER, T.; BINDSLEV-JENSEN, C.; CANONICA, W.; GRATTAN, C.E.H.; GREAVES, M.W. et al. EAACI / GA2LEN / EDF guideline: management of urticaria. **Allergy**, v.61, p.321-331, 2006.

ANEXO 1
DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS

1

ANEXO 2
ARTIGOS PUBLICADOS RELACIONADOS
E NÃO RELACIONADOS À TESE

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)