

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

GISELE VIEIRA SECHI

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA ENTRE O *PRICK TEST* E O TESTE
INTRADÉRMICO NO DIAGNÓSTICO DA SENSIBILIDADE A ÁCAROS EM CÃES
COM DERMATITE ATÓPICA *STRICTO SENSU***

*(Comparative evaluation between the Prick Test and intradermal test in the diagnosis
of sensitivity to mites in dogs with atopic dermatitis sensu stricto)*

CURITIBA

2017

GISELE VIEIRA SECHI

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA ENTRE O *PRICK TEST* E O TESTE
INTRADÉRMICO NO DIAGNÓSTICO DA SENSIBILIDADE A ÁCAROS EM CÃES
COM DERMATITE ATÓPICA *STRICTO SENSU***

*(Comparative evaluation between the Prick Test and intradermal test in the
diagnosis of sensitivity to mites in dogs with atopic dermatitis sensu stricto)*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde, Tecnologia e Produção Animal, da Escola de Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marconi Rodrigues de Farias

Co-orientador: Dr. Victor do Espírito Santo Cunha

CURITIBA

2017

TERMO DE APROVAÇÃO
(Responsabilidade da Secretaria do PPGCA)

(Entregue pela secretaria)

SUMÁRIO

	Página
DEDICATÓRIA	vi
AGRADECIMENTOS	vii
FORMATO DA DISSERTAÇÃO/ TESE	viii
RESUMO GERAL	ix
ABSTRACT	x
LISTA DE ABREVIATURAS	1
LISTA DE TABELAS E QUADROS	2
LISTA DE FIGURAS	3
CAPÍTULO 1	4
REVISÃO DA LITERATURA	4
1 TESTE DE PUNTURA NA MEDICINA	6
1.1 HISTÓRICO	7
1.2 REATIVIDADE DO TESTE DE PUNTURA	7
1.3 INDICAÇÕES DO TESTE DE PUNTURA	8
1.4 TESTE DE PROFICIÊNCIA	9
1.5 TÉCNICA DO TESTE DE PUNTURA EM HUMANOS	10
1.5.1 Preparo da pele	10
1.5.2 Extratos alergênicos, controle positivo e controle negativo	10
1.5.3 Seleção do dispositivo e realização da puntura	13
1.5.4 Leitura e interpretação do teste	14
1.6 RESULTADOS FALSO-NEGATIVOS E FALSO-POSITIVOS	16
1.7 CONTRAINDICAÇÕES DO TESTE DE PUNTURA	17
1.8 VARIÁVEIS QUE INFLUENCIAM NO TESTE DE PUNTURA	17
1.9 COMPARAÇÃO ENTRE TESTES ALÉRGICOS	19
1.9.1 Teste de puntura e teste intradérmico	19
1.9.2 Teste de puntura e testes <i>in vitro</i>	20
2 PRICK TEST NA MEDICINA VETERINÁRIA	22
REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO 2	35

ARTIGO CIENTÍFICO (Avaliação comparativa entre o <i>Prick Test</i> e o teste intradérmico no diagnóstico da sensibilidade a ácaros em cães com dermatite atópica).....	35
CAPÍTULO 3.....	53
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53
ANEXOS.....	54

Dedico este trabalho aos meus pais, José e Rose, e a todos os animais que me estimulam a ser uma profissional cada dia melhor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado condições para estudar e por ter me dado forças para seguir o caminho que eu sempre almejei.

Ao meu orientador, Marconi Rodrigues de Farias, pela paciência, pelos ensinamentos e pelas valiosas lições que me deu, tanto na veterinária quanto na vida pessoal.

Ao meu co-orientador, Victor do Espírito Santo Cunha, pela disponibilidade em ajudar com o projeto e pela orientação, sem a qual esse projeto não teria sido possível.

Ao meu pai José e a minha mãe Roseni, que sempre estiveram ao meu lado, trazendo-me paciência, aprendizado, amor e fortaleceram-me nos momentos em que mais precisei. Agradeço pelo esforço e pela dedicação que tiveram comigo.

Aos meus animais, por me ensinarem o significado do amor verdadeiro e por serem uma grande influência na escolha de minha profissão.

Agradeço as minhas amigas, Bruna e Rayane, por terem me acompanhado durante esses anos de dificuldades, alegrias e aprendizado. Sem vocês a minha formação não seria a mesma.

A todos os professores do mestrado, pela dedicação e pelos ensinamentos tão valiosos disponibilizados durante esses dois anos.

À minha companheira de mestrado, Ana Cerdeiro, pela ajuda com o desenvolvimento do projeto.

À empresa FDA Allergenic, pelo fornecimento dos extratos alergênicos e pelo investimento no projeto.

E, finalmente, agradeço a CAPES, pela bolsa de estudos, sem a qual este projeto não teria sido realizado.

FORMATO DA DISSERTAÇÃO/ TESE

A presente dissertação é composta por capítulos.

O capítulo 1 apresenta uma revisão da literatura e contextualização do tema.

O capítulo 2 trata-se de artigo científico completo, contendo referências, e formatado nas normas da revista para o qual será submetido.

O capítulo 3 finaliza esta dissertação com conclusões gerais, considerações finais deste trabalho e sugestões para estudos futuros.

RESUMO GERAL

Dermatite atópica (DA) é uma dermatopatia imune-inflamatória, pruriginosa, crônica e recorrente normalmente ocasionada devido a uma hiper-reatividade tegumentar contra alérgenos ambientais, principalmente aos ácaros domiciliares. Os testes alérgicos mais utilizados em cães para identificação dos alérgenos associados à DA são os intradérmicos e sorológicos. O *Prick Test* tem sido utilizado como técnica padrão para identificação de sensibilização alérgica em humanos, porém na medicina veterinária ainda não há padronização em relação à técnica, bem como conclusões se o mesmo pode substituir testes alérgicos convencionais. O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia do *Prick Test* na identificação da sensibilidade a alérgenos de ácaros domiciliares em cães com DA *stricto sensu* e comparar os resultados com o do teste intradérmico (TID). O TID e *Prick Test* com *Dermatophagoides farinae* (Df), *D. pteronyssinus* (Dp) e *Blomia tropicalis* (Bt) foram inicialmente realizados em 10 cães hígidos (grupo controle) para avaliação do potencial irritativo dos testes. Após esta etapa, foi realizada uma comparação entre o *Prick Test* e o TID em 39 cães com DA *stricto sensu* (grupo de estudo). No grupo de cães controles nenhum animal reagiu ao *Prick Test* com os extratos alergênicos de ácaros na concentração de 10 HEP, e no TID, a concentração de 100 UBE/mL foi selecionada com base em limiar irritativo para a realização do teste em cães com DA. Dos 39 cães com DA testados, 18 (46,15%) reagiram no *Prick Test* e cinco (12,82%) reagiram ao TID para algum dos três ácaros avaliados, sendo que 30,77% dos cães apresentaram reação a Df no *Prick Test* e 10,25% no TID ($p=0,01$); 25,64% reagiram a Dp no *Prick Test* e nenhum no TID ($p=0,0$) e 28,20% foram positivos para Bt no *Prick Test* e 5,21% no TID ($p=0,002$). Em apenas dois animais ambos os testes identificaram sensibilidade aos mesmos antígenos. O presente estudo identificou que o *Prick Test* apresentou mesma especificidade que o TID e foi capaz de identificar a sensibilidade a ácaros de forma mais frequente em cães com DA, sendo uma boa alternativa aos testes alérgicos convencionais.

Palavras-chave: Alergia; Teste alérgico; *Dermatophagoides farinae*; *Dermatophagoides pteronyssinus*; *Blomia tropicalis*.

ABSTRACT

Atopic dermatitis (AD) is an immune-inflammatory, pruritic, chronic and recurrent dermatopathy usually due to a tegumentary hyperreactivity against environmental allergens, especially house dust mites. The allergic tests most frequently used in dogs to identify the allergens associated with AD are the intradermal and serological. The *Prick Test* has been used as a standard technique for identification of allergic sensitization in humans, however in veterinary medicine there is no standardization about the technique, as well as conclusions about whether it can replace conventional allergic tests. The aim of the present study was to evaluate the efficacy of the *Prick Test* to identify the sensitivity to house dust mite allergens in dogs with AD *sensu stricto* and compare the results with the intradermal test (IDT). The IDT and *Prick Test* with *Dermatophagoides farinae* (*Df*), *D. pteronyssinus* (*Dp*) and *Blomia tropicalis* (*Bt*) were initially performed in 10 healthy dogs (control group) to evaluate the irritative potential of the test. After this, a comparison between *Prick Test* and IDT was performed in 39 dogs with AD *sensu stricto* (study group). No animals reacted to the *Prick Test* with the allergen extracts of mites at 10 HEP concentration, in the control group, and in the IDT, the concentration of 100 UBE/mL was selected based on an irritative threshold to test in dogs with AD. Of the 39 dogs with AD tested, 18 (46,15%) reacted in the *Prick Test* and five (12,82%) reacted to the IDT for any of the three mites evaluated, 30,77% reacted to *Df* in the *Prick Test* and 10,25% no IDT ($p=0.01$); 25,64% reacted to *Dp* in *Prick Test* and none in IDT ($p=0.0$) and 28,20% were positive for *Bt* in *Prick Test* and 5,21% on IDT ($p=0.002$). In only two animals both tests identified the same sensitivity to the same antigens. The present study identified that the *Prick Test* had the same specificity as IDT and it was able to identify the mite sensitivity more frequently in dogs with AD, being a good alternative to the conventional allergic tests.

Key-words: Allergy; Allergic test; *Dermatophagoides farinae*; *Dermatophagoides pteronyssinus*; *Blomia tropicalis*.

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
<i>Bt</i>	<i>Blomia tropicalis</i>
cm ²	Centímetro cúbico
CV	Coeficiente de variação
cm	Centímetro
<i>cut off</i>	Ponto de corte
D	Diâmetro maior
d	Diâmetro menor
<i>Df</i>	<i>Dermatophagoides farinae</i>
<i>Dp</i>	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
DA	Dermatite atópica
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbant assay</i>
FceR1-alfa	Receptor de membrana do mastócito que se liga à porção Fc da molécula de IgE
°C	Graus Celsius
HEP	<i>Histamine equivalent prick</i>
IgE	Imunoglobulina-E
mg	Miligrama
mL	Mililitros
mm	Milímetro
µL	Microlitro
ORVA	Obstrução recorrente das vias aéreas
PR	Paraná
RJ	Rio de Janeiro
TID	Teste intradérmico
UBE	Unidade biológica equivalente

LISTA DE TABELAS E QUADROS DA REVISÃO DA LITERATURA

	Página
Quadro 1 Painel de alérgenos ambientais sugeridos para <i>Prick Test</i> em pacientes na Europa	10
Quadro 2 Avaliação do teste de punção pelo método qualitativo recomendado pela Sociedade Escandinávia de Alergia em 1974.....	15
Quadro 3 Medicamentos que possuem efeito inibitório sobre a reatividade cutânea e o seu período de influência	19
Quadro 4 Comparação entre as vantagens e desvantagens dos testes alérgicos	21

LISTA DE TABELAS E QUADROS DO ARTIGO CIENTÍFICO

	Página
Tabela 1 Resultados de reatividade no teste percutâneo e no teste intradérmico dos cães com dermatite atópica do estudo.....	43

LISTA DE FIGURAS DA REVISÃO DE LITERATURA

	Página
Figura 1 Mastócito com Imunoglobulina-E em superfície de membrana, sendo desgranulado após estímulo alergênico ocasionado com o teste de puntura.....	8
Figura 2 Exemplo de puntor plástico isolado para a aplicação única de um extrato (a) e dispositivo plástico com múltiplos puntores integrados para a aplicação simultânea de dez extratos alergênicos distintos (b).....	14

LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO CIENTÍFICO

	Página
Figura 1 Puntor plástico com dupla ponta (Duotip test-II®) utilizado para realizar o teste percutâneo nos cães do estudo. B- Extratos alergênicos glicerinados para <i>Df</i> , <i>Dp</i> e <i>Bt</i> na concentração de 10 HEP, controle positivo e controle negativo utilizados no teste percutâneo.....	40
Figura 2 A – Aplicação de 50 µL de extrato alergênico para a realização do teste intradérmico em cão do estudo. B- Extratos alergênicos para <i>Df</i> , <i>Dp</i> e <i>Bt</i> , controle positivo e controle negativo utilizados para a realização do teste intradérmico.....	40
Figura 3 <i>Prick Test</i> (linha inferior) e teste intradérmico (linha superior) realizados simultaneamente em um cão com DA do estudo, evidenciando a formação de pápulas com o controle positivo, controle negativo e extratos alergênicos para <i>Df</i> , <i>Dp</i> e <i>Bt</i> para ambos os testes.....	44

CAPITULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

A dermatite atópica (DA) é uma dermatopatia imune-inflamatória, pruriginosa, crônica e recorrente (Miller et al., 2013) que interfere negativamente na qualidade de vida dos cães e de seus proprietários (Olivry et al., 2010; Gonzales et al., 2013). Acomete cerca de 10 a 15% dos cães (Schlotter et al., 2011), com maior ocorrência em animais de raças puras, adultos jovens, independente do gênero (Hill, 2009).

Suas características clínicas incluem prurido moderado a grave, crônico, primário e perene, associado a eritema local, alopecia autoinduzida, escoriações, disqueratoses, liquenificação tegumentar e comorbidades como infecções recorrentes, blefaroconjuntivite e otite crônica recorrente (Olivry et al., 2010).

Em relação à topografia lesional, esta morbidade acomete principalmente pavilhões auriculares e condutos auditivos, extremidades distais dos membros, mormente torácicos, axilas e região inguinal (Miller et al., 2013).

Cães com DA são geneticamente predispostos a alterações na formação da barreira cutânea, o que provoca maior contato do sistema imunológico tegumentar com alérgenos ambientais, microbianos, alimentares e irritantes primários (McCandless et al., 2014). Estes alérgenos, uma vez que penetram na barreira cutânea, são capturados pelas células apresentadoras de antígeno, sendo que as mesmas migram para os glânglios linfáticos, e realizam a apresentação aos linfócitos T *naive*, que diferenciam-se em células Th2 (Jacquet, 2013). As células Th2 por sua vez, estimulam a proliferação de linfócitos B e plasmócitos, e a produção de imunoglobulina-E (IgE) alérgeno-específica (Alberts et al., 2004). Estas imunoglobulinas migram para a derme, onde ligam-se às células de Langerhans e também a receptores específicos na parede celular dos mastócitos. Quando ocorre a ligação desta molécula a um alérgeno em que o animal foi previamente sensibilizado, ocorre desgranulação mastocitária e inflamação (Miller et al, 2013).

Os principais alérgenos ambientais envolvidos na patogênese da DA são provenientes de ácaros da poeira doméstica, pólenes, fungos anemófilos e de insetos (Hill & DeBoer, 2001; Olivry et al., 2010). Porém os alérgenos provenientes dos ácaros da poeira doméstica são os principais responsáveis pela sensibilização e pelo desenvolvimento dos sinais clínicos da DA em cães

com hábitos predominantemente domiciliares (Randall et al., 2003; Fernández-Caldas, 2013). Esses ácaros habitam principalmente em roupas de cama, travesseiros, carpetes, tapetes e outros materiais têxteis do domicílio. Variações de umidade e temperatura do ar determinam o local onde vivem os ácaros (Solomon et al., 2012).

Os alérgenos dos ácaros domiciliares, particularmente dos ácaros *Dermatophagoides farinae* (Df) e *D. pteronyssinus* (Dp) (família Pyroglyphidae) são os principais alérgenos responsáveis pela hipersensibilidade imediata em cães com DA (Randall et al., 2003; Mueller et al., 2015), entretanto, alérgenos de ácaros da família Glycyphagidae, particularmente os do ácaro *Blomia tropicalis* (Bt), também são uma causa importante de reações alérgicas em seres humanos (Sade et al., 2010), e cães com DA no Brasil (Cunha et al., 2012; Assunção et al., 2017; Oliveira, 2015).

O diagnóstico da DA envolve o histórico do paciente, exclusão de outras dermatopatias pruriginosas, como acariase sarcóptica, dermatite alérgica a saliva de artrópodes e reações cutâneas adversas a alimentos, e a identificação de sinais clínicos que se enquadrem nos critérios estabelecidos por Favrot (Anexo 1) (Favrot et al., 2010; Olivry et al., 2010). Esse conjunto de critérios permite subsidiar o diagnóstico presuntivo de DA com relevante grau de acerto. Quando há a combinação de pelo menos cinco dos oito critérios, tem-se uma sensibilidade de 85% e especificidade de 79% no diagnóstico, e quando há pelo menos seis critérios a sensibilidade e a especificidade são de, 42% e 94%, respectivamente (Olivry et al., 2010).

Apesar de o diagnóstico presuntivo da DA ser clínico, a utilização de testes alérgicos para identificação da sensibilização a alérgenos ambientais que precipitam ou exacerbam o eczema atópico são fundamentais para implementar a imunoterapia alérgeno-específica, e orientar a exclusão ambiental. Os testes alérgicos mais utilizados em cães para identificação dos alérgenos associados à DA *stricto sensu* são os intradérmicos e sorológicos (Olivry et al., 2010; Schneider et al., 2013).

O teste cutâneo intradérmico (TID) é considerado um procedimento rápido e seguro, em que extratos alergênicos são aplicados por via intradérmica para avaliar, de acordo com a intensidade da reação formada, se há hipersensibilidade mediada por IgE aos alérgenos utilizados (Cunha et al., 2007; Sung & Huang, 2009; Ferreira, 2013). Este método apresenta algumas

desvantagens, tais como aplicação de múltiplas injeções no animal, utilização de sedação pela dificuldade de contenção em alguns casos, reações de contato irritante e ocorrência de resultados falso-positivos e/ou negativos. Estes resultados errôneos podem ocorrer devido a vários fatores, incluindo técnica inadequada, interferência de fármacos, seleção incorreta de extratos alérgicos, cálculo de limiar irritativo que selecione concentrações baixas do extrato e cães com DA não IgE dependente (simile) (Hensel et al., 2015).

Além do TID, existem também os testes sorológicos, que determinam níveis séricos de IgE alérgenos específicos. Destes, o método de ELISA parece ser superior aos demais. A principal desvantagem desta técnica é a sua baixa especificidade, que muitas vezes mostra reações positivas em cães não alérgicos (Hensel et al., 2015). O desenvolvimento de novos reagentes, como um receptor de mastócito recombinante de alta afinidade para cadeia α da IgE-humana (Fc ϵ R1 α), parece melhorar a especificidade do exame sorológico (Hiller, 2002).

Ambos os testes apresentam falta de padronização, e podem apresentar implicações errôneas em decorrência dos resultados falso-positivos e falso-negativos (Hensel et al., 2015).

Os testes de puntura (*Prick Test*) têm sido utilizados como técnica padrão para identificação de sensibilização alérgica em humanos com asma e rinite alérgicas, devido à rapidez de sua realização e por apresentarem maior segurança do que o TID (Rossi et al., 2013; Motta et al., 2005).

1 TESTE DE PUNTURA NA MEDICINA

Desde o reconhecimento de que várias doenças como a dermatite de contato, a urticária, a rinite, a asma e a anafilaxia podem ser causadas pelo contato e/ou exposição a alérgenos, estabeleceu-se a prática de re-exposição

às citadas substâncias como meio auxiliar no diagnóstico destas doenças (Motta et al., 2005).

Os testes cutâneos usados na alergia clínica constituem uma ferramenta auxiliar importante no diagnóstico das doenças alérgicas. O teste de puntura é o mais seguro, de fácil execução, tem boa reprodutibilidade e é considerado o padrão ouro para o diagnóstico da sensibilidade em alergopatias (Motta et al., 2005; Fatteh et al., 2014).

1.1 HISTÓRICO

Os testes *in vivo* iniciaram o seu desenvolvimento com Blackely, em 1873, quando o mesmo realizou uma escarificação de 1 cm² em seu próprio antebraço e a cobriu com grãos de pólen envoltos em pedaço de fibra molhada. Ao final de seis horas de contato com os grãos, o mesmo apresentou prurido intenso e uma resposta com edema (Blackely, 1880).

Em 1924, Lewis & Grant descreveram pela primeira vez o teste de puntura, também chamado de *Prick Test*, porém os métodos de escarificação e intradérmico foram enfaticamente defendidos pelos clínicos da época.

Nas décadas de 30 e 40, a escola alemã padronizou o teste de contato e os métodos para se determinar as concentrações de algumas das substâncias que são usadas nesses testes até hoje (Rapaport & Becker, 1949).

Em 1968, o teste de puntura foi adaptado por Pepys, e o interesse na técnica foi renovado. O mesmo utilizou uma agulha hipodérmica metálica e uma gota de extrato alergênico aplicado na pele. A puntura tegumentar com pouca pressão, possibilitava que um canal fosse formado e o extrato alergênico penetrasse na epiderme. Essas pequenas modificações subsidiaram a padronização da metodologia do *Prick Test* (Pepys, 1968).

1.2 REATIVIDADE DO TESTE DE PUNTURA

O teste de puntura é considerado um método sensível e específico para avaliar a sensibilização alérgica mediada por IgE, também a presença e grau de reatividade cutânea como um marcador de sensibilidade em órgãos alvo como olhos, nariz, pulmões, intestinos e pele (Daher et al., 2009).

Quando alérgenos relevantes são introduzidos na pele, o IgE alérgeno específico ligado ao receptor na superfície dos mastócitos estimula a sua desgranulação, fazendo com que a histamina e outros mediadores inflamatórios sejam liberados (Figura 1) (Motta et al., 2005). Uma pápula e eritema são formados em minutos após a introdução do alérgeno na epiderme e esta reação pode durar até 30 minutos (Fikrig et al., 2005; Antunes et al., 2009).

Muitos alérgenos podem ser testados simultaneamente pelo fato da reação imunológica ocorrer localmente (Heinzerling et al., 2013).

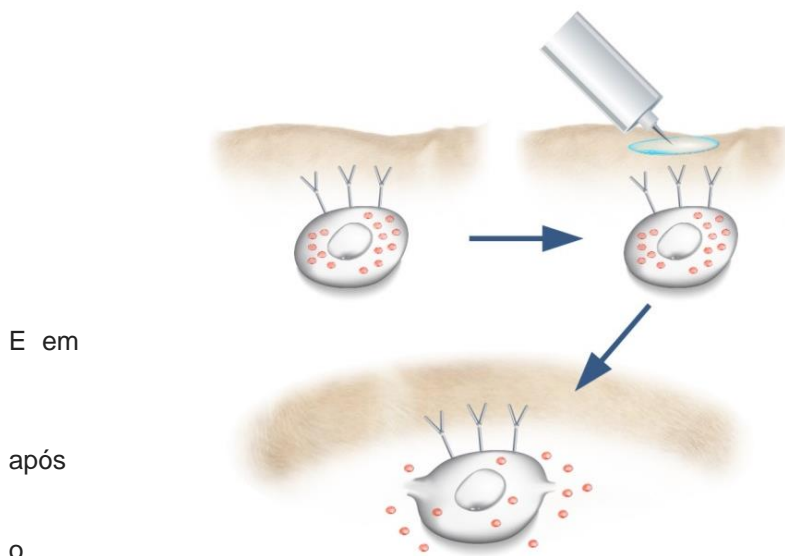


Figura 1. Mastócito com Imunoglobulina-superfície de membrana, sendo desgranulado estímulo alérgênico ocasionado com teste de puntura (Fonte: A

E em
após
o
autora, 2016).

1.3 INDICAÇÕES DO TESTE DE PUNTURA

O teste é indicado quando se suspeita de uma reação de hipersensibilidade do tipo I (tipo imediato) mediada por IgE. A sua aplicação pode ser útil numa grande variedade de situações, como na rinite, conjuntivite, DA, urticária, angioedema, alergia alimentar, alergia à picada de insetos,

alergia a fármacos e anafilaxia (Bernstein et al., 2008; Antunes et al., 2009; Bousquet et al., 2012).

O resultado do teste subsidia o diagnóstico de sensibilização, porém um resultado positivo pode indicar que o indivíduo possui anticorpos IgE específicos para o alérgeno testado, mas não significa, necessariamente, que o mesmo seja responsável pelos sinais clínicos por ele apresentado (Motta et al., 2005). Assim, o resultado do teste de puntura deve ser cuidadosamente interpretado com base no histórico clínico e sinais apresentados pelo paciente, com o intuito de instituir uma terapia específica e correta para cada indivíduo (Heinzerling et al., 2013).

Outra indicação do teste de puntura é a detecção da predisposição para o desenvolvimento de doenças atópicas, que pode ser realizado com um número limitado de alérgenos, ou para identificar todos os sujeitos sensibilizados em uma população. O *Prick Test* pode ser também utilizado em estudos epidemiológicos para determinar tendências de sensibilização, diferenças regionais e padronização de extratos alergênicos (Heinzerling et al., 2013).

1.4 TESTE DE PROFICIÊNCIA

Padronizações para o *Prick Test* foram desenvolvidas com base em testes de proficiência para que a variabilidade ocasionada por diferentes técnicos fosse reduzida. A introdução de testes de proficiência podem aumentar a reprodutibilidade dos testes alérgicos e exercer um impacto positivo nos resultados obtidos (Oppenheimer & Nelson, 2006).

Um protocolo para teste de proficiência foi estabelecido pela Academia Americana de Alergia, Asma e Imunologia em 2008, aonde se sugeriu que após a seleção do dispositivo que será utilizado para o teste, devem ser realizadas punturas com a solução de histamina e com a solução salina. Os resultados da histamina devem ser mensurados em 8 minutos, e o resultado da salina em 15 minutos. Com base nestes resultados, o coeficiente de variação (CV) das pápulas deve ser realizado, sendo que o técnico é considerado apto para a realização do teste quando o CV das pápulas de histamina são inferiores a 30%, as pápulas de salina fornecem halos menores que 3 mm e o eritema que circunda a pápula é menor que 10 mm (Bernstein et al., 2008).

Todavia, na Europa o coeficiente de variação entre as pápulas de histamina sugerido é de menos de 20% (Dreborg, 1989). Segundo Malling et al. (2016), foi verificado que menos de 35% dos técnicos conseguiam atingir um CV menor que 20%.

Os estudos com base em teste de proficiência na medicina ainda apresentam variação conforme o valor de CV ideal para considerar o técnico apto. Contudo, é sugerido que os mesmos realizem avaliações rotineiras da sua proficiência para que possam garantir padrões básicos do *Prick Test*. Ao melhorar estes métodos de avaliação, a acurácia do teste pode ser aprimorada, o que auxilia o diagnóstico, tratamento e qualidade de vida dos pacientes alérgicos (Fatteh et al., 2014; Malling et al., 2016).

1.5 TÉCNICA DO TESTE DE PUNTURA EM HUMANOS

1.5.1 Preparo da pele

A pele do paciente deve ser limpa com algodão e álcool etílico, não devendo estar lesionada. Os locais mais comuns para a realização do teste incluem a face ventral do antebraço e as costas, porém a pele das costas é 20% mais sensível que o antebraço, podendo produzir pápulas maiores e conseqüentemente com maior reatividade. Se o antebraço é selecionado, o teste deve ser realizado a uma distância de 5 cm do punho e 3 cm da fossa anticubital (Nelson et al., 1996; Almeida et al., 2001).

Após a limpeza e seleção do local, a pele é então demarcada com uma caneta dermatográfica, com a finalidade de identificar os pontos de aplicação dos extratos alérgicos. Os pontos devem ser demarcados com um intervalo mínimo de 2 a 3 cm entre eles para evitar resultados falso-positivos devido à contaminação cruzada entre os extratos alérgicos (Heinzerling et al., 2013).

1.5.2 Extratos alérgicos, controle positivo e controle negativo

As soluções usadas para controle negativo (CN), como a salina, fenol a 0,5%, ou glicerina a 50%, servem para detectar dermatografismo e reatividade inespecífica da pele ao diluente e/ou ao puntor (Berstein et al., 2008; Antunes et al., 2009).

O dihidroclorato de histamina, na concentração de 10 mg/mL, é utilizado como controle positivo (CP), e ajuda a detectar a supressão por medicamentos ou doença, e variações na performance dos técnicos (Mailing, 1984; Daher et al., 2009).

Os extratos alergênicos são substâncias complexas e que contém uma gama de proteínas que podem ser separadas por eletroforese e visualizadas pelo *immunoblotting*, porém apenas uma pequena parte dessas proteínas é potencialmente alergênica (Bernstein et al., 2008).

Se a proteína específica à qual a IgE é dirigida num determinado indivíduo não está representada no extrato alergênico, devido a processos de fabricação ou devido a instabilidade das proteínas, isto pode resultar em um teste negativo, mesmo que o indivíduo seja alérgico à substância quando encontrada na natureza (Platts & Chapman, 1991; Larsen & Dreborg, 2008).

Preparados de diferentes fabricantes do mesmo alérgeno podem variar no seu conteúdo e na proporção de alérgenos maiores, em decorrência de diferentes fontes de material e técnicas de preparação dos alérgenos. Cada fabricante utiliza uma metodologia e uma unidade para expressar a potência do extrato. Essa variabilidade entre os fabricantes leva a uma dificuldade de comparar diferentes produtos e resultados dos testes (Mari et al., 2003; Focke et al., 2009).

Um importante pré-requisito para a realização de teste cutâneo com resultados confiáveis é a disponibilidade de preparações alergênicas estáveis e padronizadas, isto é, com potência, estabilidade e composição conhecidas (Antunes et al., 2009; Daher et al., 2009). Os extratos alergênicos devem preencher as seguintes características: a- conter alérgenos ativos em quantidades proporcionais àquelas encontradas em suas fontes naturais do alérgeno; b- a concentração deve ser conhecida e expressa em unidades biológicas definidas; c- não deve haver contaminação com outros alérgenos; d- os produtos finais não devem conter componentes irritantes ou tóxicos; e- deve ter estabilidade documentada dentro dos limites aceitáveis (Daher et al., 2009). A qualidade e a quantificação dos alérgenos presentes nos extratos é muito

importante para interpretação e valorização dos testes alérgicos, todavia não existe uniformidade nas concentrações disponíveis para uso clínico e tampouco equivalência entre as unidades utilizadas por laboratórios diversos (King & Lockey, 2003).

Apenas uma quantidade limitada de extratos é padronizada, porém a situação tem melhorado com a introdução da bioequivalência. Bioequivalência é representada por HEP (*Histamine Equivalent Prick*), e 10 HEP de um extrato é definido como a concentração alérgênica que produz uma pápula do mesmo tamanho que a pápula de histamina a uma concentração de 10 mg/mL (Dreborg, 1992; Jeong et al., 2011).

O extrato alérgênico se deteriora com o tempo, sendo que este processo é acelerado pela diluição e altas temperaturas. Extratos alérgênicos em solução aquosa perdem progressivamente a potência, que pode ser retardada, mas não evitada pelo uso de conservantes. Glicerina a 50% é mais eficaz para evitar a perda de potência, e deve ser usada em todos os extratos armazenados para uso no teste de puntura. Com a adição da glicerina as soluções se tornam viscosas, o que também permite maior estabilidade na pele do paciente. Os extratos alérgênicos devem ser sempre mantidos sob refrigeração (2-8°C) quando não estão em uso (Nelson, 1981; Berstein et al., 2008).

As principais substâncias usadas nos testes *in vivo* podem ser provenientes de extratos de ácaros, fungos, alimentos, polens, insetos e outros animais, bactérias, hormônios, enzimas, fármacos ou substâncias químicas (Motta et al., 2005).

A escolha dos alérgenos a serem testados varia conforme a localização em que o paciente reside, o histórico clínico, época de polinização, tipo e níveis de polens/esporos ao longo do ano e composição do ar. Com base nisso painéis com os principais alérgenos (Quadro 1) já foram criados para facilitar o diagnóstico em algumas localidades (Oppenheimer & Nelson, 2006; Bousquet et al., 2012).

Quadro 1. Painel de alérgenos ambientais sugeridos para *Prick Test* em pacientes na Europa

Pólens	<i>Betula verrucosa</i> ; <i>Cupressus sempervirens</i> ; <i>Artemisia vulgaris</i> ; <i>Olea europaea</i> ou <i>Fraxinus exelsior</i> ; <i>Parietaria officinalis</i> ;
--------	--

	<i>Platanus occidentalis; Ambrosia eliator;</i> Gramma: uma espécie ou pólen mistos.
Ácaros	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> <i>Dermatophagoides farinae</i>
Animais	<i>Felis domesticus</i> <i>Canis familiaris</i>
Fungos	<i>Alternaria alternata</i> <i>Cladosporium album</i>
Insetos	<i>Blatella sp.</i>

Fonte: Adaptado de Bousquet et al., 2012.

1.5.3 Seleção do dispositivo e realização da puntura

Para a realização do teste de puntura a pele é perfurada com o auxílio de um puntor, que realizará o rompimento da epiderme, através da qual o extrato alergênico penetrará (Berstein et al., 2008).

O puntor pode ser utilizado na pele em um ângulo de 45° a 60° elevando-a para realizar a penetração do extrato, ou pode ser utilizado em um ângulo de 90° com pressão leve, para atravessar a gota do extrato durante um segundo (Dreborg, 1989). Esse segundo método parece fornecer maior precisão para o teste (Antunes et al., 2009).

Os puntores devem ser estéreis e um dispositivo novo deve ser utilizado para cada ponto de aplicação, afim de evitar contaminação entre os extratos (Piette et al., 2002). Dispositivos com limite de penetração de 1 mm são igualmente eficientes e menos dolorosos quando comparados com dispositivos de 1,4 a 1,6 mm de penetração. O limite de penetração é fundamental para a eficácia do teste e conforto do paciente, visto que ele inibe a penetração excessiva até a derme (Osterballe & Weeke, 1979).

Em alguns casos o puntor é mergulhado diretamente no extrato alergênico ou solução controle e então é removido para realização da puntura. Já em outros, a gota do extrato ou solução controle é aplicada diretamente na pele e posteriormente é realizada a puntura sobre a gota (Heinzerling et al., 2013).

Os puntores podem ainda ser produzidos de maneira isolada, ou seja, um puntor para cada solução testada, ou podem ser produzidos com múltiplos dispositivos em um mesmo instrumento, permitindo a aplicação de várias substâncias de maneira simultânea (Figura 2) (Nelson et al., 2004). Os dispositivos isolados tendem a ser mais sensíveis e permitem testes mais reprodutíveis quando comparados com dispositivos múltiplos (Demoly et al., 1991; Carr et al., 2005; Yoon et al., 2006). Os puntores múltiplos fornecem resultados mais variáveis devido à pressão desigual exercida em cada ponto de aplicação, além da sensibilidade dolorosa com esse tipo de puntor ser maior (Carr et al., 2005).

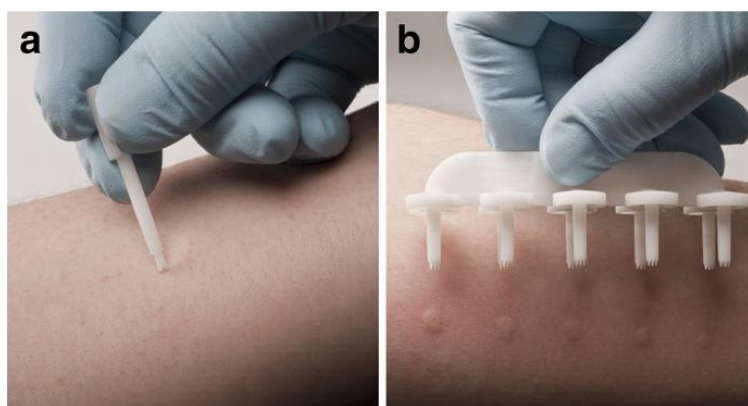


Figura
puntor
para a
um

com
integrados para a aplicação simultânea de dez extratos alergênicos distintos (b). Fonte: Fatteh et al., 2014.

2. Exemplo de
plástico isolado
aplicação única de
extrato (a) e
dispositivo plástico
múltiplos puntores

Um estudo comparou a performance de vários dispositivos e revelou diferenças significativas entre o tamanho das reações cutâneas obtidas. Os dispositivos que originam menor tamanho da pápula de histamina são os responsáveis por maior número de resultados falso-negativos, enquanto aqueles que produzem pápulas de histamina maiores podem dar origem a um maior número de resultados falso-positivos (Nelson et al., 1998). Nenhum estudo revelou vantagem de um dispositivo em relação ao outro. Esta variação encontrada ocorre principalmente devido ao trauma realizado pelo puntor na pele, levando assim a diferentes tamanhos de reações formadas. Resultados ótimos podem ser obtidos escolhendo qualquer dispositivo isolado, contanto

que um treinamento adequado seja realizado (Sangsupawanich et al., 2000; Berstein et al., 2008).

1.5.4 Leitura e interpretação do teste

Imediatamente após a puntura ser realizada, o excesso das gotas é removido da pele com o auxílio de um papel toalha (Motta et al., 2005). O tamanho da pápula formada é de suma importância para a interpretação do *Prick Test*. A reprodutibilidade do teste é maior quando somente o diâmetro papular é mensurado, evitando mensurações de eritema (Vohlonen et al., 1989; Dirksen et al., 1985; Heinzerling et al., 2013). As pápulas do teste devem ser demarcadas com caneta demográfica e o resultado deve ser copiado em fita transparente e colado na ficha de registro de teste de cada um dos indivíduos (Dreborg, 1989; Almeida, 1996; Antunes et al., 2009).

O pico de reatividade da pápula de histamina ocorre entre 8 a 12 minutos, enquanto as reações alérgicas com extratos diversos tem seu pico máximo em cerca de 13 a 16 minutos após a realização da puntura (Osterballe & Weeke, 1979; Oppenheimer & Nelson, 2006).

Um estudo com Laser Doppler foi realizado para avaliar a varredura do tamanho das pápulas e concluiu que o tamanho máximo das pápulas foi atingido em 20 minutos, porém, se a leitura do teste exceder 20 minutos, as respostas cutâneas podem reduzir e o teste pode ser mal interpretado (Dreborg, 2001). Assim, os resultados devem ser interpretados entre 15 e 20 minutos (Bousquet et al., 2012).

Durante a interpretação, o CP e CN devem ser mensurados primeiro. O CN exclui a presença de dermatografismo, que se presente, faz com que o teste se torne de interpretação difícil. A histamina tem que fornecer resultados positivos para assegurar que o teste foi realizado da forma correta e para excluir possíveis interferências devido ao uso de medicamentos (Heinzerling et al., 2013). Para que os testes possam ser considerados válidos, o diâmetro médio da pápula do CP deve ser superior a 3 mm e não pode ter um diâmetro de eritema igual ou superior a 10 mm (Antunes et al., 2009).

Uma vez que o trauma produzido pelo puntor pode afetar o tamanho da pápula, alérgenos que produzem pápulas inferiores a 3 mm não devem ser considerados positivos (Berstein et al., 2008).

Existem várias formas de interpretação para o teste de puntura. A avaliação qualitativa (Quadro 2) não é mais utilizada pela variabilidade produzida entre os avaliadores quanto ao fornecimento de um escore para o tamanho papular e interpretação do método (McCann & Ownby, 2002).

Quadro 2. Avaliação do teste de puntura pelo método qualitativo recomendado pela Sociedade Escandinávia de Alergia em 1974

Teste	Antígeno	Controle positivo	Controle negativo
Negativo	-	Pápula superior a 3mm	-
+	< Controle positivo e > controle negativo	Pápula superior a 3mm	- ou < antígeno
++	Igual a pápula do controle positivo	Pápula superior a 3mm	- ou < antígeno
+++	> Controle positivo e > controle negativo (pápula arredondada)	Pápula superior a 3mm	- ou < antígeno
++++	> Controle positivo e > controle negativo (pápula com pseudópodes)	Pápula superior a 3mm	- ou < antígeno

Fonte: Adaptado de Motta et al., 2005.

Segundo Berstein et al. (2008) o tamanho da pápula deve ser mensurado com base em diâmetro médio, $D+d/2$, (sendo D, o diâmetro maior da pápula e d, o diâmetro perpendicular), e o melhor método de interpretação seria utilizando o valor de 3mm acima do CN para considerar um paciente positivo para determinado alérgeno testado, o que indicaria presença de IgE alérgeno específico.

Porém outros estudos mostram que a melhor mensuração para o teste pode ser baseada no diâmetro maior da pápula. O diâmetro maior de cada pápula é mensurado, pelo fato desta medida ser mais fácil de ser realizada e por indicar um valor mais fidedigno da superfície papular, sendo considerado positivo para o extrato alérgênico testado quando este diâmetro for superior ou igual a 3 mm, independente do tamanho da pápula do CN (Konstatinou et al., 2010; Bousquet et al., 2012; Heinzerling et al., 2013).

A resposta positiva no teste cutâneo reflete a presença de anticorpos alérgeno-específicos ligados aos mastócitos, entretanto não demonstra que este alérgeno seja a causa das manifestações clínicas. Isto é, a resposta positiva reflete sensibilização, mas não necessariamente alergia clínica (Daher et al., 2009).

1.6 RESULTADOS FALSO-NEGATIVOS E FALSO-POSITIVOS

Os resultados falso-negativos podem ser causados devido a potência inadequada dos extratos alergênicos, uso de fármacos que modulam as reações alérgicas, doenças que atenuam a resposta cutânea, produção local de IgE alérgeno específica apenas em cavidade nasal ou região ocular (Rondon et al., 2007), ou técnica imprópria (Bousquet et al., 2012). Um teste cutâneo também pode ser negativo logo após uma reação sistêmica grave, onde ocorre o consumo exagerado de IgE específica para o determinado alérgeno (Motta et al., 2005).

Resultados falso-positivos podem ocorrer principalmente devido ao dermatografismo, reações de contato irritante ou reações a partir da proximidade ou contaminação entre os extratos alergênicos (Motta et al., 2005; Antunes et al., 2009; Bousquet et al., 2012). Podem ocorrer ainda devido a reatividade cruzada, dependendo do tipo de alérgeno envolvido (Ferreira et al., 2004).

1.7 CONTRAINDICAÇÕES DO TESTE DE PUNTURA

Algumas circunstâncias podem limitar a realização do teste de puntura, como ocorre em pessoas com lesões cutâneas ativas secundárias à DA, sendo que as mesmas não devem ser submetidas ao teste durante episódios de crise (Lowe et al., 2007; Antunes et al., 2009).

Pacientes com dermatografismo intenso não devem realizar o teste de puntura, uma vez que é difícil distinguir um resultado positivo de um falso-positivo, invalidando quaisquer conclusões (Heinzerling et al., 2013).

Pacientes submetidos a terapias imunossupressoras ou que utilizem medicamentos que causem influência no teste também não devem realizá-lo (Heinzerling et al., 2013).

O teste de puntura é considerado seguro e fatalidades associadas a este procedimento são raras (Lockey et al., 1987; Reid et al., 1993). Pacientes que apresentem alto risco para anafilaxia com testes cutâneos devem ser monitorados cuidadosamente por um período mínimo de 30 minutos, fase na qual existe uma maior propensão ao desenvolvimento de reações adversas ou

não devem realizar o teste, podendo substituí-lo por testes *in vitro* (Antunes et al., 2009).

1.8 VARIÁVEIS QUE INFLUENCIAM NO TESTE DE PUNTURA

Muitos fatores podem influenciar os resultados dos testes cutâneos. Há uma variação na incidência de testes positivos em relação à idade, em parte devido às variações nos níveis de IgE, que são mínimos ao nascimento, aumentam na infância, atingem o pico na segunda década e caem progressivamente com o passar da idade (Ménardo et al., 1985; Motta et al., 2005). Crianças até os dois anos de idade tem a reatividade cutânea menor quando comparados com adultos, porém os testes de puntura podem ser utilizados em crianças a partir de 1 mês de vida (Skassa et al., 1987; Antunes et al., 2009).

Os resultados dos testes também dependem da localização anatômica, pois existe diferença com base na reatividade à histamina. A região das costas é mais reativa à histamina que a dos antebraços. Em relação aos antebraços a porção distal é menos reativa que a proximal, porém estas diferenças não devem ser levadas em conta na prática clínica diária (Nelson et al., 1996).

O ciclo circadiano parece não exercer influência sobre os resultados, porém alguns estudos evidenciaram uma menor reatividade cutânea às 7 horas e as maiores reações às 19 e às 23 horas (Lee et al., 1977; Vichyanond et al., 1989; Berstein et al., 2008).

Em relação aos fatores raciais, pacientes com peles mais pigmentadas parecem produzir maiores reações papulares e eritematosas (Berstein et al., 2008). Outros estudos evidenciaram que caucasianos tem a pele mais reativa que pacientes não caucasianos (Almeida et al., 2001).

O teste também é influenciado pelo uso de medicamentos que suprimem a resposta alérgica (Quadro 3). Os mais importantes são os anti-histamínicos, anti-depressivos e corticoides (Bousquet et al., 2012). Foi demonstrado que a incubação de mastócitos pulmonares em dexametasona não influenciou a liberação dos mediadores destas células, incluindo a histamina. Os resultados deste estudo evidenciaram que o uso de corticoides por um período curto não influencia a desgranulação mastocitária (Schleimer et al., 1983). Corticoides sistêmicos não alteram de maneira significativa a reatividade cutânea, porém

quando utilizados de maneira prolongada resultados conflitantes podem aparecer, sendo necessária uma análise mais criteriosa (Des et al., 1996). Estes autores observaram que o uso de corticoesteróides orais por longos períodos não influenciou o diâmetro papular antes e após o tratamento, porém anormalidades associadas ao uso crônico foram visualizadas, como diminuição da espessura cutânea, e o eritema associado a pápula reduziu significativamente. Por outro lado, corticoides tópicos reduzem a reatividade cutânea e podem influenciar diretamente a interpretação do teste (Pipkorn et al., 1989).

Quadro 3. Medicamentos que possuem efeito inibitório sobre a reatividade cutânea e o seu período de influência

Medicamento	Período de efeito inibitório
Anti-histamínicos de 1º geração Clemastina Hidroxizina Prometazina	5-10 dias 5-8 dias 3-5 dias
Anti-histamínicos de 2º geração Fexofenadina Loratadina Cetirizina	2 dias 7 dias 3 dias
Anti-depressivos Desipramina Doxepina	2 dias 6 dias
Antagonista do receptor H2 Ranitidina	Menos de 24 horas
Glicocorticóides Tópico (em local do teste)	> 7 dias

Fonte: Adaptado de Antunes et al., 2009 e Heinzerling et al., 2013.

1.9 COMPARAÇÃO ENTRE TESTES ALÉRGICOS

1.9.1 Teste de puntura e teste intradérmico

Devido às questões de precisão do teste de puntura, uma alternativa é realizar o TID. Ambos os testes apresentam vantagens e desvantagens que

devem ser consideradas pelo clínico antes da sua realização (Fatteh et al., 2014) (Quadro 4).

No TID os alérgenos são injetados na derme, formando uma pápula, para que posteriormente a reação possa ser mensurada (Toullas & Burman, 2016). Bom treinamento é necessário para que a injeção seja administrada no local correto e para que uma boa interpretação possa ocorrer (Bousquet et al., 2012). Quando comparado com o teste de puntura, o TID fornece maior risco de reações sistêmicas graves, como anafilaxia (Bernstein et al., 2008). Um número significativo de mortes já foi reportado com o uso do TID e apenas uma com o *Prick Test* (Lockey et al., 2001; Liccardi et al., 2006).

Os testes de puntura garantem uma maior economia de tempo e permitem a utilização de glicerina 50%, aumentando a estabilidade dos extratos e conseqüentemente a sua durabilidade (Oppenheimer & Nelson, 2006; Oppenheimer et al., 2007; Bernstein et al., 2008).

Os TID são mais sensíveis do que o *Prick Test*, sendo necessário utilizar neste último concentrações superiores para obter uma resposta semelhante à injeção intradérmica com o mesmo alérgeno (Oppenheimer et al., 2006; Bernstein et al., 2008). Apesar disso, os extratos potentes, habitualmente, usados nos testes de puntura, permitem atingir uma sensibilidade suficiente para o seu uso na prática clínica (Oppenheimer et al., 2006).

O teste de puntura apresenta uma maior especificidade quando comparado com o TID por reduzir o número de respostas falso-positivas, que podem ocorrer como resultado de reações irritantes (Bernstein et al., 2008). Os resultados falso-positivos são mais comuns com os TID (Toullas & Burman, 2016).

Sangramento intracutâneo também pode ocorrer devido à penetração da agulha na derme e conseqüentemente o teste fornece maior sensibilidade dolorosa quando comparado com o *Prick Test* (Toullas & Burman, 2016).

O TID é contraindicado para identificar alergia a alimentos e é considerado inapropriado para a identificação de alergia a alérgenos ambientais (Schwindt et al., 2005), apesar de alguns pacientes apresentarem resultados positivos, a relevância clínica destes resultados ainda é desconhecida (Bousquet et al., 2012).

Na maioria dos casos, o teste de puntura é preferível ao TID, sendo este utilizado apenas em sensibilização a medicamentos, sensibilidade à peçonhas

de insetos (Strohmeier et al., 2013) e quando um alérgeno é considerado de relevância clínica porém o teste de puntura é negativo (Heinzerling et al., 2013; Tourlas & Burman, 2016).

Quadro 4. Comparação entre as vantagens e desvantagens dos testes alérgicos

Tipo de teste	Vantagens	Desvantagens
Teste de Puntura	<ul style="list-style-type: none"> • Minimamente invasivo • Menor desconforto em comparação com o TID • Quando realizado de maneira apropriada apresenta alta especificidade • Múltiplos alérgenos podem ser testados • Pouco risco de reações adversas • Resultados obtidos em 15-20 minutos • Relativamente barato • Melhor correlação com sintomatologia clínica 	<ul style="list-style-type: none"> • Pode ser considerado desconfortável para alguns pacientes • Necessita de treinamento para realização • Alguns medicamentos podem influenciar o teste • Para a realização do teste a pele deve estar alesional
Teste Intradérmico	<ul style="list-style-type: none"> • Mais sensível que o teste de puntura • Mais reprodutível • Resultados obtidos em 15-20 minutos 	<ul style="list-style-type: none"> • Maior sensibilidade dolorosa • Tempo para realização é maior • Possibilidade de resultados falso-positivos • Necessita de treinamento para a realização • Maior risco de reações adversas graves • Alguns medicamentos podem influenciar o teste • Para a realização do teste a pele deve estar alesional
	<ul style="list-style-type: none"> • Necessita apenas de uma pequena amostra de sangue para a realização • Não apresenta reações adversas • Pode ser utilizado em pacientes 	<ul style="list-style-type: none"> • Resultados são menos correlacionados com a sintomatologia clínica • Resultados entre métodos <i>in vitro</i> podem não se correlacionar

Testes <i>in vitro</i>	com pele lesionada <ul style="list-style-type: none"> • Menor desconforto • Não sofre influência pelo uso de medicamentos • Múltiplos alérgenos podem ser testados 	<ul style="list-style-type: none"> • Tempo maior para obtenção dos resultados • Custo elevado • Possibilidade de resultados falso-positivos
------------------------	---	--

Fonte: Adaptado de Fatteh et al., 2014 e Tourlas & Burman, 2016

1.9.2 Teste de puntura e testes *in vitro*

Uma das maneiras de identificar ao que o indivíduo está reagindo é com testes *in vitro* para anticorpos IgE específicos. No entanto, mesmo se houver elevado nível de anticorpos no sangue, isso nem sempre se correlaciona com a resposta alérgica (Fatteh et al., 2014).

Este método normalmente é utilizado quando um paciente não pode submeter-se a TID ou testes de puntura, devido a contraindicações, ou por não ser capaz de interromper medicações que influenciam nos testes cutâneos (Daher et al., 2009).

As avaliações *in vitro* podem ser menos sensíveis e/ou menos específicas quando comparados com o *Prick Test*, dependendo do método e do alérgeno utilizado (Antunes et al., 2009). A sensibilidade (60% -95%) e especificidade (30% -95%) para estes testes são muito mais amplos quando comparados com o teste de puntura (Heinzerling et al., 2013). As vantagens e as desvantagens dos testes *in vitro* estão descritos no Quadro 4.

2 **PRICK TEST NA MEDICINA VETERINÁRIA**

Apesar das vantagens de se utilizar o *Prick Test* para o diagnóstico de processos alérgicos na medicina, poucos estudos foram realizados na medicina veterinária.

Em gatos foi demonstrado que a utilização do *Prick Test* gerou reações mais fáceis de serem analisadas quando comparado com o TID (Rossi et al., 2013). Gentry & Messinger (2016) evidenciaram que em gatos saudáveis os alérgenos glicerinados não causaram reações de contato irritante. O CN

com salina glicerizada e CP com histamina glicerizada são controles confiáveis para a interpretação do teste e o ponto de avaliação ideal deve ser de 20 minutos.

A comparação de dois dispositivos, ALK Lancet® e Duotip test II®, para a realização do *Prick Test* em gatos evidenciou que ambos produzem pápulas mensuráveis e precisas (Cunha & Souza, 2015).

Apenas um estudo foi realizado em equinos com obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA). Todos os cavalos com ORVA foram positivos no *Prick Test* a pelo menos seis alérgenos ambientais testados. De acordo com os resultados dos testes para cada indivíduo foram tomadas medidas de exclusão ambiental adequadas e foram registradas melhoras significativas nos sinais clínicos dos animais. Os autores concluíram que o *Prick Test* pode ser utilizado na identificação dos aeroalérgenos responsáveis por afecções alérgicas de cavalos (Tilley et al., 2010).

Em cães, a avaliação do teste iniciou com Ballauf (1991) que tentou comparar o *Prick Test* com o TID. De acordo com o autor, o mesmo não produziu reações facilmente interpretáveis, contudo a população canina alérgica usada neste estudo não foi bem estabelecida.

O *Prick Test* em cães saudáveis não produz reações positivas (Rocha, 2012; Matias, 2013; Lorente & Ruiz, 2015). Já em cães com DA houve boa correlação com o teste sorológico, podendo ser utilizado com objetivo de instituir a imunoterapia alérgeno-específica (Lorente & Ruiz, 2015).

Outros estudos comparando o *Prick Test* e o TID em cães foram realizados. Carmona et al. (2015), evidenciou que os testes têm uma boa correlação para a maioria dos alérgenos testados.

O *Prick Test* é facilmente executável em cães e apresenta ainda vantagens, como simplicidade, rapidez na realização e menor sensibilidade dolorosa quando comparado com testes convencionais (Rocha, 2012).

Devido à escassez de trabalhos realizados com *Prick Test* em cães, ainda não há padronização em relação à técnica na medicina veterinária, bem como conclusões se o mesmo pode substituir testes alérgicos convencionais.

Este trabalho tem como objetivo avaliar a eficácia do *Prick Test* na identificação da sensibilidade a alérgenos de ácaros domiciliares em cães com DA *stricto sensu*, comparar os resultados com o do TID nos mesmos pacientes, e verificar qual é o principal ácaro responsável por sensibilização em cães com

DA na cidade de Curitiba, Paraná. Os resultados obtidos poderão subsidiar o aprimoramento de testes para o diagnóstico de doenças alérgicas em cães, e melhorar o tratamento e a qualidade de vida dos mesmos.

REFERÊNCIAS

Alberts B, Gray O, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. *Biologia Molecular da Célula*. Porto Alegre: Artes Médicas. 2004; 1394-1396.

Almeida MM, Gaspar A, Romeira A, Sampaio G, Teixeira C, Câmara R, et al. Reactividade cutânea inespecífica em estudos populacionais. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*. 2001; 8:199-204.

Almeida MM, Pires G, Prates S, Santa Marta C, Pinto PL. Testes cutâneos por prick – normalização e aplicações. Revista Portuguesa de Imunoalergologia. 1996; 4:201 -229.

Antunes J, Borrego L, Romeira A, Pinto P. Skin prick tests and allergy diagnosis. Allergologia et Immunopathologia. 2009; 37: 155-164.

Assunção DL, Farias MR, Barbosa M, Machado LH. Evaluation of the concentration of allergens from mites in fur and households dust of dogs with atopic dermatitis. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2017; 1-6.

Ballauf B. Comparison of the Intradermal and Prick Tests for Diagnosis of Allergy in the Dog. Tierarztl Prax. 1991. 19: 428-430.

Bernstein IL, Li JT, Bernstein DI, Hamilton R, Spector SL, Tan R, Sicherer S, et al. Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter. Annals of Allergy, Asthma & Immunology. 2008; 100: S1-S148.

Blackley CH. Hay fever: its causes, treatment and effective prevention. Experimental researches. 2^a ed. London: Baillieres Tindal and Cox; 1880.

Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG, et al. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. Allergy. 2012; 67: 18-24.

Carmona S, Arias PT, Dominguez MSG, Ramirez D. Comparación del uso del Test Intradérmico Vs Prick Test en pacientes con dermatitis atópica canina. In: 3º Congreso Latinoamericano de Dermatología Veterinaria. Buenos Aires; 2015.

Carr WW, Martin B, Howard RS, Cox L, Borish L. Comparison of test devices for skin prick testing. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2005; 116: 341-346.

Cunha VES, Hahnstadt RL, Soares AMB, Faccini JLH. Evaluation of skin sensitivity in dogs bearing allergic dermatitis to standardized allergenic extract of house dust and storage mites. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2007; 27: 341-344.

Cunha VES, Silva MH, Faccini JLH. Serological identification of house dust mite allergens in dogs with atopic dermatitis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2012; 32: 917-921.

Cunha VES, Souza CP. Comparação entre dois instrumentos para realização de prick tests em gatos. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2015; 13:1.

Daher S, Galvão C, Abe A, Cocco R. Diagnóstico em doenças alérgicas mediadas por IgE. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*. 2009; 32:3-8.

Demoly P, Bousquet J, Manderscheid JC, Dreborg S, Dhivert H, Michel FB. Precision of skin prick and puncture tests with nine methods. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2004; 88: 758-762.

Des AD, Paradis L, Bougeard YH. Long-term oral corticosteroid therapy does not alter the results of immediate-type allergy skin prick tests. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1996; 9:522-527.

Dirksen A, Malling HJ, Mosbech H, Søbørg M, Biering I. HEP versus PNU standardization of allergen extracts in skin prick testing. A comparative randomized in vivo study. *Allergy*. 1985; 40:620-624.

Dreborg S. Skin Testing in Allergen Standardization and Research. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. 2001. 21: 329-354.

Dreborg S. The skin prick test in the diagnosis of atopic allergy. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1989; 21: 820-821.

Dreborg S. Precision of biological standardization of allergenic preparations. *Allergy* 1992; 47:291-294.

Fatfeh S, Rekkerth DJ, Hadley JA. Skin prick/puncture testing in North America: a call for standards and consistency. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2014; 10: 1-9.

Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology*. 2010; 21: 23-31.

Fernández-Caldas E. On mite allergy in dogs and humans. *International Archives of Allergy and Immunology*. 2013; 160: 329-330.

Ferreira F, Hawranek T, Gruber P, Wopfner N, Mari A. Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allergy*. 2004;59:243-67.

Ferreira RR. Avaliação de diferentes concentrações de histamina e extratos alergênicos em cães sadios submetidos a teste intradérmico (tese de doutorado). Porto Alegre, RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.

Fikrig E, Insel R, Knights A, Lolis E, Pawelec G, Vitetta E. Manipulation of the Immune Response. In: *Immunobiology, the Immune System in Health and Disease*. New York: Garland Science Publishing; 2005.

Focke M, Marth K, Valenta R. Molecular composition and biological activity of commercial birch pollen allergen extracts. *European Journal of Clinical Investigation*. 2009; 39:429–436.

Gentry CM, Messinger L. Comparison of intradermal and percutaneous testing to histamine, saline and nine allergens in healthy adult cats. *Veterinary Dermatology*. 2016; 27:370- e92.

Gonzales AJ, Humphrey WR, Messamore JE, Fleck TJ, Fici GJ, Shelly AJ, et al. Interleukin-31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*. 2013; 24: 48-55.

Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC, Bresciani M, Burbach G, Darsow U, et al. The skin prick test - European standards. *Clinical and Translational Allergy*. 2013; 3: 1-10;

Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill P, Griffin C. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *Veterinary Research*. 2015; 11: 1-13.

Hill PB. Management of atopic dermatitis. In *Proceedings of the European Veterinary Conference: Amsterdam, the Netherlands 2009*. 23: 5-6.

Hillier A. Definitively diagnosing atopic dermatitis in dogs. *Veterinary medicine*. 2002; 97:198-208

Hiller A, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2001; 81: 289-304.

Jacquet A. Innate Immune Responses in House Dust Mite Allergy. *International Scholarly Research Notices: Allergy* 2013; 1-18.

Jeong KY, Hong C, Lee J, Park J. Optimization of Allergen Standardization. *Yonsei Medical Journal*. 2011; 52: 393-400.

King MJ, Lockey RF. Allergen prick-puncture skin testing in the elderly. *Drugs Aging*. 2003; 20:1011-1017.

Konstantinou GN, Bousquet PJ, Zuberbier T, Papadopoulos NG. The longest wheal diameter is the optimal measurement for the evaluation of skin prick tests. *International Archives of Allergy and Immunology*. 2010;151(4):343–345.

Larsen JN, Dreborg S. Standardization of allergen extracts. *Methods in Molecular Medicine*. 2008;138:133-45.

Lewis T, Grant RT. Vascular reactions of the skin to injury. *Heart*. 1924;11:209.

Liccardi G, Amato GD, Canonica GW, Salzillo A, Piccolo A, Passalacqua G. Systemic reactions from skin testing: literature review. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. 2006; 16: 75-78.

Lockey RF, Benedict LM, Turkeltaub PC, Bukantz SC. Fatalities from immunotherapy (IT) and skin testing (ST). *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1987; 79:660–677.

Lorente C, Ruiz P. Preliminary assessment of percutaneous (prick) test in dogs. *Veterinary dermatology*. 2015; 26: 298.

Lowe AJ, Hosking CS, Bennett CM, Carlin JB, Abramson MJ, Hill DJ, Dharmage SC. Skin prick test can identify eczematous infants at risk of asthma and allergic rhinitis. *Clinical & Experimental Allergy*. 2007;37:1624-31.

Malling H, Allesen-Holm P, Karved L, Poulsen LK. Proficiency testing of skin prick testers as part of a quality assurance system. *Clinical and Translational Allergy*. 2016; 6:36.

Mari A, Schneider P, Wally V, Breitenbach M, Simon-Nobbe B. Sensitization to fungi: epidemiology, comparative skin tests, and IgE reactivity of fungal extracts. *Clinical & Experimental Allergy*. 2003; 33:1429–1438.

Matias DF. Avaliação de uma nova técnica em alergologia veterinária: testes cutâneos por picada em cães (tese de mestrado). Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa; 2013.

McCandless EE, Rugg CA, Fici GJ, Messamore JE, Aleo MM, Gonzales AJ. Allergen-induced production of IL-31 by canine Th2 cells and identification of immune, skin, and neuronal target cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2014; 157: 42-48.

McCann WA, Ownby DR. The reproducibility of the allergy skin test scoring and interpretation by board-certified/board-eligible allergists. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2002; 89:368 –371.

Ménardo JL, Bousquet J, Rodière M, Astruc J, Michel FB. Skin test reactivity in infancy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1985; 75:646-651.

Miller WH, Griffin GE, Campbell, KL. *Small Animal Dermatology*. 7. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company 2013.

Motta AA, Kalil J, Barros MT. Testes cutâneos. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*. 2005; 28: 73-83.

Mueller RS, Janda J, Jensen-Jarolim E, Rhyner C, Marti E. Allergens in veterinary medicine. *European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015; 1:1-9.

Nelson HS. Effect of preservative and conditions of storage on the potency of allergy extracts. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1981; 67: 64-7.

Nelson HS, Kolehmainen C, Lahr J, Murphy J, Buchmeier A. A comparison of multiheaded devices for allergy skin testing. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2004; 113:1218–1219.

Nelson HS, Knoetzer J, Bucher B. Effect of distance between sites and region of the body on results of skin prick tests. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1996; 97:596-601.

Nelson HS, Lahr J, Buchmeier A, McCormick D. Evaluation of Devices for Skin Prick. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1998; 101:153-156.

Oliveira JP. Identificação sorológica de alérgenos de ácaros domiciliares associados à sensibilização em cães com dermatite atópica (tese de mestrado). Curitiba, PR: Pontifícia Universidade Católica do Paraná; 2015.

Olivry T, Deboer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall TJ. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology*. 2010; 21: 233–248.

Oppenheimer J, Nelson HS. Skin testing: a survey of allergists. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2006; 96:19 –23.

Osterballe O, Weeke B. A new lancet for skin prick testing. *Allergy*. 1979; 34:209-12.

Pepys J. Skin tests in diagnosis. *Clinical Aspects of Immunology*. 2^a ed. Philadelphia: FA; 1968.

Piette V, Bourret E, Bousquet J, Demoly P. Prick tests to aeroallergens: is it possible simply to wipe the device between tests? *Allergy*. 2002; 57:940–942.

Pipkorn U, Hammerlund A, Enerbaeck L. Prolonged treatment with topical corticosteroids results in an inhibition of the allergen-induced wheal-and-flare response and a reduction in skin mast cell numbers and histamine content. *Clinical & Experimental Allergy*. 1989; 19:19-27.

Platts-Mills TA, Chapman MD. Allergen standardization. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1991; 87:621-625.

Randall M, Hillier A, Cole LK, Kwochka KW, Needham G, Wassom DL. Quantitation of house dust mites and house dust mite allergens in the microenvironment of dogs. *American Journal of Veterinary Research*. 2003; 64: 1580-1588.

Rapaport BZ, Becker EL. Quantitative studies in skin testing IV. The volume – response relationship. *J Allergy*. 1949; 20: 358.

Reid MJ, Lockey RF, Turkeltaub PC, Platts-Mills TA: Survey of fatalities from skin testing and immunotherapy 1985–1989. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1993; 92:6–15.

Rocha MIL. Skin prick tests – preliminary evaluation of this technique for the diagnosis of canine atopic dermatitis sensitization (tese de mestrado). Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa; 2012.

Rondon C, Romero JJ, Lopez S, Antunez C, Martin-Casanez E, Torres MJ et al. Local IgE production and positive nasal provocation test in patients with persistent nonallergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2007;119:899–905.

Rossi MA, Messinger L, Olivry T, Hoontrakoon R. A pilot study of the validation of percutaneous testing in cats. *Veterinary dermatology*. 2013; 24: 488-493.

Sangsupawanich P, Chamnanphol S, Koonrungrisoromboon D. Evaluation of three methods for using the Duotip-Test device for skin testing. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*. 2000; 18:153-156.

Schleimer RP, Schulman ES, MacGlashan D Jr, et al. Effects of dexamethasone on mediator release from human lung fragments and purified human lung mast cells. *Journal of Clinical Investigation*. 1983;71:1830-1835.

Schneider L, Tilles S, Lio P, Boguniewicz M, Beck L, Lebovidge J, Novak N. Atopic dermatitis: A practice parameter update 2012. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013; 131:295-299.

Schwindt CD, Hutcheson PS, Leu SY, Dykewicz MS. Role of intradermal skin tests in the evaluation of clinically relevant respiratory allergy assessed using patient history and nasal challenges. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2005; 94: 627-633.

Skassa-Brociek W, Manderscheid JC, Michel FB. Skin test reactivity to histamine from infancy to old age. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1987; 80:711.

Solomon SEB, Farias MR, Pimpão CT. Dermatite atópica: da fisiopatologia ao tratamento. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais*. 2012; 10:21-28.

Strohmeier B, Aberer W, Bokanovic D, et al. Simultaneous intradermal testing with hymenoptera venoms is safe and more efficient than sequential testing. *Allergy*. 2013; 68:542-4.

Sung T, Huang H. The incidence of positive intradermal skin test reactions in dogs with atopic dermatitis. *Journal of veterinary clinical Science*. 2009; 2:31-36.

Tilley P, Sales JP, Ferreira MB. Testes cutâneos por picada (TCP) na obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) equina. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*. 2010; 18: 561-584.

Tourlas K, Burman D. Allergy Testing. *Primary Care: Clinics in Office Practice*. 2016; 43: 363-374.

Vichyanond P, Nelson HS. Circadian variation of skin reactivity and allergy skin tests. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1989; 83:1101-1106.

Vohlonen I, Terho EO, Koivikko A, Vanto T, Holmén A, Heinonen OP. Reproducibility of the skin prick test. *Allergy*. 1989; 44:525-31.

Yoon I, Martin BL, Carr WW. Comparison of Two Single-Headed and Two Multiheaded Prick Skin Test Devices. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006; 117:189.

CAPÍTULO 2

Artigo científico a ser submetido para publicação no periódico *Veterinary Dermatology*

Avaliação comparativa entre o *Prick Test* e o teste intradérmico no diagnóstico da sensibilidade a ácaros em cães com dermatite atópica

Gisele Vieira Sechi*, Marconi Rodrigues de Farias*, Ana Paula Cerdeiro* e Victor do Espírito Santo Cunha†

* Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Escola de Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Rua Imaculada Conceição, 1155, Curitiba, PR, Brasil.

† FDA Allergenic, Rua da Abolição, 413, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Correspondência: Gisele Vieira Sechi, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Rua Imaculada Conceição, 1155, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: gisele.sechi@hotmail.com.

Agradecimentos:

Os autores agradecem a equipe da Clínica Veterinária da PUCPR e da Clínica Dermatovet por permitirem a realização deste estudo.

Fontes de financiamento:

Os extratos alergênicos utilizados para o *Prick Test* e para o teste intradérmico foram fornecidos pela FDA Allergenic Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Conflitos de interesse:

Não foram declarados conflitos de interesse.

Introdução – O *Prick Test* tem sido utilizado como técnica padrão para identificação de sensibilização alérgica em humanos. Ainda não há padronização em relação à técnica desse teste na medicina veterinária e conclusões se o mesmo pode substituir testes alérgicos convencionais.

Objetivo – Avaliar a eficácia do *Prick Test* na identificação da sensibilidade a alérgenos de ácaros domiciliares em cães com dermatite atópica (DA) *stricto sensu* e comparar os resultados com o do teste intradérmico (TID).

Métodos – O *Prick Test* e o TID com *Dermatophagoides farinae* (*Df*), *D. pteronyssinus* (*Dp*) e *Blomia tropicalis* (*Bt*) foram inicialmente realizados em 10 cães hígidos (grupo controle) para avaliação do potencial irritativo dos testes. Após esta etapa, foi realizada uma comparação entre o *Prick Test* e o TID em 39 cães com DA *stricto sensu*.

Resultados – No grupo de cães controle nenhum animal reagiu ao *Prick Test* com os extratos alergênicos de ácaros na concentração de 10 HEP, e no TID, a concentração de 100 UBE/mL foi selecionada com base em limiar irritativo para a realização do teste em cães com DA. Dos 39 cães com DA testados para *Df*, 30,77% foram positivos no *Prick Test* e 10,25% para o TID ($p=0,01$). Para o *Dp*, 25,64% dos cães foram positivos no *Prick Test* e 0% no TID ($p=0,0$), e para *Bt*, 28,20% dos cães foram positivos no *Prick Test* e 5,12% no TID ($p= 0,002$). Em apenas dois animais ambos os testes identificaram sensibilidade aos mesmos antígenos.

Conclusão e Importância clínica – O *Prick Test* apresentou mesma especificidade que o TID e foi capaz de identificar a sensibilidade a ácaros de forma mais frequente em cães com DA, sendo uma alternativa de teste alérgico ao TID e sorológico.

Introdução

A dermatite atópica (DA) é uma dermatopatia imune-inflamatória, pruriginosa, crônica e recorrente que interfere negativamente na qualidade de vida dos cães e de seus proprietários^{1,2,3}. Acomete cerca de 10 a 15% dos cães⁴, com maior ocorrência em animais de raças específicas, adultos jovens, independente do gênero⁵.

Cães com DA são predispostos a alterações na formação da barreira cutânea, o que provoca maior contato do sistema imunológico tegumentar com alérgenos ambientais, microbianos, alimentares e irritantes primários, aumentando o risco de sensibilização⁶. Além disso, a pele destes animais possui uma menor capacidade de autorregulação dos mecanismos inflamatórios, o que a torna hiper-reacional⁷.

Os principais alérgenos ambientais envolvidos na patogênese da DA são provenientes de ácaros da poeira doméstica, pólenes, fungos anemófilos e de insetos¹. Porém, alérgenos provenientes dos ácaros da poeira doméstica são os principais responsáveis pela sensibilização e pelo desenvolvimento dos sintomas clínicos da DA em cães com hábitos predominantemente domiciliares⁸. Os alérgenos dos ácaros da família Pyroglyphidae como *Dermatophagoides farinae* (*Df*) e *D. pteronyssinus* (*Dp*) são os principais responsáveis pela hipersensibilidade imediata em cães com DA⁹, entretanto, alérgenos de ácaros da família Glycyphagidae, particularmente da espécie *Blomia tropicalis* (*Bt*), também são uma causa importante de reações alérgicas em seres humanos¹⁰, e cães com DA no Brasil^{11,12,13}.

O diagnóstico da DA é clínico e envolve o histórico do paciente, exclusão de outras dermatopatias pruriginosas e a identificação de sinais clínicos que se enquadrem nos critérios estabelecidos por Favrot^{1,14}. Apesar de o diagnóstico presuntivo da DA ser clínico, a utilização de testes para identificação dos alérgenos ambientais que precipitam ou exacerbam o eczema atópico são fundamentais para implementar imunoterapia alérgeno-específica e orientar a

exclusão ambiental. Os testes alérgicos mais utilizados em cães para identificação dos alérgenos associados à DA *stricto sensu* são os intradérmicos e sorológicos^{1,15}.

O teste intradérmico (TID) apresenta algumas desvantagens como aplicação de múltiplas injeções no animal, utilização de sedação, reações de contato irritante e resultados falso-positivos e, quando baseados em testes de limiar irritativo, podem também produzir resultados falso-negativos. O teste sorológico tem como principal desvantagem a sua baixa especificidade e alta sensibilidade, que muitas vezes mostra reações positivas em cães não sensibilizados¹⁶.

O *Prick Test* tem sido utilizado como técnica padrão para identificação de sensibilização alérgica em humanos devido à rapidez de realização, por apresentarem maior segurança do que o TID e por sua maior correlação com a sintomatologia clínica do paciente^{17,18}.

Devido à escassez de trabalhos realizados com o teste percutâneo (*Prick Test*) em cães, ainda não há padronização em relação à técnica na medicina veterinária, bem como conclusões se o mesmo pode substituir testes alérgicos convencionais.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia do *Prick Test* na identificação da sensibilidade a alérgenos de ácaros domiciliares em cães com DA *stricto sensu* e comparar seus resultados com os do TID.

Material e métodos

O estudo desenvolvido foi experimental, transversal, controlado e não randomizado, sendo aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), sob registro 01029/2016, antes do início de sua execução.

O grupo de estudo foi composto por 39 cães com diagnóstico de DA *stricto sensu*, intra-domiciliados, com idade superior a um ano, independente da raça e do gênero.

O diagnóstico de DA *stricto sensu* foi estabelecido quando os cães obedeciam no mínimo seis dos oito critérios estabelecidos por Favrot¹⁴ e não apresentassem melhora dos sinais clínicos após o estabelecimento de dieta com proteína original pelo prazo mínimo de cinco e máximo de oito semanas¹⁹.

Foram selecionados pacientes que não tivessem feito uso de corticoides tópicos e/ou sistêmicos; anti-histamínicos tópicos e/ou sistêmicos; anti-inflamatórios não esteroidais e imunossupressores, no período de 30 dias antes da inclusão no projeto, e nem tivessem sido submetidos à imunoterapia. Pacientes agressivos e/ou agitados e que possuíssem outro tipo de doença sistêmica e/ou imunodepressora foram excluídos do estudo.

O grupo controle foi composto por 10 cães, intra-domiciliados, independente da raça, do gênero, com idade superior a um ano, hígdos e sem nenhum indício de lesões dermatológicas.

Controle negativo, controle positivo e extratos alergênicos

Para a realização do *Prick Test* no grupo controle foram utilizadas soluções a base de salina e histamina (10 mg/mL), como controle negativo (CN) e positivo (CP), respectivamente, e soluções de extratos alergênicos de

Dermatophagoides farinae (Df), *D. pteronyssinus* (Dp) e *Blomia tropicalis* (Bt) contendo 10 HEP de potência (equivalente a 10.000 UBE/mL) (Figura 1). Todos os extratos e controles utilizados no estudo eram glicerizados para permitir melhor estabilidade durante sua aplicação sobre a pele dos cães.

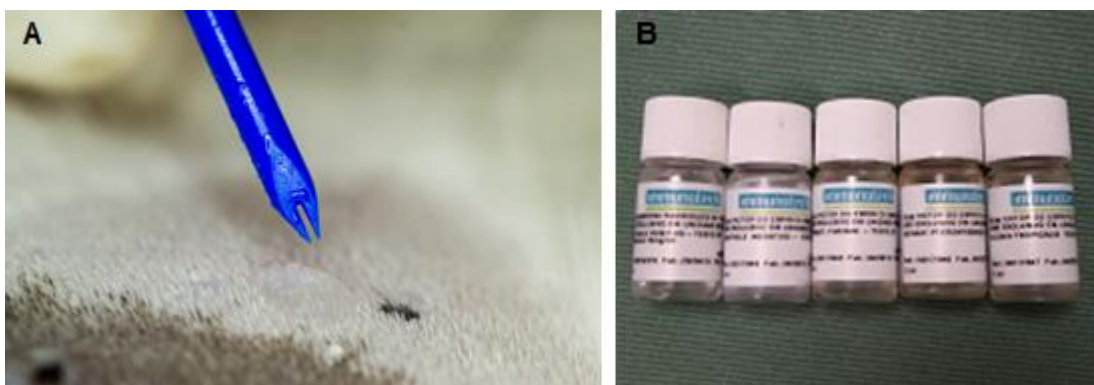
Os extratos alergênicos para o TID de Df, Dp e Bt foram testados nas concentrações de 12,5 UBE/mL, 50 UBE/mL e 100 UBE/mL nos cães do grupo controle (Figura 2). A diluição considerada ideal para realização do TID nos cães com DA foi a de maior concentração testada, capaz de provocar reações falso-positivas em no máximo 10% dos cães hígidos (limiar irritativo). Para a realização do TID foram utilizadas soluções a base de salina fenolada (0,9%), como CN e histamina (0,05 mg/mL) como CP.

Preparo dos cães

Em todos os animais foi realizada tricotomia de aproximadamente 15x12 cm da região lateral torácica para a realização dos testes. Higienização da área foi realizada com solução fisiológica, sendo em seguida a pele marcada, com caneta dermatográfica, em pontos equidistantes de 3 cm. O teste percutâneo e o TID foram realizados simultaneamente em todos os animais de ambos os grupos.

Teste Percutâneo

Os cães foram contidos manualmente e uma gota do CN, uma gota de extratos dos ácaros de Df, Dp e Bt, e do CP foram dispostos nos pontos para que em seguida o *Prick Test* fosse realizado. Puntores plásticos com ponta dupla Duotip Test II® (Lincoln Diagnostics, Decatur, EUA) (Figura 1) foram pressionados através da gota dos extratos e das soluções controle em um



ângulo de 45 a 60° contra a superfície da pele. A pele foi então suavemente levantada propiciando uma pequena escoriação da epiderme, através do qual ocorria a penetração dos alérgenos e soluções controles testados.

Após, o excesso das gotas foi removido com auxílio de papel absorvente e a leitura da reação foi realizada em 15 minutos (Figura 3). Os resultados foram avaliados sempre pelo mesmo observador, através da aferição e marcação do tamanho das reações (média entre o diâmetro maior e perpendicular) com a utilização de um paquímetro.

Figura 1. A – Puntor plástico com dupla ponta (Duotip test II®) utilizado para realizar o teste percutâneo nos cães do estudo. B- Extratos alergênicos glicerizados para Df, Dp e Bt na concentração de 10 HEP, controle positivo e controle negativo utilizados no teste percutâneo.

Os animais foram considerados reagentes ao alérgeno testado quando o diâmetro da pápula era ao menos 3mm superior ao diâmetro da reação provocada pelo CN.

Teste intradérmico

Após contenção manual, 50 µL do CN, CP e os extratos alergênicos de ácaros foram aplicados no espaço intradérmico, com seringas B/D ultrafine® (B/D and Company, New Jersey, EUA) de 300 µL com agulhas de 6 mm de comprimento e 0,25 mm de diâmetro (Figura 2).

A leitura da reação foi realizada em 15 minutos e os resultados foram avaliados sempre pelo mesmo observador, através da aferição e marcação do tamanho das reações (média entre o diâmetro maior e perpendicular) com a utilização de um paquímetro (Figura 3).

O ponto de corte (*cut-off*) do teste foi estabelecido através do cálculo da média entre os valores obtidos para o CN e o CP, sendo o animal considerado reagente para o alérgeno testado quando o mesmo apresentava pápulas de diâmetro médio igual ou superior ao *cut-off*.



Figura 2. A – Aplicação de 50 µL de extrato alergênico para a realização do teste intradérmico em cão do estudo. B- Extratos alergênicos para *Df*, *Dp* e *Bt*, controle positivo e controle negativo utilizados para a realização do teste intradérmico.

Análise estatística

Todos os dados foram apresentados pela média e desvio padrão da média, e os resultados entre o TID e teste percutâneo no diagnóstico da sensibilização alérgica em cães com DA foram comparados de forma descritiva.

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o teste proporções, que avaliou se a proporção de animais que apresentaram reação no teste percutâneo foi maior que no TID.

As hipóteses deste teste são:

$$H_0: p_1 = p_2 \text{ vs } H_1: p_1 > p_2$$

Ou seja,

$$H_0: p_1 - p_2 = 0 \text{ vs } H_1: p_1 - p_2 > 0$$

Onde p_1 é a proporção de pacientes positivos no *Prick Test* e p_2 é a proporção de pacientes positivos no TID.

O nível de significância adotado foi de $\alpha=0,05$ e a regra de rejeição utilizada foi de que se $p\text{-valor} < \alpha$, rejeita-se a hipótese nula em favor da alternativa.

Todos os cálculos foram realizados utilizando o software estatístico Minitab16.

Resultados

Epidemiologia

Dentre os 10 animais do grupo controle, houve uma distribuição equivalente entre os gêneros, oito cães (80%) não apresentavam raça definida, um era Labrador e um era Pitbull Terrier. A média de idade destes animais foi de $5,5 \pm 2,2$ anos.

Dentre os 39 cães com DA do grupo de estudo, quatro (10,25%) eram mestiços e 35 (90,75%) eram de raça específica, sendo oito (20,51%) da raça Lhasa Apso, seis (15,38%) da raça Shih-tzu, três (7,69%) da raça Poodle, três (7,69%) da raça Yorkshire Terrier, dois (5,12%) da raça Golden Retriever, e um cão das raças Pinscher (2,56%), Pequinês (2,56%), Maltês (2,56%), Spaniel Tibetano (2,56%), Jack Russell (2,56%), Boxer (2,56%), Bulldog Francês (2,56%), Pug (2,56%), Welsh Terrier (2,56%), Cocker Spaniel (2,56%), Schnauzer (2,56%) e Bichon Frisé (2,56%). A média de idade destes animais foi de $5,4 \pm 2,9$ anos e em relação ao gênero, 26 (66,67%) eram fêmeas e 13 (33,33%) eram machos.

Teste percutâneo no grupo controle e no grupo DA

No teste percutâneo, nenhum dos 10 cães do grupo controle reagiu aos extratos alergênicos de ácaros na concentração de 10 HEP. As pápulas de salina apresentaram média de 0 mm de diâmetro e as pápulas de histamina apresentaram média de $8,4 \pm 1,9$ mm de diâmetro.

Dos 39 cães com diagnóstico de DA *stricto sensu*, 18 (46,15%) reagiram para pelo menos um dos três ácaros avaliados, enquanto 21 (53,85%) apresentaram reação negativa no teste. Dentre esses 18 cães, 12 (66,67%) apresentaram reação a *Df*, 10 (55,56%) reagiram a *Dp* e 11 (61,12%) foram positivos para *Bt* (Tabela 1). Dos 18 animais positivos, 13 (72,22%) reagiram para mais de um ácaro simultaneamente, sendo 6 (46,15%) ao *Df* e *Dp*, 4 (30,76%) ao *Df* e a *Bt*, 1 (7,69%) ao *Dp* e *Bt*, e 2 (15,38%) cães reagiram aos três ácaros. A média papular dos animais que reagiram ao *Df* foi de $4,58 \pm 2,20$ mm, a média dos animais positivos ao *Dp* foi de $4,90 \pm 2,27$ mm e a média papular dos animais que reagiram a *Bt* foi de $3,63 \pm 1,92$ mm. A média das

pápulas de histamina neste grupo foi de $10,09 \pm 2,03$ mm e a média para as pápulas de salina foi de $0,97 \pm 1,38$ mm.

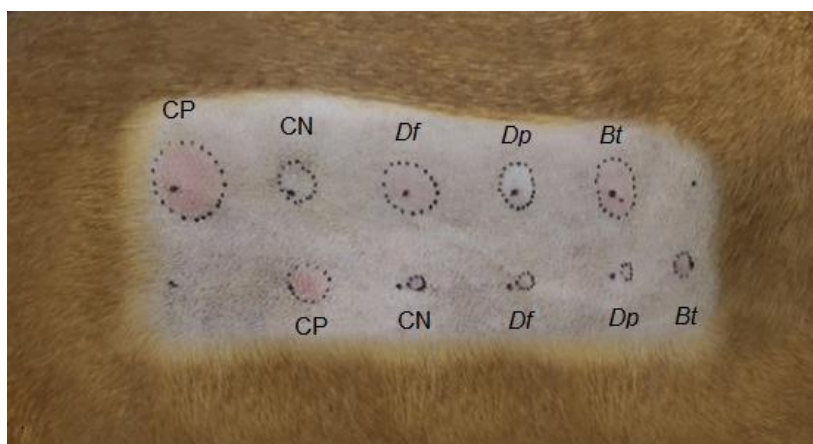


Figura 3. *Prick Test* (linha inferior) e teste intradérmico (linha superior) realizados simultaneamente em um cão com DA do estudo, evidenciando a formação de pápulas com o controle positivo, controle negativo e extratos alergênicos para *Df*, *Dp* e *Bt* para ambos os testes.

TID no grupo de cães controle e no grupo DA

A concentração de 100 UBE/mL para os três ácaros foi selecionada para a realização do TID nos animais com DA, já que apenas um animal do grupo controle (10%) foi considerado reagente aos extratos testados nas concentrações de 100 UBE/mL para *Df*, 50 UBE/mL e 100 UBE/mL para *Bt*.

Dos 39 cães com DA, 5 (12,82%) reagiram para algum dos três ácaros avaliados, enquanto 34 (87,18%) apresentaram reação negativa no teste. Destes cinco cães, quatro (80%) apresentaram reação a *Df*, nenhum reagiu ao *Dp* e dois (40%) foram positivos para *Bt* (Tabela 1). Dos cinco animais positivos, apenas um reagiu a mais de um ácaro simultaneamente. A média papular dos animais que reagiram ao *Df* foi de $12,12 \pm 2,28$ mm e a média papular dos animais que reagiram a *Bt* foi de $13,42 \pm 1,94$ mm. A média das pápulas de histamina neste grupo foi de $15,44 \pm 2,10$ mm e a média para as pápulas de salina foi de $8,39 \pm 1,24$ mm.

Ácaros testados e cães positivos			
<i>PRICK TEST</i>	DF	DP	BT
	12 ^a	10 ^a	11 ^a
TID	4 ^b	0 ^b	2 ^b

Tabela 1. Resultados de reatividade no teste percutâneo e no teste intradérmico dos cães com dermatite atópica do estudo; DP: *D. pteronyssinus*; DF: *D. farinae* e BT: *B. tropicalis*.

Letras diferentes equivalem a diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$).

Comparação entre o teste percutâneo e o TID no grupo DA

Dos 39 cães testados para *Df*, 30,77% dos animais foram positivos no teste percutâneo e 10,25% para o TID ($p=0,01$). Para o *Dp*, tem-se que 25,64% dos cães foram positivos no teste percutâneo e 0% para o TID ($p=0,0$), e para *Bt*, 28,20% dos cães foram positivos no teste percutâneo e 5,12% para o TID ($p= 0,002$). Assim, para os três ácaros testados a proporção de casos positivos no teste percutâneo foi estatisticamente superior ao TID.

Em apenas dois animais o *Prick Test* e o TID identificaram sensibilidade aos mesmos antígenos. Em um cão houve similaridade na identificação para *Df* e em outro cão houve a identificação para *Df* e *Bt* em ambos os testes.

Discussão

A avaliação do *Prick Test* em cães saudáveis identificou que não foram formadas pápulas com o uso da salina glicerizada, o que indica que a mesma pode ser utilizada como CN sem causar reações de contato irritante, e que o dispositivo utilizado para realizar o teste percutâneo não fornece traumatismo cutâneo excessivo. De forma similar, um estudo identificou que o puntor Duotip Test II® também não ocasionou reações positivas identificáveis após 20 minutos do *Prick Test* com o CN em gatos saudáveis¹⁷.

Valores médios de histamina em cães saudáveis de 4,9 mm e 6,8 mm já foram identificados com o *Prick Test*^{20,21}. A média das pápulas de histamina no teste percutâneo em cães do grupo controle foi de 8,4 mm de diâmetro, sendo superior aos valores encontrados em outros estudos. Esta variação pode ocorrer devido à diferença de pressão ocasionada entre diferentes pessoas para a realização do teste percutâneo, já que mesmas concentrações de extratos de histamina foram utilizadas, e também em decorrência de diferentes tipos de puntores utilizados. No presente estudo foram utilizados puntores de ponta dupla, o que permite uma maior penetração do CP, e conseqüentemente maiores valores de diâmetro médio.

A concentração de 10 HEP utilizada no *Prick Test* para os três ácaros não ocasionou reações positivas em cães saudáveis, e pode ser utilizada para o diagnóstico da sensibilidade em cães com DA. Similarmente, reações insignificantes de diversos extratos alergênicos foram visualizadas em gatos²² e cães saudáveis^{20,21,23}, o que demonstra a baixa ocorrência de resultados falso-positivos com o *Prick Test*.

A média das pápulas de salina em cães com DA no *Prick Test* foi de 0,97 mm, indicando que alguns pacientes podem apresentar formação de pápulas milimétricas até mesmo com esta solução inócua. Este fator é de extrema importância e deve ser levado em consideração devido a possíveis influências na interpretação do teste. No presente estudo as pápulas dos extratos alergênicos para ácaros foram consideradas positivas quando obtinham pelo menos 3 mm acima da pápula do CN. Em humanos, o método de interpretação que utiliza o valor de 3 mm acima do CN para considerar um paciente positivo parece indicar com maior confiabilidade a presença de Imunoglobulina-E (IgE) alérgeno-específico²⁴. Estudos na literatura veterinária com o *Prick Test* em cães não relatam a forma de interpretação utilizada para identificar um paciente positivo²³, ou consideram um animal positivo para

determinado alérgeno testado quando o mesmo apresenta valor acima de 3 mm, independente do CN²⁶, o que poderia ocasionar resultados falso-positivos.

Na medicina, o teste é considerado apto para ser interpretado em pessoas alérgicas quando a pápula do CP fornece valores superiores a 3 mm, o que indica que o paciente não fez uso de medicamentos que poderiam influenciar na interpretação do mesmo^{27,28}. Em um estudo utilizando cães com DA e o teste percutâneo, o valor médio das pápulas de histamina foi de 8,0 mm²¹. A média das pápulas de histamina dos animais do presente estudo foi de 10,0mm, o que evidencia que a concentração de histamina de 10 mg/mL pode ser utilizada no *Prick Test* e que o mesmo poderia ser interpretado, uma vez que os cães não estavam utilizando medicações que pudessem interferir na sua reatividade.

Os resultados deste estudo demonstraram que o *Prick Test* foi capaz de identificar a sensibilidade a ácaros em cães com DA com maior frequência do que o TID, com o mesmo nível de especificidade. O teste percutâneo permite um pronto reconhecimento antigênico e resposta imediata IgE dependente apenas com a penetração de pequenas quantidades de alérgeno na epiderme²⁴, diferentemente do TID, onde parte da reação mensurada pode ser proveniente de uma reação de contato irritante²⁵. Para que isto não ocorra o TID deve ser baseado em limiar irritativo³, como foi realizado em nosso estudo, porém isto ocasiona testes menos sensíveis, o que explicaria a maior ocorrência de sensibilização dos animais no *Prick Test* quando comparado com os resultados do TID.

Sensibilidade de 56,2% e especificidade de 87,7% no teste percutâneo já foram identificadas em cães atópicos, utilizando o TID como referência²¹. Porém, os valores utilizados de histamina para o TID foram de 0,025 mg/mL, o que ocasionou redução do *cut-off* para este teste, aumentando consequentemente a sua sensibilidade e reduzindo a do *Prick Test*. No presente estudo, não foi realizado cálculo baseado em sensibilidade e especificidade uma vez que o TID e o teste sorológico têm evidenciado na veterinária grande implicação de resultados errôneos. Embora o TID continue a ser um dos métodos de eleição para a determinação dos alérgenos relevantes no quadro clínico de um cão com DA³¹, o mesmo não pode ser considerado um verdadeiro exame padrão ouro devido a grande quantidade de resultados divergentes. Com base na avaliação realizada em cães atópicos neste estudo, o *Prick Test* pode ser um teste promissor, especialmente por conseguir identificar sensibilidade nos pacientes que o TID não identifica, sem que ocorram resultados falso-positivos. A maior identificação de pacientes sensibilizados a ácaros pode ser de grande relevância, uma vez que este teste pode subsidiar o uso de imunoterapia alérgeno-específica. Em humanos, já foi evidenciado que a imunoterapia baseada no *Prick Test* pode reduzir a gravidade dos sintomas e reduzir o uso de medicamentos para quadros alérgicos³². Esta correlação entre o teste percutâneo e a imunoterapia ainda não foi realizada na veterinária, o que serviria para indicar com maior confiabilidade a melhor correlação do *Prick Test* com o quadro alérgico dos pacientes.

Os valores percentuais de cães positivos para um dos três ácaros avaliados no teste percutâneo foi similar ao encontrado em outro estudo²³, onde 56% dos cães com DA foram positivos no *Prick Test* quando avaliados para ácaros e pólenes. Isso denota que o teste percutâneo pode ter uma maior correlação com a sintomatologia clínica do paciente, como já foi evidenciado em humanos^{18,29}. Esta identificação foi realizada na medicina com base em

testes de provocação, sendo que o *Prick Test* obteve alta correlação com os pacientes reativos à exposição de alérgenos³⁰.

O alérgeno domiciliar mais importante em Curitiba é o Der p 1, sendo que demais alérgenos pertencentes ao *Df* e a *Bt*, também estão presentes porém em menor relevância^{12, 33}. O teste percutâneo em cães com DA identificou sensibilidade aos três ácaros em proporções muito similares, indicando que *Df*, *Dp* e *Bt* podem ter papéis relevantes na sensibilização de cães com DA intradomiciliados. No teste percutâneo, 13 cães atópicos apresentaram sensibilidade a mais de um ácaro simultaneamente, sendo que os principais ácaros que causaram sensibilização em conjunto foram os *Df* e *Dp*. Esta reação conjunta pode ocorrer devido à reatividade cruzada que acontece entre os ácaros, especialmente os de mesma família³⁴.

O TID tem sido amplamente utilizado em testes alérgicos de cães com DA, porém o uso de concentrações distintas de histamina e extratos alergênicos não padronizados pode ocasionar resultados divergentes³¹. Neste tipo de teste cutâneo, o uso de menores concentrações de histamina reduz o ponto de corte, aumentando a sua sensibilidade³⁵. Concentrações do CP que apresentem reações cutâneas com diâmetros menores que 10 mm não devem ser usadas para a avaliação no TID³. A média popular da histamina com 0,05 mg/mL utilizada no estudo foi de 15,44 mm, o que indica boa concentração para a aplicação como CP.

Dos 39 cães com DA que foram submetidos ao TID, apenas 5 (12,82%) foram positivos para um dos três ácaros avaliados. O alto percentual de negatividade pode ser explicado pela baixa sensibilidade do teste, normalmente ocasionado por altas concentrações de histamina e devido ao fato das concentrações dos extratos alergênicos serem selecionadas a partir de limiar irritativo em cães saudáveis. O limiar irritativo reduz a sensibilidade do teste uma vez que seleciona extratos alergênicos em concentrações ideais, diferenciando irritação cutânea de sensibilização^{36,37}.

Quando os testes cutâneos foram realizados nos cães do estudo verificou-se que a sensibilidade dolorosa ao teste percutâneo foi reduzida, sendo necessária menor contenção para o animal. Nenhum animal precisou ser sedado para a realização de ambos os testes, porém o *Prick Test* foi melhor tolerado em todos os casos. O nível de cortisol plasmático, para avaliar o grau de estresse, parece se elevar após a realização do TID³⁸ e em um estudo²¹ observou-se que o mesmo não ocorre com o teste percutâneo em cães, sendo que em alguns casos o nível de cortisol posterior ao teste foi inferior ao mensurado no início.

Nenhum efeito adverso sistêmico foi observado nos animais que realizaram o teste percutâneo e o TID. Apenas reação local caracterizada por eritema, edema e prurido nos pontos de aplicação foi evidente no TID. O *Prick Test* em humanos está relacionado a menores reações adversas quando comparado com o TID. Reações fatais ao TID já foram relatadas em pessoas, e com o *Prick Test* apenas uma³⁹. Dado a alta sensibilidade em humanos e aumento dos riscos de reações adversas sistêmicas, o TID não é recomendado como teste de primeira escolha⁴⁰.

O presente estudo permitiu concluir que o teste percutâneo (*Prick Test*) foi capaz de identificar a sensibilidade a ácaros de forma mais frequente que o TID em cães com DA, sendo uma alternativa de teste alérgico ao TID e sorológico.

Referências

1. Olivry T, Deboer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall TJ. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology*. 2010; 21: 233–248.
2. Gonzales AJ, Humphrey WR, Messamore JE, Fleck TJ, Fici GJ, Shelly AJ, Teel JF, Bammert GF, Dunham AS, Fuller TE, McCall RB. Interleukin-31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*. 2013; 24: 48-55.
3. Miller WD, Griffin CE, Campbell KL. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology. 7 ed. St Louis: Elsevier/ Saunders, 2013. p. 378.
4. Schlotter YM, Rutten VP, Riemers FM, Knol EF, Willemse T. Lesional skin in atopic dogs shows a mixed Type-1 and Type-2 immune responsiveness. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2011; 143: 20-26.
5. Hill PB. Management of atopic dermatitis. In Proceedings of the European Veterinary Conference: Amsterdam, the Netherlands 2009. 23: 5-6.
6. McCandless EE, Rugg CA, Fici GJ, Messamore JE, Aleo MM, Gonzales AJ. Allergen-induced production of IL-31 by canine Th2 cells and identification of immune, skin, and neuronal target cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2014; 157: 42-48.
7. Marsella R, Nicklin C e Lopez J. Studies on the role of routes of allergen exposure in high IgE-producing beagle dogs sensitized to house dust mites. *Veterinary Dermatology*. 2006; 17:306-312.
8. Fernández-Caldas E. On mite allergy in dogs and humans. *International Archives of Allergy and Immunology*. 2013; 160: 329-330.
9. Mueller RS, Janda J, Jensen-Jarolim E, Rhyner C, Marti E. Allergens in veterinary medicine. *European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015; 1:1-9.
10. Sade K, Roitman D, Kivity S. Sensitization to Dermatophagoides, Blomia tropicalis, and other mites in atopic patients. *Journal of Asthma*. 2010; 47:849-852.
11. Cunha VES, Silva MH, Faccini JLH. Serological identification of house dust mite allergens in dogs with atopic dermatitis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2012; 32: 917-921.
12. Assunção DL, Farias MR, Barbosa M, Machado LH. Evaluation of the concentration of allergens from mites in fur and households dust of dogs with atopic dermatitis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2017; 1-6

13. Oliveira JP. Identificação sorológica de alérgenos de ácaros domiciliares associados à sensibilização em cães com dermatite atópica (tese de mestrado). Curitiba, PR: Pontifícia Universidade Católica do Paraná; 2015.
14. Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology*. 2010; 21: 23-31.
15. Schneider L, Tilles S, Lio P, Boguniewicz M, Beck L, Lebovidge J, Novak N. Atopic dermatitis: A practice parameter update 2012. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013; 131:295-299.
16. Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill P, Griffin C. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *Veterinary Research*. 2015; 11: 1-13.
17. Rossi MA, Messinger L, Olivry T, Hoontrakoon R. A pilot study of the validation of percutaneous testing in cats. *Veterinary Dermatology*. 2013; 24: 488-493.
18. Motta AA, Kalil J, Barros MT. Testes cutâneos. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*. 2005; 28: 73-83.
19. Olivry T, Mueller RS, Prélaud P. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (1): duration of elimination diets. *BMC Veterinary Research*. 2015; 11:225.
20. Rocha MIL. Skin prick tests – preliminary evaluation of this technique for the diagnosis of canine atopic dermatitis sensitization (tese de mestrado). Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa; 2012.
21. Matias DF. Avaliação de uma nova técnica em alergologia veterinária: testes cutâneos por picada em cães (tese de mestrado). Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa; 2013.
22. Gentry CM, Messinger L. Comparison of intradermal and percutaneous testing to histamine, saline and nine allergens in healthy adult cats. *Veterinary Dermatology*. 2016; 27:370- e92.
23. Lorente C, Ruiz P. Preliminary assessment of percutaneous (prick) test in dogs. *Veterinary Dermatology*. 2015; 26: 298.
24. Bernstein IL, Li JT, Bernstein DI, et al. Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2008; 100: S1-S148.

25. Turlas K, Burman D. Allergy Testing. *Primary Care: Clinics in Office Practice*. 2016; 43: 363–374.
26. Carmona S, Arias PT, Dominguez MSG, Ramirez D. Comparación del uso del Test Intradérmico Vs Prick Test en pacientes con dermatitis atópica canina. In: 3º Congreso Latinoamericano de Dermatología Veterinaria. Buenos Aires; 2015.
27. Antunes J, Borrego L, Romeira A, Pinto P. Skin prick tests and allergy diagnosis. *Allergologia et Immunopathologia*. 2009; 37: 155-164.
28. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, et al. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy*. 2012; 67: 18-24.
29. Fatteh S, Rekkerth DJ, Hadley JA. Skin prick/puncture testing in North America: a call for standards and consistency. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2014; 10: 1-9.
30. Dreborg S. The skin prick test in the diagnosis of atopic allergy. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1989; 21: 820-821.
31. Hensel P, Austel M, Medleau L, Zhao Y, Vidyashankar A. Determination of threshold concentrations of allergens and evaluation of two different histamine concentrations in canine intradermal testing. *Veterinary Dermatology*. 2004; 15:304-308.
32. Rasool R, Shera IA, Nissar S, Shah ZA, Nayak N, Siddiqi MA, Sameer AS. Role of skin prick test in allergic disorders: prospective study in Kashmiri population in light of review. *Indian Journal of Dermatology*. 2013; 58: 12-17.
33. Souza CCT, Rosário, FNA. Perfil de aeroalérgenos intradomiciliares comuns no Brasil: revisão dos últimos 20 anos. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*. 2012; 35: 47-52.
34. Sidenius KE, Hallas TE, Poulsen LK, Mosbech H. Allergen cross-reactivity between house-dust mites and other invertebrates. *Allergy*. 2001; 56:723-733.
35. Lima ME. Acurácia de testes sorológicos no diagnóstico de sensibilidade a ácaros em cães com dermatite atópica (tese de mestrado). Curitiba, PR: Pontifícia Universidade Católica do Paraná; 2015.
36. Koebrich S, Nett-Mettler C, Wilhelm S, Favrot C. Intradermal and serological testing for mites in healthy beagle dogs. *Veterinary Dermatology*. 2012; 23:192-e39.
37. Ferreira RR. Avaliação de diferentes concentrações de histamina e extratos alergênicos em cães sadios submetidos a teste intradérmico

- (tese de doutorado). Porto Alegre, RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.
38. Frank LA, Kunkle GA, Beale KM. Comparison of serum cortisol concentration before and after intradermal testing in sedated and nonsedated dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1992; 200: 507–510.
39. Bernstein D I, Wanner M, Borish L, Liss GM. Twelve-year survey of fatal reactions to allergen injections and skin testing: 1990-2001. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2004; 113:1129–1136.
40. Liccardi G, Amato GD, Canonica GW , Salzillo A, Piccolo A, Passalacqua G. Systemic reactions from skin testing: literature review. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. 2006; 16: 75-78.

CAPITULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os testes alérgicos disponíveis para a identificação da sensibilidade a ácaros em cães com DA, como o TID e o teste sorológico, ainda apresentam muitas implicações errôneas e desvantagens. A utilização de um teste com maior correlação com a sintomatologia clínica do paciente, como o *Prick Test* para humanos, faz se necessária para que ocorra uma minimização do quadro alérgico, uma vez que os mesmos podem subsidiar o uso da imunoterapia alérgeno-específica.

O presente estudo demonstrou que o teste percutâneo foi capaz de identificar a sensibilidade a ácaros de forma mais frequente que o TID em cães com DA. A alta sensibilidade deste teste em cães pode aumentar a identificação a alérgenos ambientais que precipitam ou exacerbam o eczema atópico, favorecendo um tratamento direcionado e uma exclusão ambiental mais eficaz.

Para estudos futuros sugere-se a comparação do *Prick Test* com testes sorológicos, para avaliar se os mesmos apresentam divergências em relação aos resultados, uma comparação entre diferentes tipos de puntores, e avaliação da eficácia de imunoterapia alérgeno-específica baseada no teste percutâneo em cães atópicos.

ANEXO (S)

Anexo 1: Critérios de Favrot para diagnóstico da DA canina

-
- | | |
|---|---|
| 1 | Início dos sintomas antes de três anos de idade |
| 2 | Cão intra-domiciliado |
| 3 | Melhora do prurido com terapia à base de glicocorticoides |
| 4 | Presença de prurido primário |
| 5 | Extremidades distais dos membros torácicos afetados |
| 6 | Condutores auditivos afetados |
| 7 | Margens das bordas auriculares não afetadas |
| 8 | Região lombo-sacral não afetada |
-

Fonte: Olivry, 2010.