



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA

Ana Laura Mendes Almeida

**Avaliação objetiva de teste cutâneo de leitura imediata (*skin
prick test*) através de métodos planimétricos por imagem, e
termometria da reação**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre
em Pesquisa e Desenvolvimento - Biotecnologia Médica.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Plana Simões

Co-orientador: Prof. Dr. Jaime Olbrich Neto

Botucatu

2020

Ana Laura Mendes Almeida

**AVALIAÇÃO OBJETIVA DE TESTE CUTÂNEO DE
LEITURA IMEDIATA (*SKIN PRICK TEST*) ATRAVÉS
DE MÉTODOS PLANIMÉTRICOS POR IMAGEM, E
TERMOMETRIA DA REAÇÃO**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre(a) em Pesquisa e desenvolvimento –
Biotecnologia Médica.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Plana Simões

BOTUCATU

2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Almeida, Ana Laura Mendes.

Avaliação objetiva de teste cutâneo de leitura imediata (skin prick test) através de métodos planimétricos por imagem, e termometria da reação / Ana Laura Mendes Almeida.
- Botucatu, 2020

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Rafael Plana Simões
Coorientador: Jaime Olbrich Neto
Capes: 40101088

1. Teste de punção. 2. Teste cutâneo de alergia.
3. Antígenos. 4. Termômetro e termometria. 5. Alergia e imunologia - Testes. 6. Hipersensibilidade.

Palavras-chave: Punção; Skin prick test; Termometria; Teste de punção.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE ANA LAURA MENDES ALMEIDA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PESQUISA E DESENVOLVIMENTO (BIOTECNOLOGIA MÉDICA), DA FACULDADE DE MEDICINA.

Aos 28 dias do mês de fevereiro do ano de 2020, às 14:00 horas, no(a) FCA/Botucatu - Unesp, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. RAFAEL PLANA SIMÕES - Orientador(a) do(a) Depto de Bioprocessos e Biotecnologia / FCA/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. REJANE MARIA TOMMASINI GROTTTO do(a) Depto. de Bioprocessos e Biotecnologia / FCA/Botucatu - Unesp, Prof. Dr. SERGIO AUGUSTO RODRIGUES do(a) Depto. de Bioprocessos e Biotecnologia / FCA/Botucatu - Unesp, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de ANA LAURA MENDES ALMEIDA, intitulada **Avaliação objetiva de teste cutâneo de leitura imediata (skin prick test) através de métodos planimétricos por imagem, e termometria da reação**. Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: APROVADA _____. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. RAFAEL PLANA SIMÕES

Profa. Dra. REJANE MARIA TOMMASINI GROTTTO

Prof. Dr. SERGIO AUGUSTO RODRIGUES

“Só se vê bem com o coração, o essencial é invisível aos olhos.”
O pequeno príncipe

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos,

Ao Professor Dr. Rafael Plana Simões, meu orientador, por toda atenção, paciência, empenho, dedicação e apoio. Obrigada por não medir esforços em desenvolver nosso trabalho, por dividir comigo seus conhecimentos e por fazer tudo acontecer.

Ao Professor Dr. Jaime Olbrich Neto, meu coorientador, por ser meu exemplo de profissional dentro da imunologia e pediatria, por todos conhecimentos compartilhados, pelas oportunidades, incentivos profissionais e pessoais e por acreditar em meu potencial.

À Professora Dra. Márjorie de Assis Golim, por toda ajuda, incentivo, apoio, ideias e conselhos para a concretização desse trabalho.

Às minhas amigas e colegas de trabalho, Camila Alves Tonami, Paula Oba e Patricia Orlandi, por todo apoio, ajuda, paciência e compreensão durante o período em que o trabalho estava sendo desenvolvido.

Ao amigo e colega de mestrado Guilherme dos Santos Sousa que esteve comigo desde o comecinho até o final da concretização do trabalho, obrigada por sua amizade, conhecimentos, ajuda, empenho e humor.

Aos meus novos amigos que o trabalho me trouxe, os meninos que muito ajudaram, dedicando seu tempo e empenho para fazer tudo acontecer – Ramon, Lucas, Edson, e demais colaboradores. Obrigada, obrigada e obrigada!

Obrigada aos meus amigos Botucudos, minha família em Botucatu – Patricia Orlandi Falbo, Daniel Falbo, Pedro Falbo, Natiara Magolbo, amigos da família Clínica Spazio Vita, amigos do ambulatório de Pediatria do HC-FMB – Unesp Botucatu, em especial a Silvia Vizotto e amigos do pronto atendimento – Unimed Botucatu.

E por ultimo e não menos importante, minha família, aos meus pais, Sônia e Roberto, minha irmã Ana Carolina, meus tios, primos e avos amados e meus filhos caninos, Marieta, Louise, Júlio, Luke, Dudu e Luna (in memoriam), obrigada por me apoiarem e estarem comigo em todos os momentos de minha jornada, amo vocês.

RESUMO

O teste cutâneo de leitura imediata (*skin prick test*) é utilizado para avaliar a sensibilização de pacientes a antígenos à partir de uma resposta mediada por IgE. Trata-se de um exame prático e rápido, porém o seu diagnóstico depende de instrumentos para a medição da resposta alérgica e de interpretação do observador. O método convencional para inferir sobre a reação alérgica é realizado a partir de dimensões das pápulas determinadas com régua ou paquímetro. Para tornar o diagnóstico menos dependente de interpretação humana, o presente estudo propõe dois métodos alternativos para inferir sobre a reação alérgica: análise computacional da área da pápula e um estudo da variação da temperatura da pele do paciente na região de puntura. Para isso foi realizado o *prick test* com histamina em 13 participantes selecionados aleatoriamente. A determinação da área pelo método convencional foi realizada a partir de dimensões das pápulas medidas com paquímetro digital 30 minutos após a puntura. A área também foi determinada utilizando um algoritmo computacional em linguagem Python a partir de fotografia da região de puntura obtida com o uso de um *smartphone*. Também foi determinada uma grandeza denominada desvio de circularidade para cada pápula analisada. Por final, a variação da temperatura da região de puntura foi monitorada utilizando um sensor infravermelho de temperatura, o qual coletou dados de temperatura durante 30 minutos. Os resultados mostram que as áreas consideradas como áreas reais das pápulas (obtidas computacionalmente) diferem significativamente das áreas determinadas utilizando o método convencional ($p\text{-value} = 0,0005674$), especialmente quando os contornos das pápulas são irregulares com formação de pseudópodes. O monitoramento de temperatura revelou que há um aumento consistente da temperatura nos primeiros minutos após puntura, seguido de estabilização, de forma que os dados puderam ser ajustados a uma curva logística ($R^2 = 0,96$). Esse ajuste mostrou que o melhor tempo para medir a temperatura das pápulas é a partir de 10 minutos após a puntura, quando ocorre a estabilização da temperatura. Os resultados mostram ainda que a temperatura de estabilização da pápula tem correlação significativa positiva com sua área ($p\text{-value} = 0,005585$). Com isso, pode-se concluir que o método computacional proposto é mais preciso para inferir a área da pápula e que a temperatura de estabilização pode ser utilizada como método alternativo para inferir sobre a reação alérgica. Os dois métodos apresentados podem, dessa forma, contribuir para o diagnóstico da reação alérgica e para avaliar medicamentos que se proponham a reduzir a intensidade da resposta IgE mediada.

Palavras-chave: Teste de puntura; *skin prick test*; termometria da reação; puntura; área da pápula.

ABSTRACT

The skin prick test is used to diagnose patients' sensitization to antigens through a mediated IgE response. It is a practical and quick exam, but its diagnosis depends of instruments for measuring the allergic response and observer's interpretation. The conventional method for inferring about the allergic reaction is performed from the dimensions of the papules, which are measured using a ruler or a caliper. To make this diagnosis less dependent of human interpretation, the present study proposes two alternative methods to infer about the allergic reaction: computational analysis of the papule area and a study of the temperature variation of the patient's skin in the puncture region. For this purpose, the histamine prick test was performed on 13 patients random selected. The areas were determined by the conventional method using the dimensions of the papules measured with a digital caliper 30 minutes after the puncture. The papule areas were also determined by a Python algorithm using photos of the puncture region obtained by a smartphone. A variable named circularity deviation was also determined for each analyzed papule. The temperature variation was monitored using an infrared temperature sensor, which collected temperature data for 30 minutes. The results shown that the areas considered as real papule areas (computationally determined) differed significantly from the areas determined by the conventional method (p-value = 0.0005674), especially when the papules' contours were irregular due the pseudopod formation. Temperature monitoring revealed that there was a consistent increase in the temperature in the first minutes after the puncture, followed by stabilization, so that the data could be adjusted by a logistic equation ($R^2 = 0.96$). This adjustment showed that the optimal time to measure the temperature is 10 minutes after the puncture, when occurs the temperature stabilization. The results also shown that this temperature stabilization has a significant correlation with papule area (p-value = 0.005585). Thus, we concluded that the proposed computational method is more accurate to infer the papule area and the temperature can be used as an alternative method to infer about the allergic reaction. Therefore, these two methods can contribute to the diagnosis of the allergic reaction and to evaluate drugs that aim to reduce the intensity of the IgE-mediated response.

Keywords: Puncture test; skin prick test; reaction thermometry; papule area.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	2
2. METODOLOGIA	4
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	12
4. CONCLUSÃO.....	17
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

1. INTRODUÇÃO

Testes cutâneos, *in vivo*, para identificação de sensibilização por alérgenos iniciaram-se no século 19, de forma empírica e sem padronização (1,2). Na metade do século passado a administração de antígenos através de puntura foi sugerida. A padronização dos testes tornou-se necessária, para que se pudesse haver comparação, independentemente de onde e quem estivesse realizando o teste. A padronização envolve o puntor, o alérgeno e a maneira como o teste é realizado para diagnóstico (3,4). O prick test cutâneo é um teste de leitura imediata de reação mediada por IgE, e é relativamente simples e fácil de realizar, porém apresenta limitações na precisão do diagnóstico (5–7).

As medidas do tamanho da reação formada pelo alérgeno aplicado na pele após de puntura, e que corresponderiam a um resultado positivo, são feitos manualmente, com certo esforço, e cuja avaliação depende do examinador (8). A atribuição de valores métricos para a geometria da reação formada e a média de seus diâmetros é aceito como uma forma de comparar resultados, uma vez que a reação passa a ser considerada como indicativa de sensibilização, se a reação ao alérgeno aplicado for maior que 3 mm do diâmetro da reação desencadeada pela aplicação de um controle denominado negativo, e maior que a metade do valor medido da reação à histamina, considerada o controle positivo (3).

A avaliação de um mesmo contorno geométrico por diferentes examinadores, e também pelo mesmo, em diferentes momentos, produz resultados variáveis, e portanto limita a necessária reprodutibilidade, podendo produzir resultados distintos e até conflitantes (8). Há dúvidas se o mesmo teste realizado na região volar e na infraescapular teriam o mesmo resultado, ou indicariam a mesma sensibilidade para identificar a sensibilização. Para evitar estes conflitos seriam necessários métodos que reduzissem os fatores de erro durante a avaliação do contorno e área da reação e, portanto, uma alternativa seria o desenvolvimento de tecnologias que pudessem avaliar os limites geométricos e a temperatura da área da reação produzida, tanto da pápula quanto da hiperemia ao redor da mesma, conforme figura abaixo. Os contornos irregulares e a extensa área de hiperemia pode confundir a interpretação (9). A Figura 1 apresenta um exemplo dos possíveis contornos da área de hiperemia.



Figura 1. Fotografia ilustrando os possíveis contornos irregulares da área de hiperemia da pápula. Banco de fotos do pesquisador.

Isto tem importância aumentada na medida em que dependendo da pigmentação da pele a identificação do contorno, e principalmente da área hiperemiada, tornam-se um fator de complicação a mais. Métodos com uso de câmera fotográfica, câmeras termográficas e análise por cor feita com uso de programas de computador têm sido propostas (9–14), porém tratam-se de técnicas que necessitam de equipamentos de alto custo relativo, o que se caracteriza como fatores limitantes para o uso dessas tecnologias. Contudo, esses trabalhos mostram que existe variação significativa de temperatura da pele do paciente caso haja reação alérgica. Rok et al. (15) utilizaram métodos termográficos com modelo matemáticos e concluíram que os métodos tem alta sensibilidade e contribui na avaliação dos pacientes independentemente da idade e sensibilidade cutânea.

Nesse sentido, o presente estudo apresenta uma avaliação da acurácia do método convencional de determinação da área da pápula quando comparado com uma técnica computacional, assim como a proposição de uma técnica para diagnóstico da reação alérgica que pode ser realizada pela simples determinação da variação de temperatura na pele do paciente durante o teste de puntura.

2. METODOLOGIA

2.1. Soluções alergênicas

Foi utilizado histamina na proporção 1:10 da marca - ALC® (Salute Vita farmácia de manipulação), visto que ela é o parâmetro para definir o controle positivo nas reações que comparam vários antígenos. No presente estudo optou-se pela histamina em função de não apresentar possibilidade de erro na interpretação, pois não depende da sensibilização previa como ocorreria se fosse testado alérgenos implicados em alergia respiratória, por exemplo, ácaros.

2.2. Determinação do número amostral

Previamente à seleção dos participantes da pesquisa foram realizadas análises estatísticas para estimar o número amostral necessário para realizar as inferências propostas neste estudo.

O primeiro objetivo foi inferir se a variação de temperatura da pele do paciente tem correlação com a área da pápula formada no teste de puntura. Para estimar o número amostral para essa inferência foi utilizado a biblioteca “Power Analysis” (pwr) do *software* R (versão 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria) (16,17). Foi utilizada a função de correlação (pwr.r.test) com os seguintes parâmetros: 1- coeficiente de correlação estimado (r) = 0,75; 2- nível de significância (α) = 0,05 e; 3- probabilidade de um evento ocorrer (*power*) = 0,90. Esse pré-teste resultou em um número amostral estimado de 13 indivíduos ($n = 13$).

O segundo objetivo foi inferir se a área real das pápulas formadas após o teste de puntura diferem estatisticamente da área inferida utilizando o método padrão de medida. Para estimar o número amostral para essa inferência foi utilizado novamente a biblioteca “Power Analysis” (pwr) do *software* R (versão 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria) (16,17). Contudo, para esse teste foi utilizada a função para a função para o Teste T Pareado (pwr.t.test) com os seguintes parâmetros: 1- efeito de tamanho estimado em pré-testes (Cohen’s) $d = 0,97$; 3- nível de significância (α) = 0,05 e; 4- probabilidade de um evento ocorrer (*power*) = 0,90. Esse pré-teste resultou em um número amostral estimado de 13 indivíduos por grupo ($n = 13$).

Após essas análises foi determinado então o valor de n ($n = 13$) para a realização dos experimentos subsequentes.

2.3. Seleção de pacientes

Foram selecionados participantes adultos, que não estavam em uso de anti-histamínicos ou corticóide oral, em número de 13, selecionados por conveniência, atendidos na disciplina de alergia e imunologia pediátrica no ambulatório de imunologia clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HCFMB) convidados a participar do estudo sendo respeitados todos os trâmites éticos e legais envolvidos em pesquisa.

2.4. Monitoramento da Temperatura

Os experimentos de monitoramento da temperatura durante o teste de puntura foram realizados utilizando um sensor de temperatura sem contato (Modelo MLX90614, Melexis, Ypres, Belgium), utilizado em conjunto com um microcontrolador (Modelo ATmega32u4, Aduino, Duemilanove, Italy) e uma plataforma de aquisição de dados Parallax Data Acquisition tool (PLX-DAQ) (18). O sensor de temperatura foi posicionado a uma distância de 1,5 cm do braço do paciente utilizando um suporte desenvolvido pelo grupo de pesquisa formado para o desenvolvimento desse trabalho, composto por alunos de graduação da faculdade de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da FCA – Unesp Botucatu e alunos inscritos no programa de pós graduação em pesquisa e biotecnologia medica, sendo o suporte impresso em impressora 3D. A Figura 1 ilustra o dispositivo utilizado.

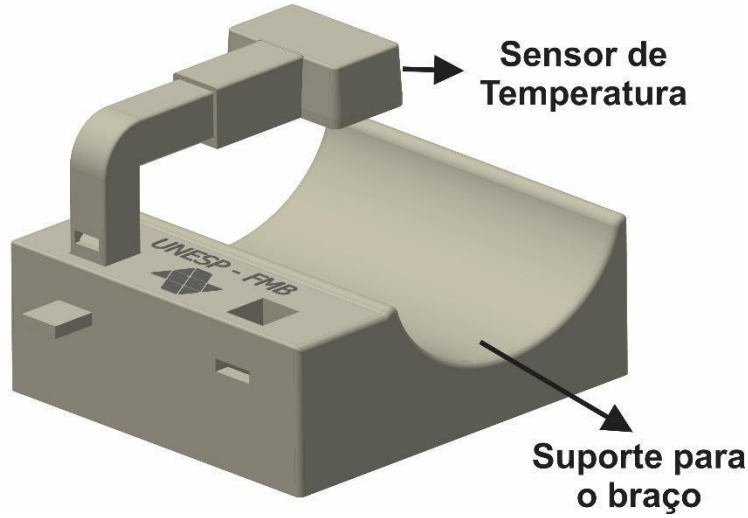


Figura 1. Dispositivo utilizado para monitoramento da temperatura durante o teste de puntura.

Essa montagem permitiu fazer a aquisição da temperatura durante o processo de fotoativação em intervalos de 0,5 segundo. A variação da temperatura foi monitorada durante 30 minutos a partir da puntura.

Os dados de temperatura obtidos para cada paciente foram modelados por uma adaptação da equação diferencial de 1ª ordem proposta por Pierre François Verhulst e conhecida como equação logística (Eq. 1), a qual é definida como

$$\frac{dT}{dt} = kP \left(1 - \frac{T}{T_{estabilização}} \right), \quad (\text{Eq. 1})$$

onde: T é a temperatura da pápula no domínio do tempo t , k é a taxa de variação da temperatura no início do processo de monitoramento e; $T_{estabilização}$ é uma variável conhecida como suporte de carga, a qual, neste caso, está associada ao valor de estabilização da temperatura ao longo do processo (19,20). A equação logística tem solução analítica, conforme segue:

$$T(t) = \frac{M}{1 + \left(\frac{1}{T(0)} - \frac{1}{T_{estabilização}} \right) T_{estabilização} e^{-kt}}. \quad (\text{Eq. 2})$$

A Figura 2 mostra graficamente o comportamento da função apresentada na Eq. 2, na qual pode ser observado uma fase de crescimento rápido da temperatura e uma fase de estabilização.

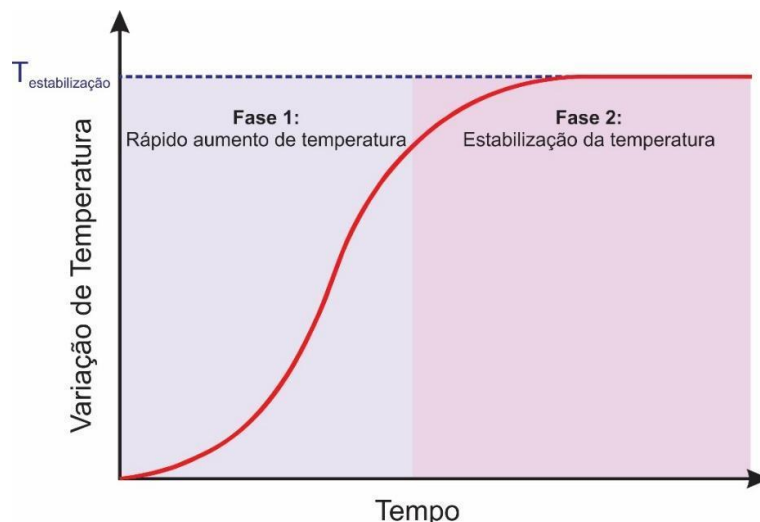


Figura 2. Representação gráfica da função logística aplicada para modelagem da variação de temperatura.

Esse modelo foi aplicado para caracterizar e ajustar as curvas de variação da temperatura no presente trabalho com o objetivo de determinar os parâmetros k e $T_{estabilização}$, assim como seus respectivos intervalos de confiança. Adicionalmente foi determinada ainda a temperatura máxima da pápula durante o intervalo de monitoramento, nomeada por $T_{máxima}$.

2.5. Determinação da área da pápula

A área da pápula foi determinada de duas maneiras diferentes. O primeiro método foi através do teste de puntura realizado segundo a padronização da Academia Europeia de alergia e imunologia clínica (3). Após antissepsia com solução alcoólica a 70°, colocou-se na face volar de cada antebraço dos voluntários uma gota (volume médio estimado de 50 μ L) de histamina, em concentração 1:10 e com o auxílio de puntor de plástico descartáveis (Alko®, Rio de Janeiro), posicionada a um ângulo de 90 graus, fez-se uma puntura na pele sob a gota do extrato, atingindo a epiderme, e mantida a pressão sobre o puntor por aproximadamente cinco segundos (Figura 3). Um minuto após a introdução da histamina na pele, o líquido excedente foi retirado com papel absorvente. O tempo total de leitura do teste foi de 30 minutos após a aplicação da

histamina, medindo-se os diâmetros das pápulas com paquímetro digital. Os testes foram realizados pelo mesmo profissional qualificado e foram considerados positivos somente em pacientes que apresentaram resposta com formação de pápula, independentemente do tamanho.



Figura 3. Figura exemplificando a puntura na pele sob a gota de histamina.

O segundo método consistiu inicialmente na aquisição de fotos das pápulas utilizando um *smartphone* convencional. No momento da aquisição das fotos foi colado no braço de cada paciente um adesivo de formato quadrado e de dimensões conhecidas: 3 cm $\times$ 3 cm (chamado de adesivo de referência). Essas fotos foram posteriormente editadas utilizando o *software* Corel Photo-Paint, criando um segmento de pixels pintados de cor magenta (R = 255, G = 0, B = 255) nos pixels correspondentes à área da pápula e outro segmento de cor preta (R = 0, G = 0, B = 0) para a região do adesivo de referência. Todos os demais pixels da imagem foram pintados com a cor vermelha (R = 255, G = 0, B = 0). A Figura 4 ilustra um exemplo de uma foto da região da pápula e a imagem editada.

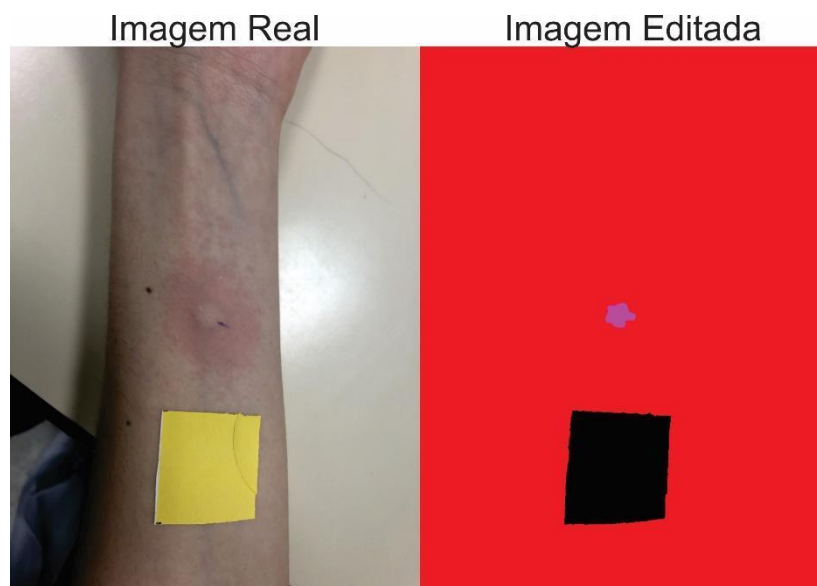


Figura 4. Exemplo de uma foto da região de pápula (à esquerda) e imagem após edição da foto (à direita).

Na sequência, as áreas das pápulas foram determinadas utilizando um *script* escrito em linguagem Python que faz a contagem do número de pixels correspondentes à região de pápula e o número de pixels correspondentes à região do adesivo de referência. Utilizando razões de proporcionalidade simples foram determinadas as áreas consideradas como áreas reais de cada pápula. A validação desse método foi realizada aplicando o mesmo procedimento descrito para determinação da área de adesivos circulares (chamados de adesivos testes) com área pré-determinada de $0,34 \text{ cm}^2$, conforme ilustrado na Figura 5. Essa validação foi realizada utilizando 10 fotos diferentes (similares às apresentadas na Figura 5). O erro percentual médio entre a área real do adesivo teste e da área determinada utilizando o método computacional para foi de 7,4 %.



Figura 5. Exemplo de uma foto utilizada para validação do método computacional para cálculo de área da pápula. Na foto é possível visualizar dois adesivos: o adesivo de referência (utilizado para determinar a área da pápula) e o adesivo de teste (utilizado para mimetizar uma pápula real).

O teste T pareado foi então utilizado para inferir se as áreas determinadas pelo método convencional e as áreas reais das pápulas apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Essa análise estatística foi realizada utilizando o *software* R (versão 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria) (16).

2.6. Determinação do desvio de circularidade das pápulas

A grandeza denominada desvio de circularidade é muito utilizada na área de engenharia para avaliar a uniformidade da circularidade de peças ou corpos de prova (21). Essa grandeza é calculada a partir de um centro geométrico e do raio médio do objeto a ser analisado, sendo neste caso o objeto a pápula. Sendo assim, calculamos como sendo o desvio de circularidade (R_{error}) o valor dado por

$$R_{error} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sqrt{(R_i - \bar{R})^2} , \quad (\text{Eq. 3})$$

onde: N é o número total de subdivisões de uma rotação completa em 360° para o qual as medidas serão realizadas (as quais irão gerar ângulos θ_i igualmente espaçados); R_i é o raio do objetivo em um ângulo θ_i e; $\bar{R}$ é o raio médio do objeto (22).

2.7. Análise de correlação entre áreas das pápulas e dados sobre variação da temperatura

Os coeficientes obtidos do ajuste dos dados de temperatura à curva logística e as áreas das pápulas foram submetidos ao teste de correlação de Spearman. O objetivo dessa análise foi verificar e inferir sobre a existência de correlação estatisticamente significativa da área da pápula (determinada pelo método convencional e área real da pápula) e os valores de k , $T_{estabilização}$ e $T_{máxima}$. Para essa análise foi utilizado novamente o software R (versão 3.2.2, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria) (16,23), sendo consideradas correlações estatisticamente significativas aquelas com p -value menor que 0,05.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O teste cutâneo de leitura imediata, conhecido como *skin prick test*, é um dos métodos mais comuns e uteis para o diagnóstico de sensibilização a alérgenos conhecidos e utilizados. É uma atividade que a maioria dos profissionais da área compreendem e realizam, porém apresenta limitações sob o ponto de vista de padronização absoluta uma vez que a leitura e demais etapas do teste, incluindo a força aplicada no puntor, o tipo do puntor e a qualidade dos antígenos, é dependente do examinador. Desta forma os vários centros de pesquisa tentam um método que possa reduzir este viés examinador- dependente, como a introdução de técnicas que possam padronizar e avaliar de forma mais exata a resposta ao teste. As várias tentativas utilizando múltiplas tecnologias, diferentes sistemas e algoritmos demonstram a dificuldade de se chegar a um consenso, desta forma, estudos que tragam mais informação sobre o tema são necessários.

No presente estudo o monitoramento da temperatura mostra que existe um padrão consistente de variação da temperatura nos experimentos realizados. Nesse padrão observa-se um rápido aumento da temperatura nos minutos iniciais do processo (aproximadamente exponencial), seguido de uma estabilização da temperatura a partir de 600 segundos (ou 10 minutos) após o início do processo (Figura 6). Esse padrão de curva pôde ser ajustado por uma curva logística, sendo obtido um coeficiente de determinação $R^2 = 0,96$. Os resultados desse ajuste mostram que $T_{estabilização} = 1,83$ °C, com intervalo de confiança de 95 %: [1,531 - 1,536]. Rok et al. (15) avaliaram a temperatura até 1000 segundos e a curva e, nesse intervalo, os resultados obtidos no referido estudo foram semelhantes ao observado no presente estudo, porém neste foi possível avaliar a estabilização da temperatura.

Realizando o ajuste dos dados de cada paciente individualmente pela citada curva logística foram obtidos os dados apresentados na Tabela 1. Adicionalmente, na Tabela 1 também apresenta a área das pápulas determinadas pelo método convencional e a área real das pápulas.

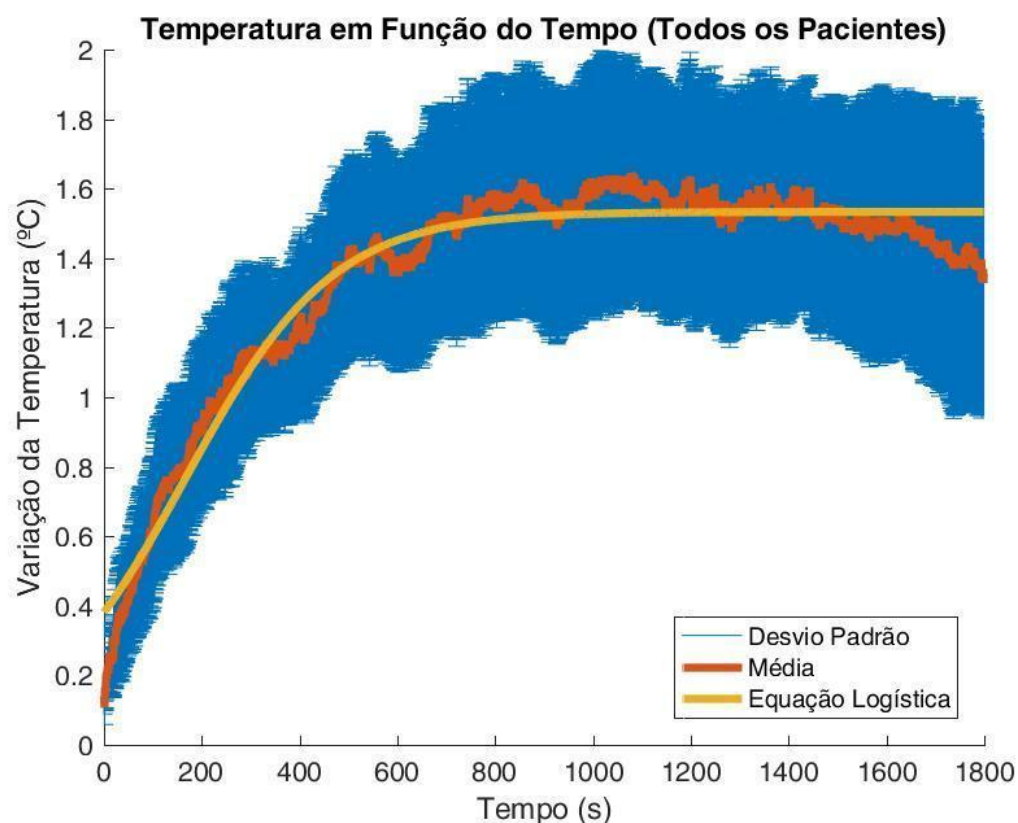


Figura 6. Representação gráfica da variação da temperatura em função do tempo agrupando os dados de todos os pacientes.

Tabela 1. Coeficientes obtidos do ajuste dos dados experimentais de variação de temperatura de cada paciente à curva logística e áreas das pápulas determinadas pelo método convencional e área areal.

Paciente	Área Real (cm ²)	Área Inferida (cm ²)	k	Testabilização (° C)	T _{máxima} (° C)	Desvio Circularidade	Erro Absoluto Área Inferida e Real
1	0,04	0,10	0,02	0,43	0,63	0,56	0,06
2	0,10	0,33	0,02	1,21	1,48	1,83	0,23
3	0,16	0,33	0,02	1,76	2,26	6,30	0,17
4	0,23	0,39	0,02	1,41	1,88	2,24	0,16
5	0,27	0,28	0,07	2,05	2,48	3,10	0,01
6	0,19	0,37	0,05	1,00	1,34	6,15	0,18
7	0,17	0,36	0,02	2,25	2,76	2,63	0,19
8	0,17	0,24	0,10	1,34	1,97	2,29	0,07
9	0,14	0,25	0,04	0,92	1,30	1,54	0,10
10	0,10	0,07	0,06	1,19	1,60	0,80	0,03
11	0,29	0,60	0,01	2,76	3,54	2,79	0,31
12	0,10	0,20	0,10	1,71	2,52	1,47	0,09
13	0,13	0,17	0,01	1,18	2,02	1,53	0,04

O teste T pareado mostra que existe diferença estatisticamente significativa entre a área real das pápulas e a área inferida pelo método convencional ($p\text{-value} = 0,0005674$). Esse resultado revela que o método convencional para determinação da área da pápula e, conseqüentemente, para o diagnóstico da reação alérgica não é preciso, especialmente quando a área da pápula é irregular. Isso pode ser observado na Figura 7. Na Figura 7-A pode ser observado um exemplo com uma pápula com contorno aproximadamente circular. Nesse caso, o valor da área inferida ($0,44 \text{ cm}^2$) é muito próximo ao da área real ($0,35 \text{ cm}^2$). Contudo, quando a pápula é irregular, esses valores divergem, conforme é mostrado na Figura 7-B (Área real = $0,29 \text{ cm}^2$ e Área inferida = $0,45 \text{ cm}^2$). Por final, na Figura 7-C são apresentados os *boxplots* que mostram a diferença nas variabilidades das áreas determinadas pelos dois métodos descritos neste trabalho. Os *boxplots* revelam que a variabilidade da área inferida é maior que do que a área real da pápula. Pacientes com níveis elevados de sensibilização à um antígeno, assim como os com maior resposta à histamina, pode produzir manifestações clínicas cutâneas – formação da pápula, com diferentes contornos e formação de pseudópodes, estes sugerem quadros de maior gravidade clínica das alergias. A avaliação da área pela média da medida dos dois maiores diâmetros da pápula, uma prática comum para poder comparar com os controles positivo e negativo, no caso de pseudópodes é inadequada. Nestes casos a medida por métodos gráficos é mais adequada.

A análise de correlação entre esses dados mostra que o parâmetro k não tem correlação com nenhum outro parâmetro. Esse resultado revela que a taxa de variação inicial da temperatura não tem relação com a área da pápula ou com o de temperatura máxima ou temperatura de estabilização da pápula. A variável $T_{\text{máxima}}$ tem correlação linear com a área real da pápula e com a área inferida. Contudo, a correlação mais significativa entre dados de temperatura e dados de área da pápula se dá entre $T_{\text{estabilização}}$ e a área real da pápula ($r = 0,72$) considerando a correlação de Pearson ($p\text{-value} = 0,005585$). Esse resultado indica uma dependência linear e diretamente proporcional entre essas duas variáveis.

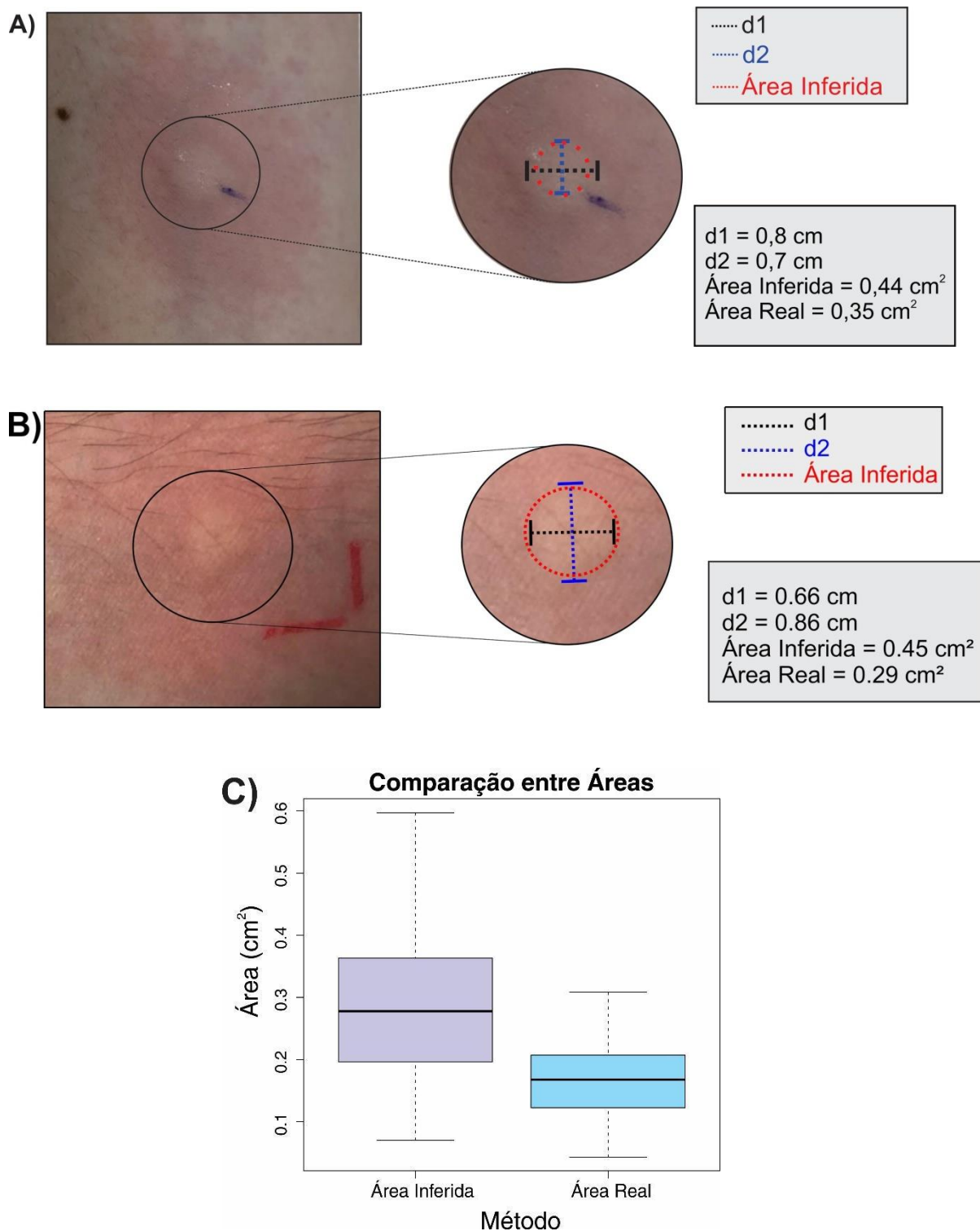


Figura 7. Ilustração que mostra a área da pápula determinada pelo método convencional e a área real da pápula. Em **(A)** é apresentada uma comparação para uma pápula de contorno aproximadamente circular. Em **(B)** é apresentada uma pápula de contorno irregular. Adicionalmente, em **(C)** são apresentados os *boxplots* das áreas reais e áreas inferidas pelo método convencional.

Dessa maneira, pode-se inferir que informações de temperatura, em especial a $T_{estabilização}$ pode ser utilizada como método para inferência da reação de hipersensibilidade do tipo I, e como dito anteriormente estabelecer o melhor momento para avaliar as dimensões da área da pápula formada..

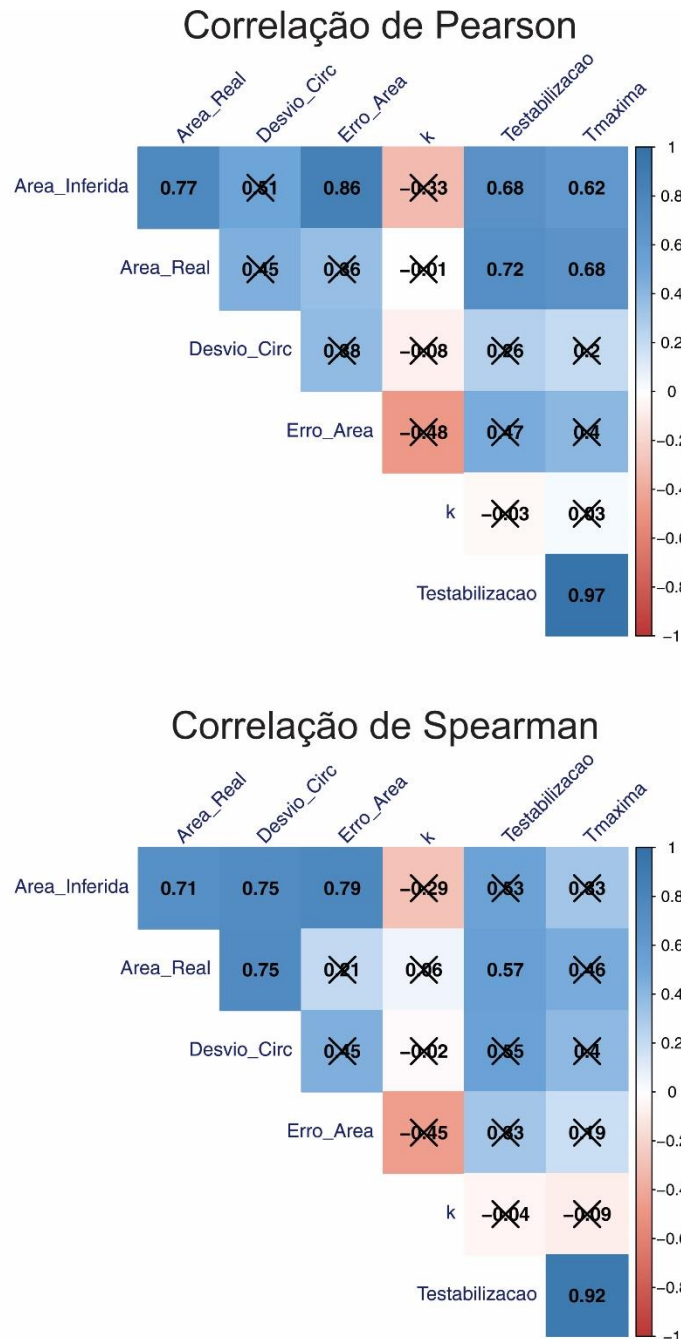


Figura 8. Ilustração da matriz de correlação entre as variáveis associadas à temperatura da pápula e a área da pápula. Os quadrantes marcados com $\times$ não possuem correlação estatisticamente significativa. Os quadrantes marcados em azul indicam correlação positiva e em vermelho correlação negativa.

4. CONCLUSÃO

A partir desse trabalho concluímos que o método convencional de aferição do diâmetro da pápula mostrou-se menos preciso do que o método automatizado de captura por imagem, sendo que o método de captura por imagem apresenta resultado mais fidedigno à área real da pápula, especialmente em situações em que a pápula apresenta contornos irregulares ou quando ocorre a formação de pseudópode.

Conclui-se também que o monitoramento da temperatura da pápula mostrou-se útil para determinar o melhor momento para a aferição do diâmetro da pápula, e isto é de suma importância para reduzir os erros de interpretação do examinador. Os resultados ainda mostraram que existe correlação significativa entre a área da pápula e o valor de estabilização da temperatura. Sendo assim, a temperatura de estabilização pode ser utilizada para inferir sobre a reação alérgica.

Por fim, pode-se concluir que para uma população miscigenada, com diferentes tipos de coloração e tonalidades de pele é importante reduzir fatores que possam significar erros na interpretação do examinador, e desta forma, a leitura pelos métodos convencionais mostrou-se inferior à leitura utilizando métodos por imagem e temperatura, sendo que o último o método demonstrou ser útil na aplicação em uma população como a brasileira.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Krouse JH, Mabry RL. Skin Testing for Inhalant Allergy 2003: Current Strategies. *Otolaryngol Neck Surg.* 1º de outubro de 2003;129(4_suppl):S33–49.
2. Rahman AMA. Food Allergy: Methods of Detection and Clinical Studies. CRC Press; 2017. 362 p.
3. Heinzerling L, Mari A, Bergmann K-C, Bresciani M, Burbach G, Darsow U, et al. The skin prick test – European standards. *Clin Transl Allergy.* 1º de fevereiro de 2013;3(1):3.
4. Larsen JN, Dreborg S. Standardization of Allergen Extracts. In: Lympant P, Jones MG, organizadores. *Allergy: Methods and Protocols* [Internet]. New York, NY: Springer; 2019 [citado 5 de fevereiro de 2020]. p. 63–76. (Methods in Molecular Biology). Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9591-2_5
5. Knight V, Wolf ML, Trikha A, Curran-Everett D, Hiserote M, Harbeck RJ. A comparison of specific IgE and skin prick test results to common environmental allergens using the HYTEC™ 288. *J Immunol Methods.* 1º de novembro de 2018;462:9–12.
6. Čelakovská J, Kremova I, Bukac J, Vaneckova J. Sensitivity and specificity of specific IgE, skin prick test and atopy patch test in examination of food allergy. *Food Agric Immunol.* 4 de março de 2017;28(2):238–47.
7. Frati F, Incorvaia C, Cavaliere C, Di Cara G, Marcucci F, Esposito S, et al. The skin prick test. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2018;32(1 Suppl. 1):19–24.
8. Topal SG, Karaman BF, Aksungur VL. Variables affecting interpretation of skin prick test results. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 3 de janeiro de 2017;83(2):200.
9. Justo X, Díaz I, Gil JJ, Gastaminza G. Medical Device for Automated Prick Test Reading. *IEEE J Biomed Health Inform.* maio de 2018;22(3):895–903.
10. Svelto C, Matteucci M, Pnirov A, Pedotti L. Skin prick test digital imaging system with manual, semiautomatic, and automatic wheal edge detection and area measurement. *Multimed Tools Appl.* 1º de abril de 2018;77(8):9779–97.
11. Svelto C, Matteucci M, Resmini R, Pnirov A, Pedotti L, Giordano F. Semi-and-automatic wheal measurement system for prick test digital imaging and analysis. In: 2016 IEEE International Conference on Imaging Systems and Techniques (IST). 2016. p. 482–6.
12. Justo X, Díaz I, Gil JJ, Gastaminza G. Prick test: evolution towards automated reading. *Allergy.* 2016;71(8):1095–102.

13. Marrugo AG, Romero LA, Pineda J, Vargas R, Altamar-Mercado H, M.d JM, et al. Toward an automatic 3D measurement of skin wheals from skin prick tests. In: Dimensional Optical Metrology and Inspection for Practical Applications VIII [Internet]. International Society for Optics and Photonics; 2019 [citado 5 de fevereiro de 2020]. p. 1099104. Disponível em: <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/10991/1099104/Toward-an-automatic-3D-measurement-of-skin-wheals-from-skin/10.1117/12.2519034.short>
14. Pineda J, Vargas R, Romero LA, Marrugo J, Meneses J, Marrugo AG. Robust automated reading of the skin prick test via 3D imaging and parametric surface fitting. PLOS ONE. 21 de outubro de 2019;14(10):e0223623.
15. Rok T, Rokita E, Tatoń G, Guzik T, Śliwa T. Thermographic assessment of skin prick tests in comparison with the routine evaluation methods. Adv Dermatol Allergol Dermatol Alergol. junho de 2016;33(3):193–8.
16. Rb D, Cb P. [’R”--project for statistical computing]. Ugeskr Laeger. 1º de janeiro de 2008;170(5):328–30.
17. Cohen J. Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences. 2 edition. Hillsdale, N.J: Routledge; 1988. 400 p.
18. Nichols D. Arduino-Based Data Acquisition into Excel, LabVIEW, and MATLAB. Phys Teach. 14 de março de 2017;55(4):226–7.
19. Markov S, Kyurkchiev N, Iliev AI, Rahnev A. A NOTE ON THE LOG–LOGISTIC AND TRANSMUTED LOG–LOGISTIC MODELS. SOME APPLICATIONS. In 2018.
20. Ezz-Eldien SS. On solving fractional logistic population models with applications. Comput Appl Math. 1º de novembro de 2018;37(5):6392–409.
21. Simões RP, Bianchi EC, Oikawa MH, Aguiar PR de, Droppa Júnior R, Canarim RC. Evaluation of different methods of cooling-lubrication in cylindrical grinding of advanced ceramic dip. Mater Res. outubro de 2014;17(5):1201–12.
22. Zhang K, Cheng G, Zhang W. Evaluation of Roundness Error Uncertainty by a Bayesian Dynamic Model. Measurement. 31 de janeiro de 2020;107565.
23. Taiyun. taiyun/corrplot [Internet]. 2019 [citado 5 de fevereiro de 2020]. Disponível em: <https://github.com/taiyun/corrplot>