



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**



**AVALIAÇÃO DO TESTE DE SORO AUTÓLOGO E
DO TESTE DE PLASMA AUTÓLOGO EM
PACIENTES COM URTICÁRIA CRÔNICA**

José Carlison Santos de Oliveira

Dissertação de Mestrado

Salvador (Bahia), 2010

Ficha catalográfica.
Universidade Federal da Bahia - Faculdade de Medicina da Bahia – Biblioteca

Oliveira, José Carlison Santos de.O 482a
Avaliação do teste de soro autólogo e do teste de plasma
autólogo em pacientes com urticária crônica / José Carlison Santos
de Oliveira. – Salvador, 2010.
ix, 84 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Régis de Albuquerque Campos.
Dissertação (Mestre) Universidade Federal da Bahia. Faculdade de
Medicina da Bahia. Curso de Pós-Graduação em Saúde da Saúde.

1. Urticária. 2. Transplante Autólogo. 3. Soro. 4. Plasma. I.
Campos, Régis de Albuquerque. II. Universidade Federal da Bahia.
III. Título.

CDU: 616.514(043.3)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**



AVALIAÇÃO DO TESTE DE SORO AUTÓLOGO E DO TESTE DE PLASMA AUTÓLOGO EM PACIENTES COM URTICÁRIA CRÔNICA

José Carlison Santos de Oliveira

Professor Orientador: Régis de Albuquerque Campos

Dissertação apresentada ao Colegiado do
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS DA SAÚDE, da Faculdade de Medicina
da Universidade Federal da Bahia, como pré-
requisito obrigatório para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências da Saúde.

Salvador (Bahia), 2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DO TESTE DE SORO AUTÓLOGO E
DO TESTE DE PLASMA AUTÓLOGO EM
PACIENTES COM URTICÁRIA CRÔNICA**

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES

Álvaro Cruz, doutor em Medicina e Saúde pela UFBA

Ivonise Follador, doutora em Medicina e Saúde pela UFBA

Paulo Roberto Lima Machado, doutor em Medicina e Saúde pela UFBA

FRONTISPÍCIO

"Uma longa viagem começa com único passo".
Lao Tsé

DEDICATÓRIA

A minha família. Minha fonte
de vida e inspiração, de amor e
respeito.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Régis de Albuquerque Campos pelo companheirismo e cumplicidade em todos os momentos.
- A Dr^a Maria Cecília Freitas de Almeida, por todas as horas de estímulos e dedicação.
- A Givaneide dos Santos Lima por seu sorriso e atenção durante todo o mestrado.
- A Dilma Simplicio e Dorival Araújo que foram fundamentais durante todo o ano de realização do trabalho.
- Ao Dr. Edgar Marcelino por permitir a realização desse trabalho.
- A Dr^a Maria Ilma pelo apoio e condução no final deste projeto.
- A Dr^a Luciana Cardoso por toda presteza e incentivo.
- A Dr^a Joaemile Pacheco pela colaboração e ajuda no ambulatório de alergia.
- A Dr. Ricardo Riccio pela colaboração durante a análise dos dados estatísticos.
- Aos colegas do ambulatório de alergia participantes ativos nessa jornada.
- A senhora Lúcia, secretária do SIM, Ana Cibele, secretária da PPGCs e demais funcionários do serviço de imunologia e da pós graduação, pela atenção e ajuda.
- A Claudinéia Lima dos Santos, secretária do Comitê de Ética em Pesquisa. Médica que fez todo trabalho junto ao CEP.
- Aos pacientes e aos seus familiares que permitiram a realização desta pesquisa.
- Aos meus amigos pela paciência e carinho. As horas sem vocês são muito mais demoradas.
- A todos da Alergodermoclin: pacientes, funcionários, médicos. Com vocês me sinto em casa. Por vocês é fácil seguir adiante.
- A minha amiga, parceira de alma e vida, Maria Angélica. É muito seu também.

- Ao Dr. Manoel Medeiros Júnior minha gratidão pela amizade, pelo simples convívio e por me apontar sempre um caminho.
- Aos que não foram lembrados mas que nunca são esquecidos.
- À vida. Meu eterno agradecimento por ela ser tão mágica.

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES

Universidade Federal da Bahia

- Serviço de Imunologia (SIM)

Não há conflitos de interesse

FONTES DE FINANCIAMENTO

Serviço de Imunologia do Hospital Universitário Professor Edgar Santos – UFBA

ÍNDICE

Índice de Quadros e Tabelas	13
Índice de Figuras e Gráficos	14
Lista de Siglas e Abreviaturas	15
I. RESUMO	16
II. INTRODUÇÃO	17
III. REVISÃO DE LITERATURA	20
III.1. Urticária	20
III.2. Aspectos Históricos	21
III.3. Aspectos Histológicos	22
III.4. Células Efetoras da Resposta Imune na Urticária	23
III.4.1. Mastócitos	23
III.4.2. Basófilos	24
III.4.3. Eosinófilos	25
III.5. IgE e Receptor FcεR1	25
III.6. Urticária Crônica	27
III.7. Urticária Crônica Autoimune	30
III.7.1. Patogênese da Urticária Crônica Autoimune	31
IV. OBJETIVOS	33
V. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS	34
V.1. Seleção de Indivíduos	34
V.2. Critérios de Inclusão	35
V.3. Critérios de Exclusão	35
V.4. Desenho do Estudo, Cálculo Amostral e Metodologia Estatística	36
V.5. Teste de Soro Autólogo	36
	37

V.6. Teste de Plasma Autólogo	37
V.7. FAN	39
V.8. Considerações Éticas	40
VI. RESULTADOS	40
VII. DISCUSSÃO	47
VIII PERSPECTIVAS DE ESTUDO	55
IX. CONCLUSÕES	56
X. SUMMARY	57
XI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
XII. ANEXOS	61
1. Termo de Consentimento Livre e Pré-esclarecido	62
2. Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa	66
3. Formulário para Coleta de Dados	68
4. Folha de Rosto dos Testes	69
XIII. ARTIGO PUBLICADO	70

ÍNDICE DE QUADROS E TABELA

- Tabela 1: Características dos pacientes com e sem urticária crônica do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES** – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010 41
- Tabela 2: Prevalência do Teste de Soro Autólogo (TSA) e do Teste de Plasma Autólogo (TPA) dos pacientes com e sem urticária crônica do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES** – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010 42
- Tabela 3: Avaliação dos testes nos pacientes com urticária crônica segundo o tipo de teste (TSA ou TPA) do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010 44
- Tabela 4: Características dos pacientes com urticária crônica segundo o tipo de teste (TSA ou TPA) do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES* – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010 45

ÍNDICE DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1. Teste de Soro Autólogo e Teste de Plasma Autólogo.	38
Gráfico 1: Boxplot do perfil da idade dos grupos de pacientes com e sem urticária crônica do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES* – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010	41
Gráfico 2: Frequência do Teste de Soro Autólogo (TSA) e do Teste de Plasma Autólogo (TPA) dos pacientes com e sem urticária crônica do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES** – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010	43
Gráfico 3: Frequência do FAN (Fator Antinuclear) nos pacientes com urticária crônica (n=57) segundo o tipo de teste (TSA ou TPA) do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES* – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010	46

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

C-HUPES	Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos
UA	Urticária aguda
UC	Urticária crônica
UCI	Urticária crônica idiopática
UCAI	Urticária crônica autoimune
TSA	Teste de Soro Autólogo
TPA	Teste de Plasma Autólogo
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
SCF	Stem-cell factor – Fator de crescimento das células tronco
FcεR1	Receptor de alta afinidade para IgE
IL	Interleucina
GM-CSF	Fator estimulante de colônia de granulócitos e macrófagos
MIP	Proteína inflamatória derivada de macrófagos
OMS	Organização Mundial de Saúde
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UFBA	Universidade Federal da Bahia

I. RESUMO

Avaliação do Teste de Soro Autólogo (TSA) e Teste de Plasma Autólogo (TPA) em Pacientes com Urticária Crônica (UC)

O diagnóstico da Urticária Crônica Auto Imune (UCAI) é realizado pelo Teste de soro autólogo (TSA). Estudos atuais sugerem uma maior positividade quando se faz o teste utilizando-se o plasma do paciente (TPA) levando dúvidas a respeito do melhor teste para definir UCAI. O objetivo principal desse trabalho é comparar a frequência de positividade TSA e TPA na Urticária Crônica (UC). **Metodologia:** Estudo de corte transversal com pacientes adultos, ambos os gêneros, oriundos do ambulatório de alergia do Hospital Professor Edgard Santos – UFBA. TPA e TSA foram realizados em 60 indivíduos com UC (grupo 1) e um grupo de comparação com 26 indivíduos sem UC (grupo 2 – 17 com rinite alérgica e 9 com doença autoimune). O FAN foi pesquisado em todos pacientes. **Resultados:** A média de idade de todos os pacientes foi de 42,06 anos com características demográficas homogêneas. O tempo médio de doença foi de 7,03 anos. TSA foi positivo em 43,3% e TPA positivo em 68,3% do grupo 1. 15 pacientes (25%) tiveram somente TPA positivo. Nenhum paciente com TPA negativo teve TSA positivo. A sensibilidade do TPA em relação ao TSA (“padrão ouro”) foi de 100% e especificidade de 55,9%. FAN (marcador de auto-imunidade) foi positivo em 20% no grupo1, 33,3% quando o TPA era positivo e 31,6% quando era o TSA positivo. **Conclusão:** Neste estudo o TPA é o melhor método diagnóstico para detectar auto-reatividade em pacientes com UC.

II. INTRODUÇÃO

Urticária é um sintoma resultante da liberação de mediadores vasoativos na pele que, clinicamente, se caracteriza pelo aparecimento súbito de placas eritematosas, dotadas de relevo, estando geralmente, associadas a prurido de intensidade variável. Quando atinge o subcutâneo ou a derme profunda, esse processo é comumente chamado de angioedema e, embora tenha aspecto diferente, compartilha da mesma base fisiopatológica. O mastócito é a principal célula efetora envolvida na formação da urticária e a histamina o mediador mais importante. Contudo, os diferentes aspectos morfológicos das lesões formadas, indicam que outros mediadores, incluindo prostaglandinas, leucotrienos, citocinas e quimiocinas, também estão presentes e contribuem para o grande polimorfismo e variabilidade evolutiva deste sintoma[1].

Não existem dados atuais a respeito da frequência de urticária no nosso meio. Entretanto, sabe-se que 15 a 25% dos indivíduos da população em geral são acometidos em algum momento da vida por este sintoma[2]. A classificação da urticária mais usualmente utilizada baseia-se no tempo de duração das lesões. A urticária é dita aguda quando está presente por menos de seis semanas e crônica quando persiste acima deste período. A etiologia da urticária aguda (UA) é mais frequentemente identificada, enquanto que, de 30 a 50% dos pacientes com urticária crônica (UC) não têm diagnóstico estabelecido e compõem um grupo heterogêneo e de difícil condução clínica, dos portadores de Urticária Crônica Idiopática (UCI)[2].

Nas últimas duas décadas, muitos esforços têm sido feitos na tentativa de se identificar os possíveis mecanismos causadores dos diversos tipos e subtipos de urticária. Infecções, reações de hipersensibilidade não alérgica a drogas e alimentos e

autoreatividade, incluindo autoimunidade mediada por autoanticorpos direcionados contra receptores de IgE nos mastócitos, são atualmente descritos[2].

A hipótese de que fatores sorológicos seriam responsáveis pela patogênese da UC tem sido discutida na literatura médica desde a década de 80 quando, Leznoff A. et al descreveram as primeiras evidências de autoimunidade em indivíduos com UC[3]. Esses autores demonstraram o aumento da presença de disfunção tireoidiana e autoanticorpos contra tireóide em portadores de UCI quando comparados com a população geral[1]. Atualmente os pacientes, pertencentes a esse grupo, são classificados como sendo portadores de Urticária Crônica Autoimune (UCAI) e representam cerca de 70% do percentual dos doentes diagnosticados com Urticária Crônica Idiopática (UCI)[4].

Em 1986 foi descrito, por Grattan et al, o primeiro teste *in vivo* para diagnóstico de UCAI que foi chamado de Teste de Soro Autólogo (TSA) e se baseia na pesquisa de fatores auto-ímmunes presentes no sangue dos pacientes[5]. Dentre esses fatores, destacam-se auto-anticorpos direcionados a IgE ou seu receptor de alta afinidade, FcεR1, nas células efectoras resultando em degranulação dos mastócitos e liberação de mediadores vasoativos com conseqüente aparecimento de lesões urticariformes. Recentemente, esse exame foi normatizado como sendo o teste fundamental no diagnóstico de UCAI e obrigatório em todos os pacientes portadores de urticária crônica (UC)[6]. Entretanto, Asero et al conseguiram uma positividade de diagnóstico de UCAI muito superior ao TSA usando plasma ao invés de soro através do Teste de Plasma Autólogo (TPA) [7]. Dessa forma, existe controvérsia quanto ao teste mais adequado para a detecção da UCAI e, vários trabalhos vêm tentando desvendar essa e outras dúvidas existentes entre essas duas ferramentas diagnósticas.

O presente estudo avalia a positividade desses dois testes, em pacientes com urticária crônica que ainda não possuem etiologia definida, em comparação com um grupo de indivíduos sem esta dermatose, constituído por doentes portadores de rinite alérgica e patologia autoimune. A relevância clínica deste trabalho consiste em fazer uma análise inédita, de como esses exames se apresentam na nossa população, traçando um perfil dos pacientes portadores de urticária crônica e avaliando a importância real do TPA para diagnóstico de UCAI.

III. REVISÃO DE LITERATURA

III.1. Urticária

O conceito mais atual na definição de urticária é bem diferente daquele que antes a tratava como uma dermatose que apresentava como característica fundamental o aparecimento de placas eritematosas na pele. Hoje entendemos urticária como um complexo e heterogêneo grupo de doenças, que compartilham entre si um sintoma comum que é uma lesão papulosa da pele e/ou angioedema. A urticária é a resposta clínica visível de uma agressão ou estímulo às células efectoras, em especial os mastócitos, que tem diversas etiologias.

A característica básica de todo processo envolvido na urticária é a formação de uma lesão cutânea com aspecto de placa eritemato-papulosa que pode acometer qualquer parte da derme, de aparecimento súbito e natureza fugaz, dotada de prurido de intensidade variável ou sensação de queimação e que, ao desaparecer, deixa a pele com aspecto totalmente normal. O angioedema é a mesma lesão atingindo a derme profunda e/ou tecido subcutâneo e, por isso, tem uma resolução mais lenta e, em muitos momentos, pode ser mais doloroso que pruriginoso.

III.2. Aspectos Históricos

Provavelmente a mais antiga descrição da doença que hoje chamamos de urticária se encontra no livro “O Clássico do Imperador Amarelo” escrito por Huang Di Nei Jing, lendário imperador chinês que reinou de 2698 a 2599 AC. No capítulo 64, urticária é chamada "Feng Yin Zheng" que significa wind-type concealed rash[8]. Hipócrates que viveu 460-377 aC descreveu lesões elevadas pruriginosas causadas por urtigas e mosquitos. No século XVI foi estabelecida uma possível relação causal entre urticária e proteínas de alimentos. A palavra urticária foi primeiramente introduzida em 1769 por Willian Cullen em seu livro “Metodologia da Sinopse Nasológica”. Em 1813 foi publicado, por Robert Willan e Thomas Bateman - “A Practical Synopsis of Cutaneous Diseases” - o primeiro livro que descrevia diferentes tipos de urticária e já identificava uma forma especial de doença que se repetia com frequência regular e poderia durar anos para desaparecer correspondendo hoje ao que chamamos de urticária crônica. Entretanto, várias formas de urticária como físicas, factícia, pigmentosa, já vinham sendo descritas e reconhecidas mesmo antes dessa publicação. Porém foi com a descoberta dos mastócitos, da histamina e da IgE e de diversos outros mediadores químicos pré e neoformados que os mecanismos patogênicos começaram a ser esclarecidos[9].

Na década de 80 surgiram as primeiras associações entre urticária e autoimunidade com trabalhos demonstrando aumento da prevalência de anticorpos contra tireóide em paciente portadores de urticária quando comparados com a população geral. Em 1986 Grattan et al demonstraram a presença de fatores séricos circulantes responsáveis pela formação de UC em 30% dos pacientes, usando o teste de soro autólogo[5]. Em 1988 Grubber et al. consideraram a possibilidade de existir anticorpos

funcionais circulantes anti IgE [10] e Kaplan et al detectou a presença de auto anticorpos anti IgE sérica usando o método de ELISA[11]. Finalmente em 1993, Hide et al demonstraram a existência de autoanticorpos da classe IgG reagindo contra FcεR1 e a própria IgE levando a degranulação de mastócitos e aparecimento das placas urticariformes, sendo esse o principal mecanismo associado a UCAI atualmente [12]. Em 2009 foi postulado o primeiro consenso de Teste de Soro Autólogo visando padronizar a técnica, indicações e interpretações desse exame como ferramenta diagnóstica para UCAI[6].

III.3. Aspectos Histológicos

A principal alteração encontrada na biópsia da lesão na urticária consiste em um edema na derme superficial e média com dilatação de vênulas e capilares. No angioedema, encontram-se alterações similares na derme profunda e no subcutâneo. O infiltrado inflamatório perivascular apresenta intensidade variável sendo composto de neutrófilos e/ou eosinófilos, macrófagos e células T. Alguns autores demonstram um pequeno ou moderado aumento do número de mastócitos. Em alguns subtipos de urticária existe um expressivo aumento das moléculas de adesão e na expressão de citocinas pró-inflamatórias envolvendo a derme[2]. A causa e a duração da lesão cutânea, definem a intensidade e o tipo celular mais prevalente, embora não se encontre nenhuma correlação direta entre o fator etiológico e os achados histológicos encontrados.

III.4. Células Efetoras da Resposta Imune na Urticária

III.4.1. Mastócitos

Constituem a principal população de células efetoras da maioria dos quadros de urticária e angioedema embora outras células, como basófilos e eosinófilos, possam estar presentes exercendo papéis, ainda não bem esclarecidos, na patogenia deste sintoma. É bem documentado o aumento do número de mastócitos em pacientes com urticária, quando comparado a controles sadios, e vários são os mecanismos, imunológicos e não imunológicos, capazes de ativá-los. Os mastócitos foram descritos há mais de 100 anos por Ehrlich no mesentério de coelhos e, assim como os basófilos, contêm grânulos ricos em proteoglicanos ácidos que se coram com corantes básicos, embora derivem de uma linhagem mielóide diferente. Residem em tecido mucoso e epitelial na vizinhança de pequenos vasos e vênulas pós-capilares, onde estão situados para proteger contra patógenos invasores[13]. Fazem parte da imunidade inata com papel importante na defesa contra parasitas e patógenos intracelulares, embora desempenhem importante função como célula efetora na anafilaxia, urticária, mastocitose, glomerulonefrites e tumores.

O principal mediador responsável pela maturação dos mastócitos é o fator de células tronco (*stem-cell factor, SCF*) que age na superfície do receptor c-Kit. Essas células expressam um receptor de alta afinidade para a imunoglobulina E (IgE) em suas superfícies ($Fc\epsilon R1\alpha$) e são ativados quando os antígenos fazem ligações cruzadas com a IgE ligada a esses receptores. Existe também receptores específicos para IgG ($Fc\gamma RIII$) que parece não ter nenhuma participação nos mecanismos patogênicos da alergias. A degranulação ocorre em segundos e libera uma série de mediadores inflamatórios pré-

formados. Entre eles estão a histamina – uma amina vasoativa de vida curta que produz aumento imediato do fluxo sanguíneo local e permeabilidade vascular – e as enzimas como as quimases, triptases e estearases séricas. Após a ativação são sintetizados citocinas (IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF e TNF- α), quimiocinas (MIP-1 α) e mediadores lipídicos (leucotrienos C4, D4, E4 e Fator ativador de plaquetas) que amplificam a resposta aguda e participam ativamente nos estados crônicos da urticária[14].

III.4.2. Basófilos

Essas células sempre foram encontradas no sítio da inflamação alérgica embora só recentemente seu papel na urticária começa ser elucidado. Basófilos estão presentes no infiltrado leucocitário em biópsia de lesões de pele na UCI e, da mesma forma, reduzido número dessas células circulantes está correlacionada com aumento de atividade da doença nesses doentes. Adicionalmente, os basófilos de pacientes com UCI tem uma redução seletiva na resposta funcional para anti-IgE não vista com outros estímulos e defeitos da via do receptor de alta afinidade para IgE que resultam em menor atividade dessas células nos pacientes com UCI[15]. Os basófilos compartilham uma célula-tronco precursora comum com os eosinófilos. Seus fatores de crescimento são muito similares e incluem IL-3, IL-5 e GM-CSF. Expressam Fc ϵ RI α na superfície celular e, após a ativação, histamina e IL-4 dos grânulos basofílicos dos quais provém seu nome[13].

III.4.3. Eosinófilos

São leucócitos granulócitos derivados da medula óssea, assim chamados em razão de seus grânulos que se coram de laranja brilhante pelo corante ácido eosina. Têm dois tipos de funções efetoras. Primeiro, liberam proteínas altamente tóxicas que atuam em microorganismos e parasitas produzindo lesão tecidual significativa nas reações alérgicas. Segundo, produzem prostaglandinas, leucotrienos e citocinas que amplificam a resposta inflamatória[13]. Poucos eosinófilos são encontrados nas placas urticariformes e a sua real participação na patogênese da urticária ainda não foi bem identificada. A maioria dos trabalhos mostra uma forte associação dessas células em pacientes portadores de UCI com longo tempo de doença e agudizações recorrentes.

Mastócitos, eosinófilos e basófilos participam de todas as etapas da urticária. Desde o início agudo até as fases mais crônicas, de difícil entendimento e manipulação clínica, existe sempre uma interação importante entre essas células que levam à determinação do estado morfológico e evolutivo dos doentes.

III.5. IgE e Receptor FcεR1

A IgE é produzida pelos plasmócitos e se difere de outros anticorpos por estar localizada predominantemente nos tecidos, onde está ligada aos mastócitos por receptores de superfície de alta afinidade conhecidos como FcεR1. É necessário a presença de 02 sinais co-estimulatórios para a formação de IgE a partir das células B, os quais são derivados de linfócitos T através de uma complexa série de interações antigênicas específicas [16]. A ligação dessa IgE com um antígeno multivalente determina ativação dos mastócitos para liberação de mediadores inflamatórios podendo

levar ao aparecimento das reações de hipersensibilidade, o que ocorre em segundos. A ativação das células efectoras, principalmente os mastócitos, que ocorre a partir da interação antígeno-anticorpo na superfície celular constitui-se no mecanismo imunológico mais importante na indução da urticária aguda (UA). A degranulação conseqüente à ativação inespecífica por agentes liberadores de histamina é provavelmente um dos mecanismos mais comuns na patogênese da UC[9]. Entretanto, o entendimento da complexa ativação dos mastócitos, a partir ligação da IgE com seu receptor de alta afinidade na superfície celular – FcεR1, é de fundamental importância para elucidação dos mecanismos patogênicos que ocorrem na urticária crônica auto-imune (UCAI). O mecanismo de liberação de histamina induzido por auto-anticorpo anti- FcεR1α é diferente daquele na qual a liberação de histamina é induzida por alérgenos, anticorpos anti-IgE e alguns fatores liberadores de histamina citocina-símile, porque não depende da presença de IgE na superfície das células efectoras, não competindo com a IgE pelos receptores[9].

Os receptores Fc são uma família de moléculas de superfície que podem se ligar à porção Fc das imunoglobulinas. Cada membro da família reconhece a imunoglobulina de um ou mais isotipos intimamente relacionados, por meio de um domínio de reconhecimento na cadeia α do receptor Fc[13]. O FcεR1 é expresso na superfície de mastócitos e basófilos e tem sua alta afinidade direcionada para a IgE. Dessa interação resulta a ativação dessas células efectoras com conseqüente liberação dos mediadores inflamatórios e início da resposta alérgica. O receptor de IgE é um tetrâmero composto de 1 cadeia α dimérica ligada a uma complementar β e outra cadeia dimérica γ. A cadeia FcεR1α é identificada como o primeiro sítio de ligação da IgE para indução da ativação dos mastócitos e, embora alterações no polimorfismo dessas cadeias estejam associadas a atopia, asma e a IgE nos pacientes asmáticos, não existem trabalhos mostrando

nenhuma associação fenotípica na UC[17]. Mesmo com baixos níveis séricos de IgE encontrados em indivíduos normais, uma porção substancial da IgE total está ligada ao FcεR1 nos mastócitos e nos basófilos circulantes. Os eosinófilos também podem expressar receptores Fc, mas somente expressam FcεR1 quando ativados e recrutados para o sítio inflamatório. Ainda existem muitas lacunas no entendimento da interação IgE com seu receptor de alta afinidade e a consequente liberação dos diversos mediadores inflamatórios, principalmente quando analisamos esse processo como parte fundamental no aparecimento das lesões de urticariformes tanto da fase aguda quanto nos pacientes crônicos. Estudos atuais que tentam compreender essa associação ainda mostram-se inconclusivos e pouco esclarecedores.

III.6. Urticária Crônica

O aparecimento de pápulas e/ou angioedema por mais que seis semanas tradicionalmente define o quadro crônico de urticária. Por ser um termo irrestrito, os pacientes portadores de urticária física como dermatografismo, urticária ao frio, urticária colinérgica e urticária de pressão, estão naturalmente incluídos nesse grupo. Não é incomum a presença de dois ou mais tipos de urticária em um único paciente e somente 60% desses doentes têm causa etiológica definida, encontrados na maioria dos trabalhos de literatura. Essa condição é vista em 0,1% da população podendo ser grave e de difícil controle[18]. O angioedema está presente em 25 a 40% dos casos, a frequência da urticária é maior em mulheres numa proporção de 2,2:1 e a prevalência é muito mais elevada nos doentes atópicos que na população geral. Em 50 a 71% dos pacientes a doença persiste por até 1 ano e em 25 a 56% de 5 a 10 anos[19].

Revisando todos os prontuários de pacientes diagnosticados como portadores de urticária, no ambulatório de alergia do Hospital Universitário Professor Edgar Santos –

UFBA, encontrou-se uma média de idade de 43,7 anos, o tempo médio de doença de 8,9 anos assim como uma maior frequência de acometimento no gênero feminino (72,7%)[20].

O processo diagnóstico na urticária crônica representa sempre um grande desafio para o médico e para o paciente. No médico, causa frustração e distúrbio do seu bem-estar intelectual pelas dificuldades na sua identificação etiológica e tratamento. No paciente, estas mesmas dificuldades podem repercutir ocasionando uma instabilidade emocional e, também, deterioração da qualidade de vida inerente ao quadro clínico da doença[9].

É muito fácil se reconhecer um quadro de urticária não se requerendo mais que uma boa habilidade clínica para o diagnóstico. Entretanto, a identificação causal exige tempo, dedicação e uma excelente relação médico-paciente para que se possam realizar todos os procedimentos atualmente disponíveis, sem que haja descrédito ou desconfiança com a condução instituída. Quase sempre o portador dessa patologia já visitou três ou mais especialistas antes de se sentir seguro e confiante com as informações e tratamentos realizados. A valorização de uma anamnese bem construída, com ênfase nos principais aspectos da natureza da urticária e seus fatores etiológicos mais prováveis é de fundamental importância para o sucesso clínico. Zuberbier et al relacionaram uma lista de questões fundamentais em toda investigação diagnóstica[2]:

- a) Tempo de início da doença;
- b) Frequência e duração das pápulas;
- c) Variações dos sintomas ao longo do dia;
- d) Ocorrências relacionadas a férias, fins de semanas e viagens;
- e) Tamanho e distribuição das pápulas;

- f) Associação com angioedema;
- g) Presença de prurido ou dor;
- h) História familiar e pessoal de urticária ou atopia;
- i) Outras alergias, infecções e outras comorbidades;
- j) Doença psiquiátrica ou psicossomática;
- k) Implantes cirúrgicos ou intercorrências cirúrgicas;
- l) Problemas gastrointestinais;
- m) Indução por estímulos físicos ou exercícios;
- n) Uso de drogas;
- o) Correlação com alimentos;
- p) Relação com ciclo menstrual;
- q) Fumo;
- r) Hobbies;
- s) Estresse emocional;
- t) Impacto na qualidade de vida;
- u) Terapêutica prévia e resposta clínica.

O exame físico do paciente deve ser minucioso, com uma boa caracterização da lesão dermatológica presente. Pesquisas de dermografismo, e outros indutores físicos, devem ser orientados pela história do paciente. Testes e exames complementares

extensos e não correlacionados ao caso, são extremamente caros e, na maioria das vezes, pouco relevantes na condução diagnóstica.

III.7. Urticária Crônica Autoimune

A relação de urticária crônica com fatores autoimunes vem sendo investigada desde a década de 80 quando, em 1983, Lenzhoff et al demonstraram uma forte associação entre doença tireoidiana e urticária crônica idiopática quando comparados com a população geral[3]. Contudo, em 1946, Malmros já havia observado que soro de alguns pacientes com urticária crônica induzia, neles mesmo, a formação de pápula e eritema semelhante a uma resposta alérgica imediata e, embora não tenha chegado a nenhuma conclusão para este fenômeno, já dava pistas de que fatores séricos do próprio paciente podiam estar associados à patogênese da urticária[21]. Em 1962 Rorsman's sugeriu que reações antígeno-anticorpo podiam provocar degranulação de basófilos e levar a basopenia[22]. Em 1986 Grattan et al usaram, pela primeira vez, o teste de soro autólogo para demonstrar a presença de auto-reatividade associada ao aparecimento de urticária em cerca de 30% dos pacientes com quadro crônico[5]. Finalmente, em 1993, Hide et al mostraram que anticorpos da classe IgG reagindo contra o receptor de alta afinidade da IgE ou contra a própria IgE, levariam a formação de pápulas em alguns pacientes com urticária crônica[12]. Esse é o mecanismo central na formação da urticária crônica autoimune que tem sido confirmado por diversos grupos de pesquisadores e postulado como base fisiopatogênica desse tipo particular de urticária embora, ainda existam aspectos imunológicos não muito bem compreendidos e que necessitam de mais estudos para serem elucidados.

III.7.1. Patogênese da urticária crônica autoimune

A presença destes autoanticorpos na urticária resulta em degranulação de mastócitos através de uma ligação com a porção α da cadeia do receptor de alta afinidade para IgE ou diretamente com a própria IgE. Estudos atuais identificaram que os isotipos funcionais mais importantes destes autoanticorpos são IgG1 e IgG3[23]. Ocasionalmente a IgG4 foi encontrada no soro desses paciente mas nunca a IgG2 foi relacionada à degranulação[24]. Essas frações ativam o sistema complemento que, através da formação da fração C5a que se combina com seu receptor no mastócito, levam a liberação dos mediadores vasoativos responsáveis pela sintomatologia da urticária. Os autoanticorpos também podem ativar diretamente os mastócitos liberando histamina por meio da combinação com seus receptores, mas a quantidade de histamina liberada é dependente de uma associação entre duas vias de degranulação celular[4].

Tentativas de se quantificar o nível de IgG necessário para ativação dos mastócitos na urticária crônica autoimune, não têm tido sucesso[25]. A demonstração inicial da presença de anticorpos usando immunoblotting também não teve sucesso, devido à presença de positividade deste exame em paciente com outras desordens autoimunes e até em indivíduos sem doença[26]. A prevalência de autoanticorpos em pacientes com UC está em torno de 35%. Estima-se que ainda exista cerca de 41% de outros fatores sorológicos, não anticorpos, capazes de induzir a liberação de histamina e que ainda não podem identificados[27]. Esse fato pode ser devido à atual inexistência de testes sorológicos, seja *in vivo* ou *in vitro*, dotados de alta sensibilidade e especificidade para se detectar esses fatores autoimunes. Asero et al avaliando pacientes com UC usando plasma ao invés do soro, através do Teste de Plasma Autólogo (TPA), encontrou 86% de positividade com este procedimento contra 53%

com Teste do Soro Autólogo (TSA) em pacientes com urticária crônica[7]. A hipótese proposta para explicar esta diferença reside na presença no plasma (não no soro) de outros fatores como trombina, bradicinina e triptases que teriam papel importante na formação da pápula e, por conseguinte na sintomatologia da urticária[28]. Alguns trabalhos têm tentado reproduzir esses dados e elucidar quais outros fatores autoimunes seriam capazes de se ligar às células efetoras, induzindo a liberação de mediadores inflamatórios e levando ao aparecimento dos sintomas presentes na urticária autoimune.

Aspectos mais atuais sugerem que o processo inflamatório na urticária crônica não está limitado às consequências da liberação dos mediadores vasoativos na pele. Estudos recentes têm considerado a participação de linfócitos T como ativadores de mastócitos na pele[11]. Esses mastócitos ativados são responsáveis pela liberação de uma endopeptidase conhecida por ser o principal indutor de remodelamento tecidual e degradação da matriz extracelular nos pacientes com urticária crônica, chamada de MMP-9 (matrix metaloproteinase 9). O nível de MMP-9 está elevado no sangue de pacientes com doença crônica ativa sendo, a quantidade mensurada, uma medida aproximada da gravidade dos sintomas[29]. Dados como esses reforçam o conceito de que a urticária crônica seja uma desordem inflamatória que pode ou não estar associada à circulação de anticorpos capazes de induzir liberação de mediadores de mastócitos na pele. Investigar e elucidar todos os mecanismos patogênicos envolvidos nessa enfermidade é condição fundamental para melhorar a condução clínica e oferecer aos doentes um plano terapêutico e prognóstico mais eficaz e adequado a cada caso.

IV. OBJETIVOS

IV. 1. Principal:

Avaliar a frequência de positividade do teste de soro autólogo e do teste de plasma autólogo nos pacientes com diagnóstico da urticária crônica.

IV. 2. Secundários:

- Avaliar a frequência de positividade do teste de soro autólogo e teste de plasma autólogo nos pacientes dois grupos de comparação: um de pacientes portadores de rinite alérgica e outro de pacientes portadores de doenças autoimunes.
- Avaliar a prevalência de urticária crônica autoimune nos pacientes com urticária crônica.
- Comparar a positividade do teste de soro autólogo e teste de plasma autólogo nos pacientes portadores de urticária crônica.
- Avaliar a frequência de positividade de anticorpos antinucleares (FAN) nos pacientes com urticária crônica.

V. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS

V.1. Seleção de Indivíduos

No presente estudo foram avaliados portadores de urticária crônica provenientes do ambulatório de alergia e imunologia do Hospital Universitário Professor Edgar Santos – UFBA, localizado na cidade de Salvador. Salienta-se que a prevalência de urticária nesta população foi calculada anteriormente em 18%, entretanto, trata-se de uma amostra pertencente a uma unidade de referência para este tipo de patologia[20]. Fez-se uma pequena análise de um grupo de comparação composto de pacientes com doenças autoimunes e pacientes portadores de rinite alérgica.

Foi selecionado um total de 86 pacientes sendo que 60 (69,8%) são portadores de urticária crônica sem causa etiológica definida (Grupo 1), 17 (19,8%) são portadores de rinite alérgica e 9 (10,5%) têm doença autoimune. Esses dois últimos formaram o grupo de comparação de pacientes sem urticária (Grupo 2).

No grupo de pacientes com doença autoimune estavam incluídas as seguintes patologias:

- 03 (33,4%) pacientes com artrite reumatóide;
- 06 (66,6%) pacientes com lúpus eritematoso sistêmico.

Conforme critério de inclusão e exclusão selecionou-se os pacientes que foram encaminhados, pelos médicos alergistas e dermatologistas, do Ambulatório do Hospital Universitário Professor Edgar Santos – UFBA.

Com intuito de manter a integridade dos resultados obtidos nos testes, um único profissional avaliou todos os pacientes, neste caso o próprio pesquisador. Além disso, a fim de evitar viés de medição, utilizaram-se os dois antebraços concomitantemente,

para, desta forma, poder-se verificar a reprodutibilidade e possíveis variações na técnica de realização dos exames. Os pacientes com quadro exacerbado de urticária crônica foram primeiro compensados antes de serem submetidos aos testes. Esse cuidado contribuiu com as medidas acima como formas de se evitar ao máximo o viés medição.

V.2. Critérios de Inclusão

Portadores de Urticária Crônica:

- a) Indivíduos acima de 18 anos de ambos gêneros;
- b) Com diagnóstico de urticária e com sintomas de por mais de seis semanas;
- c) Com diagnóstico de rinite alérgica, segundo Consenso Brasileiro de Rinites[30];
- d) Com diagnóstico de doença com base autoimune conhecida.

V.3. Critérios de Exclusão

- a) Indivíduos menores de 18 anos;
- b) Uso de medicação imunossupressora ou corticosteróides sistêmicos nos últimos 30 dias ou uso de antihistamínicos nos últimos cinco dias;
- c) Portadores de urticária física;
- d) Mulheres gestantes;
- e) Indivíduos que apresentem alguma condição que não permita a participação no estudo, ou por incapacidade física e/ou mental, impossibilitando a realização dos testes;
- f) Indivíduos portadores de imunodeficiência primária;
- g) Portadores de dermatoses nas áreas dos braços selecionadas para o TSA e TPA.

V.4. Desenho do estudo, tamanho amostral e metodologia estatística

Trata-se de um estudo de corte transversal que visa avaliar a importância de dois métodos diagnósticos em pacientes portadores de Urticária Crônica. O tempo de duração do trabalho foi de 01 ano iniciando em 19/10/2009 até 21/10/2010.

O tamanho amostral foi escolhido por conveniência do número de pacientes consecutivos que compareceram para atendimento e que compunham a mostra populacional de portadores de urticária do ambulatório universitário do Hospital professor Edgar Santos.

Para a comparação utilizou-se os percentuais positivos dos testes (TPA e TSA), em que se destacaram as frequências. Quando necessário comparou-se os grupos pelo teste qui-quadrado de associação para variáveis qualitativas, enquanto o teste *t-student* foi possível comparação de grupos em relação às variáveis quantitativas. O teste de normalidade foi realizado em ambos os grupos a fim de garantir o pressuposto de normalidade. Além disso, intervalos de confiança foram criados ao nível de 95% de confiança, bem como a significância estatística foi estabelecida a 5%.

Para a inclusão dos dados e construção das tabelas e gráficos utilizou-se o Software Microsoft Excel, sendo o software SPSS versão 11.0 o uso para as análises estatísticas e realização dos testes estatísticos.

V.5. Teste de Soro Autólogo (TSA)

Realizado conforme técnica do primeiro consenso internacional, normatizando também a interpretação e principais indicações médicas[6]. Foi coletado sangue de veia periférica, em tubo estéril sem aditivos ou anticoagulantes, que permaneceu por 30 minutos em temperatura ambiente e, a seguir, centrifugado por 10 minutos a 450g. Feito

limpeza da face anterior do antebraço com antisséptico (álcool a 70%) e aplicado via injeção intradérmica 0,05 ml do soro não diluído e de solução salina como controle negativo com uma distância entre as aplicações de 3 cm. Como controle positivo, foi utilizado histamina a 10mg/ml através de punção epicutânea. Após 30 minutos, medido o máximo diâmetro perpendicular da pápula formada na aplicação do soro, da solução salina e da histamina. O teste foi considerado positivo quando houve formação de uma pápula de 1,5mm acima do controle negativo

V.6. Teste de Plasma Autólogo (TPA)

Teste ainda não normatizado em consenso. Portanto realizado conforme descrito na literatura por outros pesquisadores[7]. O local de aplicação e via de injeção é similar ao TSA. Portanto, foi aplicado em conjunto com o soro, controle negativo e histamina na mesma ocasião de aplicação do TSA. Como anticoagulante para formar o plasma, foi utilizado citrato de sódio em tubo estéril para coleta de sangue venoso em veia periférica, pois outras substâncias podem resultar em reações irritativas[7]. Após permanecer em temperatura ambiente por 30 minutos, o sangue foi centrifugado por três minutos a 1250g. A seguir foi realizada aplicação intradérmica no antebraço conforme descrito anteriormente para o soro. A leitura foi realizada concomitante ao soro e também o teste foi considerado positivo se havia formação de uma pápula de 1,5mm acima do controle negativo.

V.7. FAN (fator antinuclear)

Foi coletado sangue periférico e separado soro para realização de FAN, pesquisado por imunofluorescência indireta utilizando-se células HEP-2 como substrato. Foram considerados positivos somente exames com títulos maiores ou iguais a 1:80.

Figura 1. Teste de Soro Autólogo e Teste de Plasma Autólogo.



VR = pápula > 1,5mm do controle negativo

V.8. Considerações Éticas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica da Maternidade Climério de Oliveira, sob Parecer/Resolução de número 093/2009 (ANEXO 1), sendo seus participantes todos voluntários que, após esclarecimentos sobre os objetivos desta pesquisa, assinaram o termo de consentimento informado (ANEXO 2).

Os voluntários que participaram deste estudo doaram cerca de 10ml de sangue para realização dos testes.

A coleta de sangue foi realizada por profissionais da área de saúde devidamente habilitados para exercerem essa função. Os materiais utilizados na coleta de sangue foram todos descartáveis. A coleta não oferece riscos, a não ser a possibilidade de sangramento e formação de hematoma no local da inoculação da agulha, o que é raro e necessita apenas de aplicação de compressas de calor local.

VI. RESULTADOS

O presente trabalho selecionou uma população de 86 indivíduos. Dentre estes 69,8% (n=60) são pacientes diagnosticados com Urticária Crônica sem causa determinada (Grupo 1). O restante, 30,2% (n=26), não apresentava Urticária Crônica, sendo pacientes com doença autoimune e/ou rinite (Grupo 2), Tabela 1.

Todos os pacientes tinham diagnóstico de urticária crônica ainda sem fator etiológico definido. Portadores de urticária física ou urticária por intolerância a antiinflamatórios não esteróides (AINES) não foram incluídos no estudo.

Dos indivíduos com urticária UC observou-se que 71,7% são do sexo feminino, e no grupo 2 este percentual foi de 61,5%, não havendo diferenças estatisticamente significantes (p-valor = 0,353). Os pacientes com UC tem em média 41,98 anos, enquanto para o outro grupo essa média é de 42,23 anos, também sem diferenças estatisticamente significantes (p-valor = 0,941), Tabela 1 e Gráfico 1. O tempo médio de acometimento de UC foi de 7,03 anos. A frequência de angioedema neste grupo foi 75% (n=45).

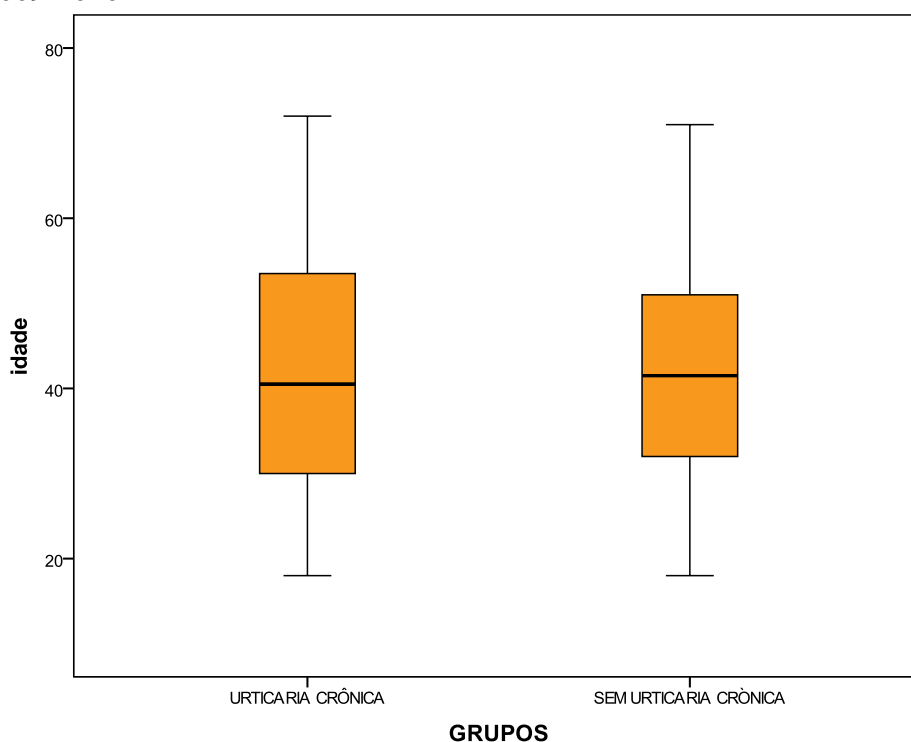
Tabela 1: Características dos pacientes com e sem urticária crônica do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES** – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010

Característica	Grupo 1 (Urticária Crônica) (n=60; 69,8%)	Grupo 2 (Sem urticária crônica) (n=26; 30,2%)	Geral (n=86)	p-valor
Idade-anos (média; desvio-padrão)	41,98 (14,54)	42,23 (13,74)	42,06 (14,22)	0,941
Gênero (% Feminino)	71,7	61,5	68,6	0,353
Tempo Doença - anos (média; desvio-padrão)	7,03 (6,40)	--	--	--

* Teste t de comparação entre os grupos para idade; Teste qui-quadrado de associação entre grupos.

** Hospital Universitário Professor Edgar Santos - UFBA, Salvador-Ba

Gráfico 1: Boxplot do perfil da idade dos grupos de pacientes com e sem urticária crônica do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES* – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010



*Hospital Universitário Professor Edgar Santos - UFBA, Salvador-Ba

VI.1. Positividade do Teste de Soro Autólogo e Teste de Plasma Autólogo

A Tabela 2 destaca as frequências do TSA e do TPA para os dois grupos. Observa-se que os pacientes com urticária crônica tiveram a frequência superior para o TPA quando comparados ao TSA. Ou seja, 68,3% dos pacientes com UC apresentam positividade no teste de plasma autólogo, enquanto que apenas 43,3% destes indivíduos têm teste de soro autólogo positivo. Analisando-se o grupo de pacientes sem urticária crônica (grupo 2), observa-se a baixa frequência para ambos os testes (11,5% de TSA e 19,2% de TPA). Ainda assim o TPA representa um leve incremento em relação ao TSA, conforme demonstrado no Gráfico 2.

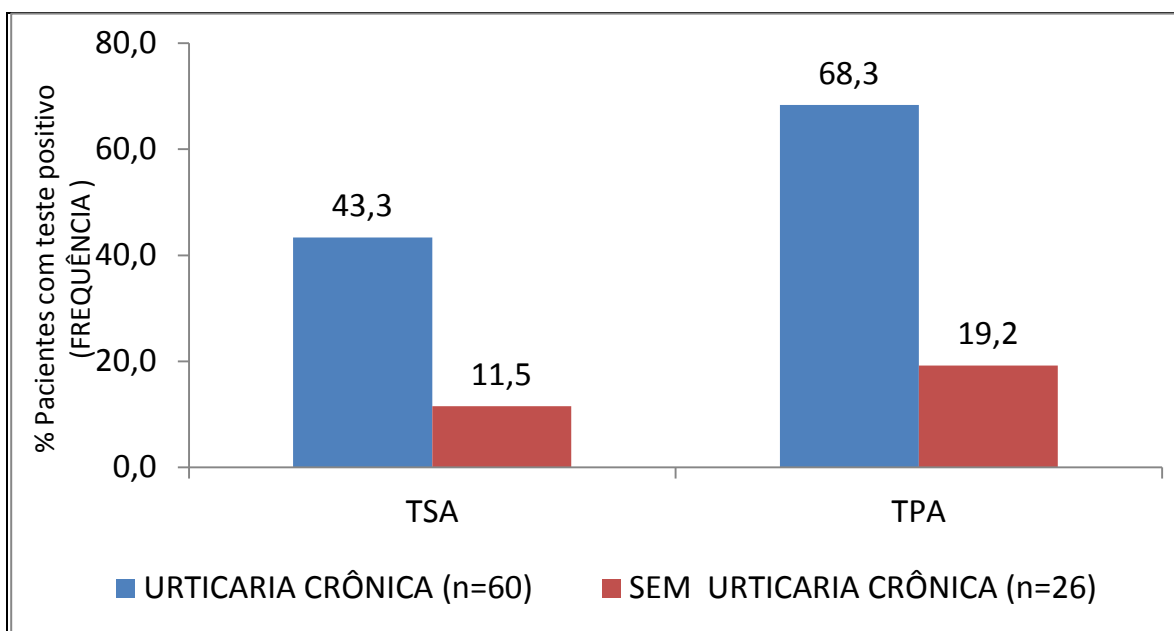
Tabela 2: Frequência do Teste de Soro Autólogo (TSA) e do Teste de Plasma Autólogo (TPA) dos pacientes com e sem urticária crônica do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES** – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010

GRUPO	TSA		TPA	
	n	%*	N	%*
URTICARIA CRÔNICA (n=60)	26	43,3	41	68,3
SEM URTICARIA CRÔNICA (n=26)	3	11,5	5	19,2

* Frequência.

** Hospital Universitário Professor Edgar Santos - UFBA, Salvador-Ba

Gráfico 2: Frequência do Teste de Soro Autólogo (TSA) e do Teste de Plasma Autólogo (TPA) dos pacientes com e sem urticária crônica do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES** – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010



** Hospital Universitário Professor Edgar Santos - UFBA, Salvador-Ba

Avaliando-se 15 pacientes que somente apresentaram teste de plasma autólogo positivo, encontramos as seguintes características:

1. Frequência do gênero feminino em 60% (n=9/15);
2. Tempo médio de doença estimado em 7,7 anos;
3. Representam 17,4% do total dos testes realizados;
4. Representam 25% dos pacientes portadores de Urticária Crônica.

Não houve nenhum paciente com teste de soro autólogo positivo e que apresentasse teste de plasma autólogo negativo.

Fazendo-se uma análise dos pacientes com teste de Soro e plasma NEGATIVOS encontramos os seguintes dados:

1. A frequência de pacientes com testes negativos foi de 31,6% (n=19);
2. A frequência do gênero feminino é de 57,9%;
3. O tempo médio de doença ficou em 5,9 anos;
4. Presença de angioedema foi presente em 68,4%.

VI.2 Sensibilidade e Especificidade

Quando se avalia a sensibilidade e especificidade dos testes verifica-se a sensibilidade do TPA em 100,0 (IC-95% 87,1%; 100,0%), ou seja, os casos positivos do TPA conseguem captar os 100,0% do padrão ouro (TSA). Além disso, a especificidade representou 55,9% (IC-95% 39,4%; 71,1%), isto é, o TPA tem a capacidade de detectar os casos negativos em 39,4% a 71,1%, considerando-se o intervalo de confiança a 95%. Além disso, o teste de concordância Kappa apresentou diferenças estatisticamente significantes (p-valor = 0,000), Tabela 3.

Tabela 3: Avaliação dos testes nos pacientes com urticária crônica segundo o tipo de teste (TSA ou TPA) do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010

Teste de Plasma Autólogo – TPA	TSA - Padrão (Referência)				p-valor*
	n	Positivo %	n	Negativo %	
Positivo	26	100,0	15	44,1	0,0000
Negativo	0	0,0	19	55,9	

* P-valor do teste de concordância Kappa, com resultados assintóticos.

Nota: TSA - Teste de Soro Autólogo.TPA – Teste de Plasma Autólogo

VI.3. Reatividade Cutânea no Teste de Soro Autólogo e Teste do Plasma Autólogo

Caracterizando-se apenas os indivíduos portadores de urticária crônica com positividade em ambos os testes (TSA ou TPA), observa-se uma diferença estatisticamente significativa entre os diâmetros das pápulas. Enquanto o diâmetro da pápula apresentou em média 4,8mm (IC-95% 4,4; 5,3) nos pacientes com o TSA positivo, esta média ficou em 6,8mm (IC-95% 6,4; 7,1) para os pacientes com TPA positivo, Tabela 4.

Tabela 4: Características dos pacientes com urticária crônica segundo o tipo de teste (TSA ou TPA) do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES* – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010

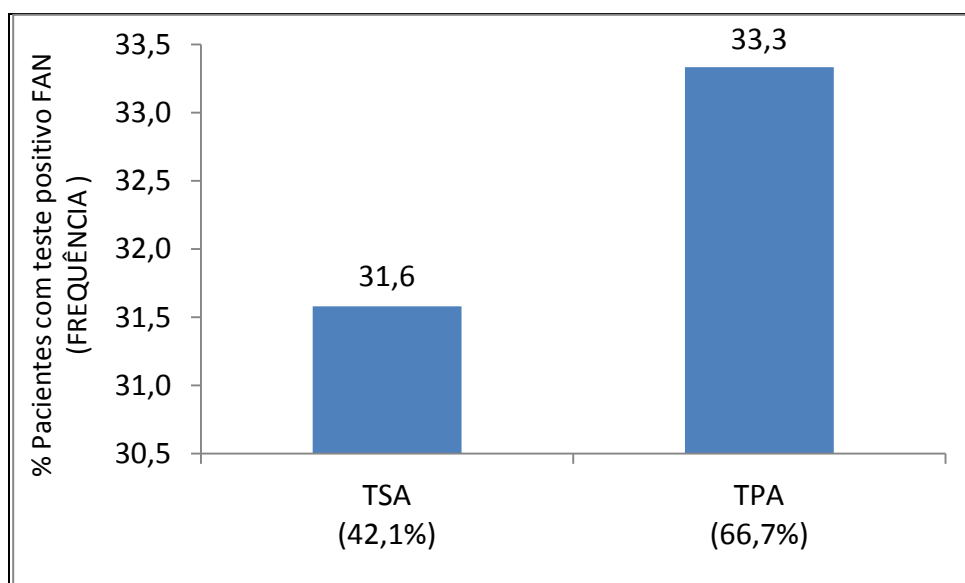
Características	URTICÁRIA CRONICA (n = 60)	
	TSA POSITIVO (n=26/60; 43,3%)	TPA POSITIVO (n=41;68,3%)
Idade-anos (média; IC-95%)	40,8 (35,3; 46,3)	41,0 (36,5; 45,5)
Gênero (% Feminino)	73,1	78,0
Diâmetro da Papula (mm) (média; IC-95%)	4,8 (4,4; 5,3)	6,8 (6,4; 7,1)
Tempo Doença - anos (média; IC-95%)	6,5 (3,6; 9,4)	6,9 (4,8; 9,1)

Nota: TSA - Teste de Soro Autólogo ; TPA - Teste de Plasma Autólogo

VI.4. Positividade do FAN nos pacientes com urticária crônica

O FAN (fator antinuclear) foi usado como marcador de auto-reatividade e pesquisado nos pacientes com urticária crônica. Observou-se que nos pacientes com urticária crônica e Fator Antinuclear (FAN) positivo também teve discreto destaque para o TPA (33,3%) quando comparado ao TSA (31,6%), Gráfico 3. O padrão predominante do FAN foi o padrão nuclear com pontilhado fino. Os títulos variaram de 1:80 a 1:640. A frequência de positividade do FAN foi de 21% nos pacientes com UC.

Gráfico 3: Frequência do FAN (Fator Antinuclear) nos pacientes com urticária crônica (n=57) segundo o tipo de teste (TSA ou TPA) do ambulatório de alergia e imunologia do HUPES* – UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010



*Hospital Universitário Professor Edgar Santos - UFBA, Salvador-Ba
Nota: TSA - Teste de Soro Autólogo ; TPA - Teste de Plasma Autólogo

VII. DISCUSSÃO

Apesar de todo avanço médico no conhecimento fisiopatológico da urticária crônica o diagnóstico etiológico e a condução terapêutica dos portadores dessa patologia ainda se constituem um grande desafio para os profissionais de saúde que lidam diariamente com esses pacientes. O entendimento das alterações imunodermatológicas, que levam à recorrência e cronificação desse sintoma, tem nos lançado em uma longa e difícil jornada de busca por melhores testes diagnósticos e estabelecimento de planos de tratamento menos custosos e mais eficazes para esses doentes. Estudos iniciados na década de 80 apontam para a participação de autoimunidade como indutores fundamentais de todo o processo imunológico que leva ao aparecimento e recorrência das lesões dermatológicas que caracterizam a urticária[3] Esses trabalhos demonstraram a participação de anticorpos da classe IgG (IgG1 e IgG3) como sendo as frações imunogênicas responsáveis por grande parte dos quadros de urticária crônica sendo, esses doentes, classificados como portadores de urticária crônica autoimune. Recentemente foi estabelecido que o critério fundamental para esse diagnóstico é a presença do teste de soro autólogo positivo[6]. Entretanto, achados demonstrando uma maior positividade do teste do plasma autólogo na UC, geram dúvidas se o TSA consiste no melhor instrumento para o diagnóstico da UCAI[7, 28, 31].

No presente estudo, foram avaliados um total de 86 indivíduos provenientes do ambulatório de alergia do hospital universitário Professor Edgar Santos – UFBA, no período de outubro de 2009 a outubro de 2010, visando verificar o comportamento de dois exames utilizados para diagnóstico de urticária crônica autoimune. Dois grupos de pacientes foram submetidos a teste de soro autólogo (TSA) e teste de plasma autólogo (TPA), de forma concomitante, sendo subdivididos em um grupo com 60 indivíduos portadores de UC sem diagnóstico etiológico (grupo 1) e outro de comparação com 26

indivíduos sem urticária (grupo 2), com rinite alérgica ou doença autoimune. Apesar da grande diferença no número de pacientes alocados em cada grupo, as análises estatísticas revelaram tratar-se de duas populações com características homogêneas quanto às variáveis pesquisadas de idade e sexo, não havendo diferenças significativas entre eles. Tais resultados tornam-se favoráveis em vista de permitir a comparação destes dois grupos quanto ao teste de soro autólogo (TSA) e o teste de plasma autólogo (TPA). A frequência do sexo feminino nos pacientes com UC foi estimada em 71,7%, sendo este percentual compatível ao encontrado nos dados de literatura que mostram uma prevalência em torno de 70 a 80% nas mulheres[32, 33] A maioria dos trabalhos mostra claramente um acometimento duas vezes mais freqüente das mulheres que dos homens tanto se tratando de urticária crônica quanto de urticária no geral[33]. Pode-se inferir que essa predominância da urticária em mulheres seja um reflexo da associação de fatores autoimunes presentes na UC pois, as doenças autoimunes, de modo geral são mais freqüentes no gênero feminino.

A média de idade da população estudada foi de 41,98 anos, o tempo médio de doença de 7,03 anos e o angioedema foi relatado por 75% dos pacientes do grupo 1. Não existem trabalhos no nosso meio a respeito do perfil demográfico de pacientes semelhantes. Recentes estudos da literatura internacional mostram que a UC persiste por 1 ano em 50 a 71% dos pacientes e 5 a 10 anos em 25 a 56% deles[34] A presença de angioedema é vista sempre como um fator de gravidade na UC e relatado em 25-40% dos indivíduos na maioria dos estudos[19]. Isso demonstra que a população selecionada para este trabalho carrega aspectos clínicos mais graves e sintomatologia com remissão mais demorada. Esses doentes geralmente necessitam de cuidados mais específicos e manipulação terapêutica mais especializada. Isso decorre do fato de trabalharmos com

indivíduos atendidos em uma unidade de referência para doenças alérgicas que, conseqüentemente, exibem um perfil de patologias mais complexas.

Ao avaliarmos a frequência de positividade do teste de soro autólogo e do teste de plasma autólogo nos pacientes com diagnóstico da urticária crônica, encontramos 68,3% deles com TPA positivo, enquanto que o percentual de positividade do TSA ficou em 43,3%. Esses resultados evidenciam uma clara superioridade do TPA quando comparado ao TSA nos pacientes do grupo 1 da nossa amostra. Além disso, um total de 15 indivíduos apresentou somente TPA positivo e nenhum paciente teve TPA negativo com TSA positivo. No primeiro trabalho publicado, comparando os dois testes, Asero et al demonstrou um percentual da positividade de TPA de 86% contra 53% do TSA[7]. Entretanto, outro estudo multicêntrico envolvendo 200 pacientes (146 mulheres e 54 homens) não encontrou dados semelhantes demonstrando uma positividade do TSA de 37,5% contra somente 43% do TPA[35] Embora o TSA tenha sido estabelecido como o padrão de referência mundial para diagnóstico de UCAI, ainda persistem muitas dúvidas a respeito da sua eficiência como teste diagnóstico. Estudos demonstram que fatores auto-reativos presentes no plasma seriam consumidos pela cascata de coagulação e estariam ausentes no soro, sendo o TPA mais sensível que o TSA como demonstrado no nosso estudo[31].

Levando-se em consideração o critério atual do consenso de soro autólogo, que determina ser este o teste fundamental para o diagnóstico de urticária crônica autoimune[6], na nossa amostra, a frequência dessa patologia ficou em 43,3% do total dos pacientes com urticária crônica ainda sem fatores etiológicos identificados. O TSA foi utilizado pela primeira vez em 1986 por Grattam et al para demonstrar presença de auto-reatividade em portadores de UC que foi calculada em 30% dos pacientes avaliados[5] Após os trabalhos de Hide et al identificarem a participação de anticorpos

da classe IgG como frações auto-reativas capazes de induzir o aparecimento recorrente dos sintomas de urticária[12] o teste de soro autólogo tem sido utilizado rotineiramente como exame fundamental no diagnóstico de urticária crônica autoimune. Em 2009 foi publicado o primeiro consenso mundial do TSA com padronização da técnica, resultados e modo interpretação. A frequência de positividade no consenso foi definida em 45%, em adultos, usando-se os critérios padronizados para a realização do teste[6], mesmo tratando-se de amostras populacionais muito diferentes, estes dados estão totalmente de acordo com os encontrados na nossa população e não diferem da maioria dos trabalhos já publicados. Isso parece indicar que possíveis variações na prevalência não são devidas às diferenças genéticas dos indivíduos testados.

No nosso trabalho, todos os pacientes com urticária crônica somente foram testados quando se encontravam controlados dos sintomas cutâneos e assim podíamos suspender os anti-histamínicos por cinco dias para realizar os testes. Como não houve diferença entre a frequência encontrada de positividade dos testes de soro autólogo com os dados publicados em literatura, provavelmente a intensidade dos sintomas da urticária não influenciou nos resultados da nossa amostra. Esses resultados divergem daqueles publicados na literatura. Dessa forma, alguns estudos indicam que variações do momento de realização do teste de soro autólogo, parecem influir nos resultados obtidos e tendem a aumentar ou diminuir o valor diagnóstico desse exame[36]. Portanto, alguns pesquisadores sugerem que a coleta do sangue seja realizada na fase de exacerbação da doença como forma de aumentar a sensibilidade e especificidade do teste[36] assim como, pacientes com TSA positivo apresentariam uma urticária mais grave que os doentes com TSA negativo.

Analisamos a reatividade cutânea dos testes através da medida do tamanho da pápula e comparamos o TSA com o TPA. Subtraindo-se o valor, em milímetros,

encontrado na pápula formada após a aplicação do soro ou plasma, do valor da pápula no controle negativo, encontramos a medida correspondente a essa reatividade cutânea. Observa-se que o diâmetro da pápula apresentou em média 4,8mm (IC-95% 4,4; 5,3) nos pacientes com o TSA positivo ficando em 6,8mm (IC-95% 6,4; 7,1) nos pacientes com TPA positivo. Como não há interseção entre os intervalos de confiança, inferimos uma diferença estatisticamente significativa entre os diâmetros das pápulas que contribui ainda mais com os achados de frequência de positividade dos testes e leva a demonstrar ser o TPA mais fidedigno no diagnóstico da UCAI que o TSA.

Ao avaliarmos a sensibilidade e especificidade do TPA e TSA encontramos um valor de 100% de sensibilidade para o TPA com especificidade calculada em 55,9% devido ao fato de que, todos os pacientes que exibem resultado de TSA positivo, também apresentam TPA positivo. A capacidade do TPA em conseguir detectar os casos negativos ficou entre 39,4% a 71,1% com IC de 95%. Um estudo comparando os dois testes demonstrou uma positividade do TPA em relação ao TSA de 98% com uma frequência de TPA positivo de 70% nos pacientes com TSA negativo[7]. Outro estudo de coorte comparando TSA em pacientes com UCI e rinite alérgica sazonal demonstrou uma sensibilidade e especificidade do TSA de, respectivamente, 53 e 28%[37] Não encontramos nenhum outro estudo de comparação entre os dois testes, com avaliação dos parâmetros citados acima.

O FAN Hep-2 (fator antinuclear) foi pesquisado em todos os pacientes do grupo 1 havendo um percentual de 20% (n=12) de indivíduos com positividade para esse marcador. Comparando-se a frequência de positividade do TSA e TPA com o FAN, encontrou-se 33,3% e 31,6% de positividade, respectivamente. O FAN foi pesquisado em todos os pacientes do grupo 1 havendo um percentual de 20% (n=12) de indivíduos com positividade para esse marcador. Não foi encontrada positividade do FAN em

nenhum paciente com urticária crônica com TSA e TPA negativos. O FAN é um conjunto de anticorpos, contra diferentes estruturas das células, podendo indicar várias doenças autoimunes diferentes. Sabe-se também que 10% a 15% da população sadia pode ter FAN positivo em valores baixos sem que isso indique qualquer problema de saúde. Dessa forma, encontramos uma maior frequência de positividade de FAN nos pacientes com UC do que o referido para uma população sadia e essa diferença é ainda maior quando consideramos os pacientes com testes de soro ou plama positivos, ou seja, os indivíduos com UCAI. Dessa forma, encontramos uma maior frequência de positividade de FAN nos pacientes com UC do que o referido para uma população sadia e essa diferença é ainda maior quando consideramos os pacientes com testes de soro ou plama positivos, ou seja, os indivíduos com UCAI.

Na nossa amostra, um paciente apresentou titulação do FAN de 1:320 com padrão nuclear pontilhado fino e padrão nucleolar homogêneo e outro com título de 1:640 com padrão pontilhado fino e nuclear pontilhado grosso. Os demais pacientes tiveram títulos abaixo ou igual a 1:160 com padrão nuclear pontilhado fino. Um FAN positivo não é necessariamente diagnóstico de patologia, principalmente quando os títulos são baixos ($< 1:80$) mas, pode indicar autoreatividade em pacientes portadores de urticária crônica [38] McGhee et al sugeriu que títulos de FAN abaixo de 1:80 tem 100% de valor preditivo negativo para lúpus eritematoso sistêmico[39]. Krupa Shankar et al descreve uma frequência bem mais baixa de positividade do FAN em pacientes com UC, com um percentual de apenas 7,7% nos indivíduos com TSA positivos mas, não há referência a respeito do padrão e títulos encontrados nem do método utilizado para confecção dos exames[38]. Outro trabalho que utilizou o FAN como marcador de auto-reatividade mostrou um percentual de apenas 2% de positividade nos pacientes com UC e TSA positivo, 23,4% nos total de pacientes com UC sendo que somente dois

pacientes tiveram títulos acima de 1:160 sem referir padrões encontrados nem técnica utilizada[40]. Entretanto, esta pesquisa foi realizada em crianças de 4 a 15 anos não apresentando nenhuma semelhança com a população selecionada no nosso estudo.

No grupo de pacientes sem urticária encontramos uma baixa prevalência de positividade dos testes com apenas 11,5% de TSA positivo contra 19,2% do TPA. Ainda assim houve um leve incremento da frequência de positividade do plasma em relação ao soro. Em um estudo de coorte com 116 indivíduos foi encontrada uma frequência de TSA positiva de 53,1% em pacientes com urticária crônica idiopática, 29,8% em pacientes com rinite alérgica sazonal e 40,5% em controles sadios[37]. Pacientes com rinite também foram testados na nossa amostra e exibem um percentual de 22,2% de TSA positivo embora nosso número amostral tenha sido menor que o do estudo referido. Pacientes sadios não foram incluídos nessa etapa do nosso trabalho. Entretanto, os poucos dados publicados apresentam resultados conflitantes nos fazendo admitir a necessidade de mais trabalhos que definam o real percentual de positividade desse exame na população sadia. Não se sabe ainda o significado da positividade desses testes nesse grupo. Não podemos descartar a possibilidade de que esses indivíduos venham apresentar urticária em algum momento da vida[6]. Também a positividade desse teste nos pacientes com doença autoimune pode refletir fenômenos autoimunes concomitantes que podem coexistir nesses indivíduos. Também não sabemos a positividade do FAN nesses indivíduos portadores de rinite alérgica com testes de soro e plasma positivos. Os três pacientes de doença autoimune que apresentaram FAN positivos e testes positivos eram portadores de lúpus eritematoso sistêmico, já exibindo, portanto, presença de fatores autorreativos séricos.

Existem dois aspectos que merecem ser comentados com relação de comparação dos pacientes sem urticária que poderiam adicionar informações

importantes. Em primeiro lugar, poderíamos ter um número maior de indivíduos, pelo menos o mesmo número de pacientes com urticária. Outro aspecto consiste na ausência de indivíduos assintomáticos sem doenças alérgicas e também um maior número de doenças autoimunes, particularmente doenças autoimunes da tireoide. Tivemos dificuldade em encontrar uma amostra sadia que concordasse em realizar os testes assim como a maioria dos pacientes com doenças autoimunes acompanhadas nos ambulatórios do HUPES estavam em uso de imunossupressor impedindo a realização dos testes.

A realização dos testes sempre pelo mesmo indivíduo e em duplicata, nos dois braços dos pacientes, torna os resultados obtidos mais confiáveis. Além disso, não foram encontradas diferenças em quase totalidade dos indivíduos testados com relação às medidas das pápulas dos pacientes soro e plasma entre os dois braços avaliados concomitantemente (dados não mostrados).

VIII. PERSPECTIVAS DE ESTUDO

Este é o primeiro estudo clínico do serviço de imunologia do hospital universitário professor Edgar Santos a dar origem a uma dissertação de mestrado envolvendo pacientes com urticária. Normatizamos o teste de soro autólogo segundo a técnica estabelecida no primeiro consenso e o instituímos como ferramenta diagnóstica fundamental a ser pesquisada em todos os pacientes com urticária crônica idiopática. Como perspectivas, podemos citar:

1. Implantação de uma unidade ambulatorial para atendimento de pacientes portadores de UC;
2. Manter o teste de plasma autólogo na rotina de exames solicitados nos pacientes com UC;
3. Avaliar outros parâmetros indicadores de auto-reatividade nessa população, particularmente anticorpos antitireoideanos e fator reumatóide;
4. Ampliar a avaliação do perfil demográfico dessa população, incluindo indivíduos assintomáticos e outras doenças autoimunes;
5. Avaliar as variações de resposta clínicas às terapias adotadas nesses pacientes com testes positivos;
6. Avaliar prospectivamente os pacientes do grupo 2 com testes positivos quanto ao surgimento de urticária.

IX. CONCLUSÕES

1. O teste de plasma autólogo é mais freqüente que teste de soro autólogo nos pacientes com diagnóstico de urticária crônica sem fatores etiológicos conhecidos;
2. O teste TPA e TSA são encontrados em baixa freqüência nos pacientes portadores de rinite e doença autoimune;
3. A prevalência nos pacientes com urticária crônica autoimune do ambulatório de alergia do hospital universitário professor Edgar Santos é de 43,3%;
4. Pacientes com urticária crônica apresentam maior positividade de FAN que na população sem urticária.

X. SUMMARY

Evaluation of Autologous Serum Skin Test (ASST) and Autologous Plasma Skin Test (APST) in Patients with Chronic Urticaria (CU)

Diagnosis of Chronic Auto Immune Urticaria (CAIU) is performed by the autologous serum skin test (ASST) as standardized in a consensus panel. Current studies suggest more positive results using the patient's plasma (APST) thus bringing a controversy about the best skin test to define CAIU. The main objective of this study is to compare the frequency of positive ASST and APST in chronic urticaria (CU). **Methods:** it is a cross-sectional study with adult patients of both genders from Professor Edgar Santos university hospital – UFBA. ASST and APST were performed in 60 subjects with CU (Group1) and 26 subjects without CU (17 subjects with persistent allergic rhinitis and nine with autoimmune diseases) (Group 2). The ANA (antinuclear antibody) was performed in all patients with CU. **Results:** All of the patients had a mean age of 42.06 years old with homogenous demographic characteristics. The mean length of chronic urticaria was 7.02 years. Within group 1, ASST was positive in 43.3% and APST was positive. Fifteen patients (25%) had only positive APST. No patients with negative APST had positive ASST. The sensitivity of the APST in relation to the ASST (“gold standard”) was 100% and specificity of 55.9%. The ANA (antinuclear antibody) was positive in 20% of patients with CU, 33.3% when the APST was positive and 31.6% when ASST was positive. **Conclusion:** APST is a better diagnostic tool than ASST in the detection of autoreactivity in chronic urticaria.

XI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lindsey A. Brodell, B.L.A.B., MD*; and Sarbjit S. Saini, MD†, *Pathophysiology of chronic urticaria*. Ann Allergy Asthma Immunol., 2008. **VOLUME 100**: p. 291-298.
2. Zuberbier, T., et al., *EAACI/GA(2)LEN/EDF/WAO guideline: definition, classification and diagnosis of urticaria*. Allergy, 2009. **64**(10): p. 1417-26.
3. Leznoff, A., et al., *Association of chronic urticaria and angioedema with thyroid autoimmunity*. Arch Dermatol, 1983. **119**(8): p. 636-40.
4. Kikuchi, Y. and A.P. Kaplan, *Mechanisms of autoimmune activation of basophils in chronic urticaria*. J Allergy Clin Immunol, 2001. **107**(6): p. 1056-62.
5. Grattan, C.E., et al., *A serological mediator in chronic idiopathic urticaria--a clinical, immunological and histological evaluation*. Br J Dermatol, 1986. **114**(5): p. 583-90.
6. Konstantinou, G.N., et al., *EAACI/GA(2)LEN task force consensus report: the autologous serum skin test in urticaria*. Allergy, 2009. **64**(9): p. 1256-68.
7. Asero, R., et al., *Plasma of patients with chronic urticaria shows signs of thrombin generation, and its intradermal injection causes wheal-and-flare reactions much more frequently than autologous serum*. J Allergy Clin Immunol, 2006. **117**(5): p. 1113-7.
8. Juhlin, P.L., *The History of urticaria and Angioedema*.
9. Alfeu Tavares França, S.O.R.V., ed. *Urticária e Angioedema. Diagnóstico e Tratamento*. segunda edição ed. 2006, Livraria e Editora REVINTER Ltda.: Rio de Janeiro.
10. Gruber, B.L., et al., *Prevalence and functional role of anti-IgE autoantibodies in urticarial syndromes*. J Invest Dermatol, 1988. **90**(2): p. 213-7.
11. Kaplan, A., *Inflammation in chronic urticaria is not limited to the consequences of mast cell (or basophil) degranulation*. Clin Exp Allergy. **40**(6): p. 834-5.
12. Hide, M., et al., *Autoantibodies against the high-affinity IgE receptor as a cause of histamine release in chronic urticaria*. N Engl J Med, 1993. **328**(22): p. 1599-604.
13. Charles A. Janeway, P.T., Mark Walport, Mark Shlomchik, ed. *Immunobiology: the immune system in health and disease*. quinta edição ed. 2001, Garland Publishing.
14. Henz, B.M., *Exploring the mast cell enigma: a personal reflection of what remains to be done*. Exp Dermatol, 2008. **17**(2): p. 91-9.
15. Vasagar, K., et al., *Evidence of in vivo basophil activation in chronic idiopathic urticaria*. Clin Exp Allergy, 2006. **36**(6): p. 770-6.
16. Johansson, S.G., et al., *Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003*. J Allergy Clin Immunol, 2004. **113**(5): p. 832-6.
17. Palikhe, N., et al., *Analysis of high-affinity IgE receptor (FcεpsilonR1) polymorphisms in patients with aspirin-intolerant chronic urticaria*. Allergy Asthma Proc, 2008. **29**(3): p. 250-7.
18. Greaves, M., *Chronic urticaria*. J Allergy Clin Immunol, 2000. **105**(4): p. 664-72.

19. Zweiman, B.M., *Some Current clinical aspects of chronic urticaria*. University of Pennsylvania School of Medicine, 2006.
20. ALMEIDA, L.F.R., D. V. A. ; ALMEIDA, MCF; FIGUEIREDO, J P ; OLIVEIRA, J. C. S. ; LYRA, A. P. O. ; SIMOES, S. M. ; MEDEIROS JR, M; CAMPOS, R. A., *Prevalência de doenças alérgicas em ambulatório especializado da Universidade Federal da Bahia* Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia, 2008. **32**: p. 156-156.
21. H., M., *Autoserum test (AST)*. Nordisk Med, 1946. **29**:150-1.
22. Rorsman, H., *Basophilic leucopenia in different forms of urticaria*. Acta Allergol, 1962. **17**: p. 168-84.
23. Soundararajan, S., et al., *Functional assessment of pathogenic IgG subclasses in chronic autoimmune urticaria*. J Allergy Clin Immunol, 2005. **115**(4): p. 815-21.
24. Fiebiger, E., et al., *Anti-FcepsilonRIalpha autoantibodies in autoimmune-mediated disorders. Identification of a structure-function relationship*. J Clin Invest, 1998. **101**(1): p. 243-51.
25. Kaplan, A.P., *Chronic urticaria: pathogenesis and treatment*. J Allergy Clin Immunol, 2004. **114**(3): p. 465-74; quiz 475.
26. Ferrer, M., J.P. Kinet, and A.P. Kaplan, *Comparative studies of functional and binding assays for IgG anti-Fc(epsilon)RIalpha (alpha-subunit) in chronic urticaria*. J Allergy Clin Immunol, 1998. **101**(5): p. 672-6.
27. Sabroe, R.A., et al., *Classification of anti-FcepsilonRI and anti-IgE autoantibodies in chronic idiopathic urticaria and correlation with disease severity*. J Allergy Clin Immunol, 2002. **110**(3): p. 492-9.
28. Asero, R., et al., *Chronic urticaria: a disease at a crossroad between autoimmunity and coagulation*. Autoimmun Rev, 2007. **7**(1): p. 71-6.
29. Tedeschi, A., et al., *Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 in chronic urticaria patients correlate with disease severity and C-reactive protein but not with circulating histamine-releasing factors*. Clin Exp Allergy. **40**(6): p. 875-81.
30. Solé D, M.J.J., Weckx LLM, Rosário Filho NA., *I Consenso sobre rinites 2006*. Rev Bras Alerg Imunopatol. , 2006. **29**(1): p. 32-54.
31. Asero, R., et al., *Activation of the tissue factor pathway of blood coagulation in patients with chronic urticaria*. J Allergy Clin Immunol, 2007. **119**(3): p. 705-10.
32. Nettis, E., et al., *Clinical and aetiological aspects in urticaria and angio-oedema*. Br J Dermatol, 2003. **148**(3): p. 501-6.
33. Maurer, M., et al., *Unmet clinical needs in chronic spontaneous urticaria. A GA(2) LEN task force report(1)*. Allergy.
34. Toubi, E., et al., *Clinical and laboratory parameters in predicting chronic urticaria duration: a prospective study of 139 patients*. Allergy, 2004. **59**(8): p. 869-73.
35. Metz, M., et al., *Frequency and clinical implications of skin autoreactivity to serum versus plasma in patients with chronic urticaria*. J Allergy Clin Immunol, 2009. **123**(3): p. 705-6.
36. Sabroe, R.A., et al., *The autologous serum skin test: a screening test for autoantibodies in chronic idiopathic urticaria*. Br J Dermatol, 1999. **140**(3): p. 446-52.
37. Guttman-Yassky, E., et al., *The autologous serum skin test in a cohort of chronic idiopathic urticaria patients compared to respiratory allergy patients and healthy individuals*. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2007. **21**(1): p. 35-9.

38. Krupa Shankar, D.S., M. Ramnane, and E.A. Rajouria, *Etiological approach to chronic urticaria*. Indian J Dermatol. **55**(1): p. 33-8.
39. McGhee, J.L., L.M. Kickingbird, and J.N. Jarvis, *Clinical utility of antinuclear antibody tests in children*. BMC Pediatr, 2004. **4**: p. 13.
40. Jirapongsananuruk, O., et al., *Identification of the etiologies of chronic urticaria in children: a prospective study of 94 patients*. Pediatr Allergy Immunol. **21**(3): p. 508-14.

XII. ANEXOS

ANEXO I Termo de consentimento livre e pré- esclarecido

ANEXO II Aprovação pelo comitê de ética e pesquisa

ANEXO III Questionário de investigação dos pacientes com urticária crônica

ANEXO IV Folha de rosto dos testes

ANEXO I

Avaliação do Teste de Soro Autólogo e Teste de Plasma Autólogo em Pacientes com Urticária Crônica e Doença Auto-imune.

SERVIÇO DE IMUNOLOGIA HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. EDGAR SANTOS – UFBA

Rua Augusto Viana, s/n – Canela – CEP 40140.000 – Salvador-BA

Você está sendo convidado(a) a participar de um estudo de pesquisa. Antes de decidir, é importante que entenda o porque a pesquisa está sendo realizada e o que ela envolve. Por favor, dedique um tempo para ler cuidadosamente as informações seguintes e discutir isto com os seus familiares, amigos e seu médico. Se você desejar, pode levar esta folha para casa para pensar melhor. Nos pergunte se houver qualquer coisa que não está clara ou se você precisar de mais informações. Utilize o tempo que for necessário para decidir se deseja participar do estudo.

Participação Voluntária:

Você pode ou não participar da pesquisa. Se quiser participar, deverá assinar este formulário em duas vias e manter uma cópia com você. Se decidir participar, mas mudar de idéia durante a pesquisa, poderá sair a qualquer momento sem se desculpar. Isto não afetará o cuidado e a atenção que seu médico tem dado a você.

Título do Projeto: Avaliação do Teste de Soro Autólogo e Teste de Plasma Autólogo em Pacientes com Urticária Crônica e Doença Auto-imune.

Investigadores Principais: Régis de Albuquerque Campos, Médico, Professor de Medicina da Universidade Federal da Bahia,

José Carlison Santos de Oliveira, Médico

Serviço Imunologia, Hospital Universitário Prof. Edgard Santos – UFBA, Rua João da Botas s/n, Canela, CEP 40.110-160, Salvador-BA

Nome do Paciente: _____

Convite e Objetivo:

Trata-se de um estudo que visa avaliar a importância de dois métodos diagnósticos de urticária crônica usadas na prática clínica. A urticária crônica (UC) é definida como aparecimento recorrente de placas vermelhas, que coçam muito, com ou sem inchaço (geralmente dos lábios ou ao redor dos olhos) por mais de seis semanas. Estudos estimam que cerca de 0,1% da população geral seja portadora desse tipo de patologia, mas a prevalência real provavelmente exceda em muito essa estatística. Vários fatores foram descritos preliminarmente em relação à causa da urticária crônica indo, desde agentes físicos (pressão, frio, etc.) até alergênicos, entretanto, na maioria dos casos, nenhuma causa pode ser identificada levando esses pacientes a serem classificados como portadores de urticária crônica idiopática (UCI) e seu tratamento focado apenas no controle dos sintomas. A hipótese de que fatores presentes no próprio sangue do paciente seriam responsáveis pelo aparecimento da urticária crônica tem sido discutida na literatura médica há mais de 20 anos sendo, recentemente, esses pacientes

classificados como portadores de urticária crônica auto-imune (UCAI). Dois testes são descritos como fundamentais para esclarecimento dessa patologia, entretanto, ainda não existe consenso quanto ao real valor desses exames. Também esses testes podem estar positivos em alguns indivíduos sem urticária tais como aqueles com alergias respiratórias, doenças autoimunes ou mesmo indivíduos saudáveis. Não se sabe ainda se nesses indivíduos sem urticária tem mais probabilidade de desenvolverem urticária crônica.

Finalidade do estudo:

Este estudo tem a finalidade de avaliar a relevância do teste do soro autólogo e do plasma autólogo em pacientes com urticária crônica, pacientes alérgicos sem urticária e pacientes com outras doenças auto-imunes.

Procedimentos:

Caso concorde em participar do estudo, além dos questionários respondidos respondidos num total de 3(três) consultas que serão feitas no ambulatório de alergia do Ambulatório Magalhães Neto do Complexo Hospitalar Prof. Edgard Santos da UFBA, serão feitos dois testes diagnósticos (teste do soro autólogo e teste do plasma autólogo), realizados em um único momento, que são objetos do estudo em questão. Para a confecção destes exames você doará, de livre e espontânea vontade, à nossa instituição, 20ml de sangue venoso, que será coletado por profissional capacitado para tal, com o auxílio de seringas e agulhas descartáveis que será usado, única e exclusivamente, para este fim. Quaisquer outras possíveis destinações para uso desse material, você será informado previamente e ficará totalmente livre para dar ou não seu consentimento, sem que isso implique em nenhuma forma de mudança ou cuidado com seu tratamento. Após preparo de seu sangue no nosso laboratório, em condições estéreis, serão feitos os testes que consistem na aplicação desse material no seu antebraço juntamente com controle positivo e negativo e feita uma leitura após 30 minutos.

Duração do Estudo:

Após a assinatura do termo de consentimento, este projeto tem a duração prevista de 1(um) ano sendo esse o tempo que você estará envolvido na pesquisa.

Confidencialidade:

Qualquer informação obtida durante este estudo será confidencial sendo apenas compartilhada com outros membros da equipe. Os resultados serão divulgados na forma de comunicação científica, não permitindo a identificação individual dos participantes.

Análise dos Riscos e Benefícios:

A retirada de sangue venoso é um procedimento médico de rotina e, em casos raros pode provocar dor leve e sangramento após retirada da agulha. O teste do soro autólogo já é realizado como rotina no Serviço de Imunologia e raramente pode ocorrer coceira no local e dor leve no local da aplicação. O teste do plasma autólogo é idêntico ao teste do soro autólogo mudando apenas o modo como o sangue é processado. Caso aconteça alguma dessas reações adversas associadas aos procedimentos, todos os cuidados serão tomados por profissionais devidamente habilitados

Retorno dos Benefícios para o Sujeito e para a Sociedade:

Estudos que contribuem para identificação dos mecanismos envolvidos na urticária e no diagnóstico dessa condição, podem levar ao desenvolvimento de novos tratamentos além de poder identificar indivíduos que terão mais riscos de apresentar essa condição. As pessoas que se submeterem aos exames receberão, se desejarem, os resultados dos mesmos.

Custos:

Você não terá custos com a participação no estudo e nem receberá pagamento por sua participação.

Esclarecimentos:

Não foi estabelecida previamente nenhuma compensação especial para casos em que o(a) paciente sintá-se prejudicado(a) por ter participado do projeto de pesquisa. Se for prejudicado(a) pelo erro ou desatenção de algum profissional, poderá acionar a pessoa na justiça, assumindo o custo normal do processo. Além disso, se desejar apresentar queixa de qualquer aspecto do modo como foi orientado(a) ou tratado(a) durante a pesquisa, você poderá manter contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira, na pessoa do Dr. Antônio Barata, no endereço Rua Padre Feijó, 240 – Canela, telefone (071) 3203-2740.

Qualquer dúvida que você tenha sobre o que está escrito neste consentimento ou sobre os procedimentos que constam desse projeto de pesquisa, poderá entrar em contato com Dr. Régis de Albuquerque Campos ou o Dr. José Carlisson de Oliveira, coordenadores do projeto, médicos do Serviço de Imunologia do HUPES-UFBA, João das Botas, s/n – Canela, telefone (071) 3237-7353, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira, na pessoa do Dr. Antônio Barata, no endereço Rua Padre Feijó, 240 – Canela, telefone (071) 3203-2740.

Consentimento:

Às vezes, no decorrer de um projeto de pesquisa, novas informações sobre o tratamento/droga estudado(a) ficam disponíveis. Se isto acontecer, seu médico lhe avisará e conversará com você sobre sua permanência no estudo. Se você quiser se retirar, seu médico providenciará que seu tratamento continue sem qualquer prejuízo no atendimento. Além das informações aqui presentes você pode perguntar tudo sobre o estudo ao seu médico. Se você decidir continuar no estudo, lhe será pedido que assine um formulário de Consentimento Informado atualizado com as novas informações. O seu médico, ao receber as novas informações do estudo, pode também considerar, na defesa de seus melhores interesses, a sua saída do estudo. Ele(a) deverá explicar as razões e tomar as providências para que seu atendimento continue sem regularmente.

Se você leu o consentimento livre e esclarecido ou este lhe foi explicado e você concorda em participar voluntariamente deste estudo, favor assinar o nome abaixo. A você será entregue uma cópia deste formulário.

Antes de assinar este documento, eu fui suficientemente informado(a) sobre o projeto de pesquisa, os objetivos e orientações de quando eu estiver participando da pesquisa. Eu conversei diretamente com o(a) meu(minha) médico(a) e ele(a) respondeu todas as

perguntas que fiz com relação a pesquisa sem deixar dúvidas. Eu sei que posso desistir de participar da pesquisa a qualquer momento. Aceito participar voluntariamente da pesquisa, permitindo que meus registros médicos sejam inspecionados por representantes do governo para conferir se o estudo está sendo realizado corretamente.

Assinatura do Participante ou Responsável

Assinatura do Pesquisador

Local: _____ Data ____/____/____ Data

Hora

ANEXO II



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
 MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
 UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
 IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010

Rua Augusto Viana, s/rf, Canela – Hospital Universitário Professor Edgar Santos, 1º andar
 Cep: 40.110-160 – Salvador-Bahia telefax: (71) 3283-8043 e-mail: cep@ufba.br homepage: www.cep@ufba.br

PARECER/RESOLUÇÃO 093/2009

Registro CEP. 105/09. (Este n.º, bem como o do Parecer acima devem ser citados nas correspondências referentes a este projeto).

Título do Projeto. “Avaliação do Teste de Soro Autólogo e Teste de Plasma Autólogo em Pacientes com Urticária Crônica e Doença Auto-imune”.

Patrocínio/Financiamento. Recursos próprios do SIM (Serviço de Imunologia) da Instituição.

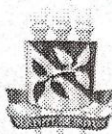
Pesquisador Responsável. José Carlison Santos de Oliveira, Médico Pediatra da Secretaria da Saúde do Estado da Bahia (SESAB) e Médico Alergologista pela Universidade Federal da Bahia (UFBA). **Professor-Orientador:** Regis de Albuquerque Campos, Professor Adjunto da Universidade Federal da Bahia. “Curricula Vitae” anexo.

Instituição. Ambulatório de Alergia e Imunologia, Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgar Santos, Universidade Federal da Bahia.

Área do conhecimento. 4.00, Ciências da Saúde; Ciências da Saúde; 4.01, Medicina; Nível Diagnóstico, D; Grupo III.

Objetivos. Geral — avaliar a importância do teste de soro de plasma autólogo para diagnóstico de Urticária Crônica (UC) auto-imune. **Específicos** — avaliar a frequência de positividade ao teste de soro autólogo e teste de plasma autólogo nos pacientes com diagnóstico prévio de urticária crônica, nos pacientes com diagnóstico prévio de lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatóide e nos pacientes grupo controles; avaliar a prevalência de urticária auto-imune nos pacientes previamente diagnosticados com urticária crônica; comparar a positividade do teste do soro autólogo com o teste do plasma autólogo nos pacientes com urticária crônica.

Resumo. Trata-se de estudo de corte transversal, prospectivo, com duração de 12 (doze) meses, para atingir os objetivos propostos, numa amostra de conveniência, com pacientes em acompanhamento no Ambulatório de Alergia e Imunologia do Pavilhão Francisco Magalhães Neto. Os **Critérios de Inclusão** contemplam indivíduos de ambos os sexos, com idade acima de 18 (dezoito) anos, diagnóstico prévio de UC, **Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES)** ou **Artrite Reumatóide (AR)**. Serão **Excluídos** menores de 18 (dezoito) anos, portadores de urticária física; aqueles que apresentem alguma condição que impeça colaboração por ocasião da inclusão no estudo; pacientes com LES ou AR em uso de corticosteróides sistêmico ou imunossuppressores nos últimos 30 (trinta) dias.



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010

Rua Augusto Viana, s/nº, Canela – Hospital Universitário Professor Edgard Santos, 1º andar
 Cep: 40.110-160 – Salvador-Bahia telef.: (71) 3283-8043 e-mail: cep/mco@ufba.br homepage: www.cep/mco.ufba.br

A pesquisa constitui um grupo caso-controle, nos quais serão realizados teste de soro autólogo e teste de plasma autólogo através de colheita de 10ml de sangue em cada paciente com suspensão de medicamento com ação anti-histamínica dois dias antes dos procedimentos e corticosteróides 30 (trinta) dias antecipadamente. Solução salina e histamina serão preparadas para controle positivo (formação de pápula maior ou igual a 3mm na ausência de qualquer reação à solução salina ou maior que 1,5 mm da pápula formada quando houver reação à mesma solução) ou negativo (inexistência de pápula após aplicação da histamina) seguido da leitura dos resultado em 30m. O Pesquisador justifica a inexistência de financiamento para execução do trabalho, visto que os testes já fazem parte da prática rotineira ambulatorial e os mesmos são realizados no Serviço de Imunologia do C-HUPES, o qual possui infra-estrutura adequada. De qualquer forma, deve-se apresentar a planilha de gastos detalhada. Cronograma dividido em três fases, das quais duas prevê a seleção dos pacientes e realização dos testes para o segundo semestre deste ano, ou seja, após emissão deste Parecer o Pesquisador tem em média 01 (hum) mês e meio. Seria exequível? Em caso negativo, deve-se reajustar o cronograma e encaminhar a este CEP.

A análise dos dados se processará com o auxílio do SPSS - *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 9.0, além da comparação entre os grupos utilizando o teste t de Student.

Comentários. O Estudo não prevê qualquer procedimento invasivo. Haverá benefício indireto que potencialmente levará ao desenvolvimento de novos tratamentos, bem como identificar indivíduos que terão mais riscos de apresentar a urticária. “Termo de Consentimento Livre e Pré-Esclarecido” bem explicativo, ético.

Projeto aprovável.



Assinado

Salvador, 11 de Novembro de 2009

Assinado
Professor, Doutor Antônio dos Santos Barata,
Coordenador – CEP/MCO/UFBA

Observações importantes. Toda a documentação anexa ao Protocolo proposto e rubricada pelo (a) Pesquisador (a), arquivada neste CEP, e também a outra devolvida com a rubrica da Secretária deste (a) ao (à) mesmo (a), faz parte intrínseca deste Parecer/Resolução e nas “Recomendações Adicionais” apenas, **bem como a imposterável entrega de relatórios parciais e final como consta nesta liberação,** (Modelo de Redação para Relatório de Pesquisa, anexo).

ANEXO III

		QUESTIONÁRIO DE URTICÁRIA/ANGIOEDEMA			
IDADE _____	SEXO _____	PROFISSÃO _____	PROCEDÊNCIA _____		
PROTÚRIO _____	ENDEREÇO _____				
DATA _____					
CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA					
Tempo de Doença					
Sintomas:	Urticária ()	Angioedema ()	Ambos ()		
Sensação referida:	Prurido ()	Ardência ()	Dor ()		
Duração:	< 24h ()	> 24h ()	Evolução:	< 6 sem ()	> 6 sem ()
Antecedentes pessoais:	Urticária ()	Angioedema ()	Atopia ()	Alergia Respiratória ()	
Antecedentes familiares:	Urticária ()	Angioedema ()	Atopia ()	Alergia Respiratória ()	
Desencadeantes	Inalantes ()	Agentes ambientais no trabalho ()	Físicos ()	Contato ()	Drogas ()
	Alimentos ()	Idiopáticos ()	Outros ()		
HISTÓRIA PESSOAL DE MEDICAMENTOS					
Medicamentos em uso: _____					
Reação com medicamentos:	NÃO ()	SIM ()	QUAIS _____		
ALERGIA ALIMENTAR					
NÃO ()	SIM ()	QUAIS _____			
URTICÁRIA FÍSICA					
Dermografismo ()	Pressão ()	Exercício ()	Frio ()	Calor ()	Vibração ()
Aquagênica ()	Exposição a UV ()				
ANTECEDENTES MÉDICOS					

EXAME FÍSICO					
AR	_____				
ACV	_____				
ABD	_____				
NEURO	_____				
EXT	_____				
PELE	_____				
LABORATÓRIO					

TRATAMENTO DA URTICÁRIA					
ANTI H1	NÃO ()	SIM ()	_____	DOSE/TEMPO/EFEITO	_____
ANTI H2	NÃO ()	SIM ()	_____	DOSE/TEMPO/EFEITO	_____
CORTICÓIDE	NÃO ()	SIM ()	_____	DOSE/TEMPO/EFEITO	_____
IMUNOMOD	NÃO ()	SIM ()	_____	DOSE/TEMPO/EFEITO	_____
OUTROS	NÃO ()	SIM ()	_____	DOSE/TEMPO/EFEITO	_____

ANEXO IV



TESTE DE SORO AUTÓLOGO E TESTE DE PLASMA AUTÓLOGO

Serviço de
Simunologia
HISTÓRIA - TERAPIA

NOME			
IDADE	SEXO	PROFISSÃO	PROCEDÊNCIA
PROTUÁRIO		ENDEREÇO	
DATA			

BRAÇO DIREITOHISTAMINA
SORO
PLASMA
CONTROLE**BRAÇO ESQUERDO**HISTAMINA
SORO
PLASMA
CONTROLE

XIV. RESUMO APRESENTADO EM EVENTO CIENTÍFICO

Temas Livres

TL.005 - Avaliação do Teste de Soro Autólogo (TSA) e Teste de Plasma Autólogo (TPA) em pacientes com Urticária Crônica (UC)

Jose Carlison Santos de Oliveira, Régis A. Campos, Maria Cecília Freitas de Almeida, Joanemile Pacheco de Figueiredo.

Hospital Universitário Professor Edgar Santos - UFBA. Serviço de Imunologia.

Objetivo: O diagnóstico da Urticária Crônica Auto Imune (UCAI) é realizado pelo Teste de soro autólogo (TSA). Estudos atuais sugerem uma maior positividade quando se faz o teste utilizando-se o plasma do paciente (teste de plasma autólogo - TPA). O objetivo principal desse trabalho é comparar a frequência de positividade TSA e TPA na Urticária Crônica (UC). **Metodologia:** Estudo de corte transversal com pacientes de ambos os gêneros, ≥ 18 anos, portadores de UC e oriundos do ambulatório de alergia do Hospital Professor Edgard Santos - UFBA. TSA e TPA foram realizados em todos os pacientes. Anti-histamínicos suspensos 05 dias antes e corticosteróides 30 dias antes. Solução salina usada como controle negativo e histamina o positivo. Local do teste: face posterior do braço direito e esquerdo em injeção intradérmica local. Leitura feita após 30min. A positividade foi definida como pápula maior ou igual a 1,5mm do controle negativo. O FAN foi pesquisado em todos pacientes. **Resultados:** foram avaliados 40 pacientes com média de idade 42,13 anos. Mulheres compoem 72,5% da amostra. TSA foi positivo em 40% e TPA positivo em 62,5%. 08 pacientes (30%) com TSA negativos tiveram TPA positivo. Nenhum paciente com TPA negativo teve TSA positivo. A média da pápula no TSA 4,3 mm e TPA 5,8mm. O tempo médio de doença nos pacientes com TPA positivo foi de 7,2 anos e com TPA negativo 6,8 anos. O FAN foi positivo apenas nos pacientes com TPA positivos (13 pacientes). **Conclusão:** Urticária Crônica é mais frequente em mulheres. TPA foi mais frequente que o TSA. FAN (marcador de auto-imunidade) foi positivo apenas nos pacientes com TPA positivo, sugerindo a importância desse exame como indicador de fenômenos auto-ímunes na Urticária Crônica.

XV. ARTIGO

Short Title: Chronic Urticaria and Autologous Skin Tests

Evaluation of Autologous Serum Skin Test (ASST) and Autologous Plasma Skin Test (APST) in Patients with Chronic Urticaria (CU)

José Carlison S. de Oliveira¹, Maria Cecília Freitas de Almeida ¹, Joanelle Pacheco de Figueredo¹, Luciana Santos Cardoso², Maria Ilma Andrade Santos Araujo², Edgar M. Carvalho^{2,3}, Régis de Albuquerque Campos^{1,2}

¹Serviço de Alergia, Complexo Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

²Serviço de Imunologia, Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

³Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Doenças Tropicais (CNPq/MCT), Salvador, Bahia, Brasil

Keywords: urticaria, chronic urticaria, autologous serum skin test, autologous plasma skin test, antinuclear antibody, allergic rhinitis, autoimmune diseases

Corresponding author and address: José Carlison Santos de Oliveira

Serviço de Alergia e Imunologia, Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos, Rua Augusto Viana s/n, 3º andar – Canela, 40110170, Salvador, Bahia, Brasil

E-mail: jcalso@gmail.com / **Telephone/fax:** + 55 71 3616 6130

Abstract

Background: Diagnosis of Chronic Auto Immune Urticaria (CAIU) is performed by the autologous serum skin test (ASST) as standardized in a consensus panel. Current studies suggest more positive results using the patient's plasma (APST) thus bringing a controversy about the best skin test to define CAIU.

Objective: To compare the frequency of positive ASST and APST in chronic urticaria.

Methods: Cross-sectional study with adult patients of both genders from Professor Edgar Santos university hospital – UFBA. ASST and APST were performed in 60 subjects with CU (Group1) and 26 subjects without CU (17 subjects with persistent allergic rhinitis and nine with autoimmune diseases) (Group 2). The ANA (antinuclear antibody) was performed in all patients with CU.

Results: Within group 1, ASST was positive in 43.3% and APST was positive. Fifteen patients (25%) had only positive APST. No patients with negative APST had positive ASST. The sensitivity of the APST in relation to the ASST (“gold standard”) was 100% and specificity of 55.9%. The ANA was positive in 20% of patients with CU, 33.3% when the APST was positive and 31.6% when ASST was positive

Conclusion: APST is a better diagnostic tool than ASST in the detection of auto reactivity in chronic urticaria.

Urticaria is a symptom resulting from release of vasoactive mediators in skin that is characterized by sudden appearance of wheals and/or angioedema usually associated with itching or burning sensation of variable intensity. The mast cell is the main effector cell involved and histamine the most important mediator. However, the different morphological findings indicating that other mediators, including prostaglandins, leukotrienes, cytokines and chemokines, are also present and contribute the great polymorphism of this symptom.[1] Urticaria can be classified into spontaneous urticaria, physical urticaria and other urticaria types. Spontaneous urticaria is further divided into acute and chronic spontaneous urticaria. In acute urticaria lesions are present for less than six weeks and chronic when it persists beyond this period[2]. The etiology of acute urticaria (AU) is most often identified, while 30 to 50% of patients with chronic urticaria (CU) not have established diagnostic[2].

The hypothesis that serum factors were responsible for the pathogenesis of UC has been discussed in medical literature since the 80s when Leznoff A. et al described the first evidence of autoimmunity in patients with UC[3]. These authors demonstrated the increased presence of thyroid dysfunction and auto antibodies against thyroid in patients with CIU compared with the general population. Currently, patients belonging to this group are classified as suffering from Chronic Autoimmune Urticaria (UCAI)[4]. In 1986 Grattan et al described the first test *in vivo* for diagnostic test called Autologous Serum (TSA)[5]. This test demonstrates the presence of auto-reactive factors in the blood of patients that would be responsible for the symptoms in urticaria. Autoantibodies directed against IgE or its high affinity receptor, FcεR1, effector cells resulted in mast cell degranulation and release of vasoactive mediators with subsequent appearance of wheals and angioedema. Recently, this has been standardized in consensus[6]. However, Asero et al achieved a positive diagnostic UCAI far superior to TSA using plasma rather than serum testing by Autologous Plasma (TPA)[7]. Thus, there is controversy regarding the most appropriate tests for the detection of UCAI, and several studies have attempted to clear this and other questions between these two diagnostic tests.

The present study evaluates the positivity of these two tests in patients with spontaneous chronic urticaria who do not have a defined etiology in comparison with a group of individuals without the skin condition, consisting of patients with allergic rhinitis and autoimmune pathology.

Material and Methods

Patients

This study evaluated patients with chronic urticaria from the department of allergy and immunology at the Hospital Universitário Professor Edgar Santos – UFBA located in Salvador city, Bahia, Brazil.

We selected a total of 86 patients:

- Group 1 – n=60 (69.8%) patients with chronic urticaria without diagnosis
- Group 2 – n=17(19.8%) patients with allergic rhinitis, and nine (10.5%) had autoimmune disease. The comparison group of patients without urticaria.

A single professional has evaluated all patients in this case the researcher.

Moreover, to avoid measurement bias, we used both forearms simultaneously, to thus be able to verify the reproducibility and possible variations in the technique of performing the examinations.

Inclusion Criteria

Patients with Chronic Urticaria:

- a) Individuals over 18 years of both genders;
- b) After the diagnosis of urticaria and symptoms for more than six weeks;
- c) After the diagnosis of allergic rhinitis, according to the Brazilian Consensus on Rhinitis [30];
- d) After the diagnosis of autoimmune disease known.

Exclusion Criteria

- a) Individuals under 18 years;
- b) Use of systemic corticosteroids or immunosuppressive drugs in 30 days or use of antihistamines in the last five days;
- c) Patients with physical urticaria;
- d) Pregnant women;
- e) Individuals who have any condition that does not allow participation in research, or physical disability and / or mental impossible to take the tests;
- f) Individuals with primary immunodeficiency;
- g) Individuals with skin diseases in selected areas of the arms for the tests.

This is a cross-sectional study aimed to evaluate the importance of two diagnostic methods in patients with chronic urticaria. The duration of the study was 01 years starting on 19/10/2009 until 21/10/2010.

The sample size was chosen for convenience in the number of patients consecutive with urticaria who were seen at the outpatient clinic of the Hospital Universitário Professor Edgar Santos.

For comparison we used the percentage of positive tests (APST and ASST), which emphasized the frequencies. We compared the groups by chi-square test of association for qualitative variables, while Student's "t" test was possible to compare groups regarding quantitative variables. The normality test was performed in both groups. Confidence intervals were set at 95% and statistical significance was set at 5%. To include data and construction of tables and charts used the software Microsoft Excel, and SPSS software version 11.0 to use statistical analysis and performance statistical tests.

Autologous serum skin test (ASST)

Performed as the first international consensus ASST, the blood was collected from a peripheral vein, into sterile tube without additives or anticoagulants that stayed on for 30 minutes at ambient temperature and then centrifuged for 10 minutes at 450g. Done cleaning of inner forearm with antiseptic (alcohol 70%) and apply via intradermal injection of 0.05 ml undiluted serum and saline solution (negative control) with a distance between the applications of 3 cm. It was used by the prick histamine 10mg/ml. After 30 minutes, as measured the maximum diameter perpendicular wheal formed in applying the serum, saline solution and histamine. The test was considered positive when there was formation of a wheal of 1.5 mm above the negative control

Autologous plasma skin test (APST)

Test performed as described in the literature by other researchers [7]. The application site and route of injection is similar to the ASST. Therefore, it was apply in conjunction with the serum at the same time. We used sodium citrate as an anticoagulant in sterile tube for collection of venous blood in peripheral veins. After remaining at room temperature for 30 min blood was centrifuge for three minutes at 1250g.

ANA (antinuclear antibody)

Peripheral blood was collected and serum separated for the performance of FAN, searchable by indirect immunofluorescence using HEP-2 cells as substrate. Were considered positive only titers greater than or equal to 1:80. All patients signed an inform consent and the study was approved by Ethical Committee of the Hospital Universitário Professor Edgard Santos

Results

This study selected a population of 86 individuals. Of these, 69.8% (n = 60) are patients diagnosed with chronic urticaria without determined cause (Group 1). There remaining 30.2% (n = 26) had no chronic urticaria, being patients with autoimmune disease or rhinitis (group 2), Table 1. Patients with physical urticaria or hives by intolerance to non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) were not included in the study. In group 1, 71.7% are female, and in group 2, this percentage was 61.5%, no statistically significant differences (p = 0.353). Patients with UC have on average 41.98 years, while for the other group the average is 42.23 years, also without statistically significant differences (p = 0.941), Table 1 and Chart 1. The average time of onset of UC was 7.03 years. The frequency of angioedema in this group was 75% (n= 45).

Positivity of autologous serum skin test (ASST) and autologous plasma skin test (APST)

It is observed in table 2 that patients with chronic urticaria had the frequency higher for the APST when compared to the ASST. 68.3% of patients with UC have a positive autologous plasma skin test, whereas only 43.3% of these individuals have a positive autologous serum skin test. Analyzing the group of patients without chronic urticaria (group 2), there is a low frequency to both tests (11.5% and 19.2% ASST and APST, respectively). Still APST represents a slight increase compared to the ASST, as shown in Figure 2.

Evaluated 15 patients who only had positive autologous plasma skin test, we find the following:

1. Frequency of female gender in 60%(n = 9/15);
2. Average time of illness estimated at 7.7years;
3. Account for 17.4% of all tests;
4. Account for 25% of patients with chronic urticaria.

There were no patients with positive autologous serum skin test and who presented negative autologous plasma skin test. The analysis of patients with NEGATIVE autologous plasma skin test, find the following data:

1. The frequency of patients with negative tests was 31.6% (n = 19);
2. The frequency of females is 57.9%;
3. The average time of illness was 5.9 years;
4. Presence of angioedema was 68.4%.

When evaluating the sensitivity and specificity of the tests verified the sensitivity of APST in 100.0 (95% CI, 87.1%, 100.0%), specificity accounted for 55.9% (95% CI-39, 4%, 71.1%) and the Kappa test showed significant differences ($p = 0.000$), Table 3. In individuals with chronic urticaria with positive in both tests (ASST or APST), there was a statistically significant difference between the diameters of the wheals. While the diameter of the papule showed an average 4.8 mm (95% CI, 4.4, 5.3) in patients with positive ASST, this average was 6.8 mm (95% CI, 6.4, 7.1) for patients with positive APST, Table 4.

ANA (antinuclear antibody) was used as marked self-reactivity and investigated in patients with chronic urticaria. It was observed that in patients with chronic urticaria and antinuclear antibody (ANA) positive, the frequency of positive APST was 33.3% and 31.6% of the ASST, Chart 3. The predominant pattern of ANA was speckled nuclear and titles between 1:80 and 1:640. The frequency of ANA positivity was 21% in patients with UC.

Discussion

The etiological diagnosis and therapeutic management of patients with CU still constitute a great challenge for health professionals. Studies started in the 80s indicate the involvement of autoimmunity in the immune process that leads to onset and recurrence of the urticaria [3]. These studies showed the participation of the antibody (IgG1 and IgG3) in part of the management of chronic urticaria patients and those classified as having chronic autoimmune urticaria. Recently it was established that the main criterion for this diagnosis is the presence of autologous serum test positive [6]. However, findings demonstrating a greater number of positive test autologous plasma at UC have raised questions if the ASST is the best tool for the diagnosis of UCAI[7-9].

In this study, we evaluated 86 individuals from the Department of Allergy and immunology at the Hospital Universitário Professor Edgar Santos - UFBA, from October 2009 to October 2010, to verify the performance of two tests used for diagnosis of autoimmune chronic urticaria. Two groups of patients submitted to autologous serum skin test (ASST) and autologous plasma skin test (APST), concomitantly, being subdivided into a group of 60 individuals with UC without etiological diagnosis (group 1) and the other for the comparison with 26 subjects without urticaria (group 2) of patients with allergic or autoimmune disease. Despite the difference in the number of patients allocated to each group, statistical analysis revealed populations with homogeneous characteristics as the analyzed variables of age and sex, no significant differences between them. These results become favorable in order to allow comparison of these two groups. The frequency of females in patients with UC was estimated at 71.7%, being consistent with published data that show a

prevalence of around 70 to 80% in women [10, 11]. Most studies show an onset twice more frequent for women than for men in urticaria[11]. The average age of the population studied was 41.98 years, the mean disease of 7.03 years and angioedema was reported by 75% of patients in group 1. There are no papers in Brazil regarding the demographic profile of similar patients. Recent studies of the international literature show that UC continues for one year by 50 to 71% and 5 to 10 years in 25 to 56%[12]. The presence of angioedema is regarded as a factor in the severity of UC and reported in 25-40% of individuals in most studies[13]. These patients usually require more specific care and therapeutic manipulation of more specialized. When we evaluate the frequency of positive autologous serum skin test and the autologous plasma skin test in patients with chronic urticaria, we found 68.3% with positive APST, while the percentage of positive ASST was at 43.3%. These results demonstrate a clear superiority of the APST when compared to the ASST in group 1 of our sample. In addition, a total of 15 individuals showed only positive APST. None of the patients with negative APST had positive ASST. Asero et al showed a positive rate of APST from 86% to 53% of the ASST[7]. However, another multicenter study involving 200 patients (146 women and 54 men) did not find similar data showing a positivity of ASST 37.5% versus only 43% of APST[14]. According to the current consensus of autologous serum skin test, the frequency of chronic autoimmune urticaria[6], in our sample, was 43.3% of all chronic urticaria patients without identified etiologic factors. The data found in our population does not differ from most studies published suggesting that possible variations in prevalence are not due to genetic differences of the individuals tested. In our study, all patients with chronic urticaria were tested only when symptoms were controlled. Some studies indicate that variations in the time of performing autologous serum skin test can influence the results and tend to increase or decrease the value of this diagnostic test[15]. Therefore, some researchers suggest that the blood collection is performed during of disease exacerbation in order to increase the sensitivity and specificity of the tests[15] so as patients with positive ASST would show a more severe urticaria than patients with negative ASST. As no difference was found between the frequencies of positive tests with the data published in literature, probably the intensity of the symptoms of urticaria not influence in the results of our sample. We analyzed the reactivity of skin tests by measuring of the wheal size and compare the ASST with the APST. Subtracting the value in millimeters, found in the wheal formed after applying of the serum or plasma, of the value the wheal in the negative control, we find the corresponding measure to that skin reactivity. It was observed that the diameter of the papule showed an average of 4.8 mm (95% CI-4.4, 5.3) in patients with positive ASST and 6.8 mm (95%CI-6.4, 7.1) in patients with positive APST. Since there is no intersection

between confidence intervals, we infer a statistically significant difference among the diameters of the wheals contributing to demonstrate that the APST more reliable in the diagnosis of UCAI the ASST. To evaluate the sensitivity and specificity of the APST and ASST found a value of 100% sensitivity to APST with a specificity of 55.9% because all patients exhibiting a positive result of ASST, APST also present positive. A study comparing the two tests showed a positivity of the APST in relation to the ASST of 98% with a positive frequency of APST from 70% in patients with ASST negative[7]. Another cohort study comparing ASST in patients with CIU and seasonal allergic rhinitis demonstrated a sensitivity and specificity of the ASST, respectively, 53 and 28% [16] could not find any other study comparing the two tests, with evaluation of the above mentioned parameters.

Hep-2 ANA (antinuclear antibody) was investigated in all patients of the group 1 having a percentage of 20% (n = 12) of subjects with positivity for this marker. Comparing the frequency of positive ASST and APST with the ANA, we found 33.3% and 31.6% positivity, respectively. It was found ANA positivity in any patient with chronic urticaria with ASST and APST negative. The ANA is a set of antibodies against various cell structures, which could indicate several different autoimmune diseases. We also know that 10% to 15% of the healthy population may have positive ANA in low values without any health problems. Thus, we found a higher frequency of ANA positivity in patients with UC than in healthy population and that difference is even greater when we consider the patients who tested positive for serum or plasma. Krupa Shankar et al describe a lower frequency of the ANA positivity in patients with UC, with a percentage of only 7.7% in individuals with positive ASST[17]. Another study using the ANA as a marker of self-reactivity showed a percentage of only 2% positivity in patients with UC and ASST positive and 23.4% in the patients with UC[18]. However, this research was performed in children aged 4 to 15 years did not show any similarity to the selected population in the present study.

In patients without urticaria found a low prevalence of positive tests, 11.5% and 19.2% to the ASST and APST respectively. In a cohort of 116 individuals found a frequency of ASST positive 53.1% in patients with chronic idiopathic urticaria, 29.8% in patients with seasonal allergic rhinitis and 40.5% in healthy controls[16]. Rhinitis patients were also tested in our sample and exhibit a percentage of 22.2% ASST positive although our sample size was smaller than the study mentioned. There are two important aspects that deserve comment regarding the comparison of these two groups. First, we could have a greater number of individuals, at least the same number of patients with urticaria. Another aspect is the absence of asymptomatic individuals without allergic diseases and also a greater number of autoimmune diseases, particularly autoimmune thyroid diseases.

Conclusion

The autologous plasma skin test is more frequent than autologous serum skin test in the patients with chronic urticaria with no known etiologic factors;

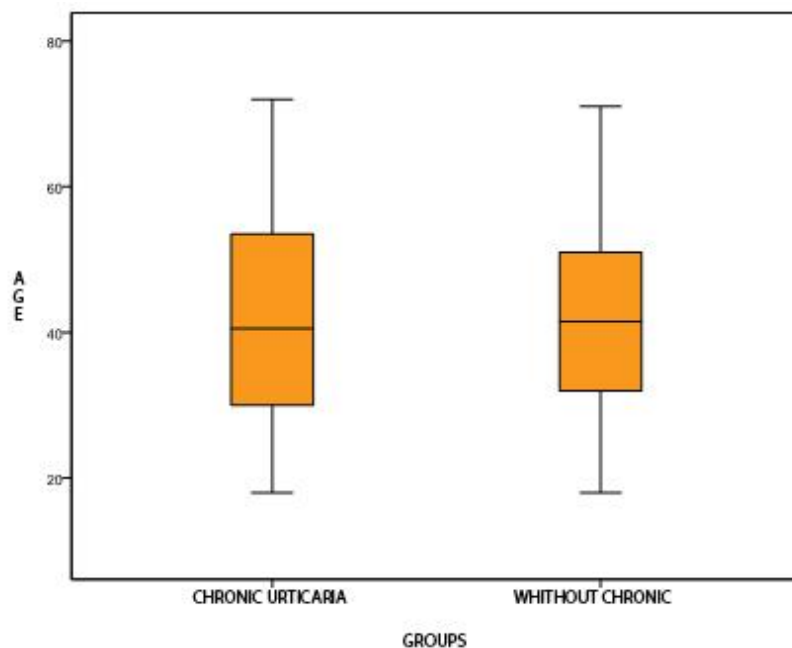
Table1: Characteristics of patients with and without chronic urticaria. Ambulatory of allergy and immunology at HUPES** - UFBA, Salvador-Ba, 2009- 2010

Characteristics	Grup1 (Chronic Urticaria) (n=60; 69,8%)	Grup2 (Without Chronic Urticaria) (n=26;30,2%)	General (n=86)	p-value
Age - years (average; SD)	41,98 (14,54)	42,23 (13,74)	42,06 (14,22)	0,941
Gender (% Female)	71,7	61,5	68,6	0,353
Illness duration - years (average; SD)	7,03 (6,40)	--	--	--

* T test comparison between groups for age, Chi-square test of association between groups.

** University Hospital Professor Edgar Santos - UFBA, Salvador-Ba

Graph 1: Box plot of the age profile of the patient groups with and without chronic urticaria. Ambulatory of allergy and immunology at HUPES* - UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010



* University Hospital Professor Edgar Santos - UFBA, Salvador-Ba

Table 2: Frequency of Autologous Serum Sink Test (ASST) and Autologous Plasma Skin Test (APST) in patients with and without chronic urticaria. Ambulatory of allergy and immunology at HUPES** - UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010

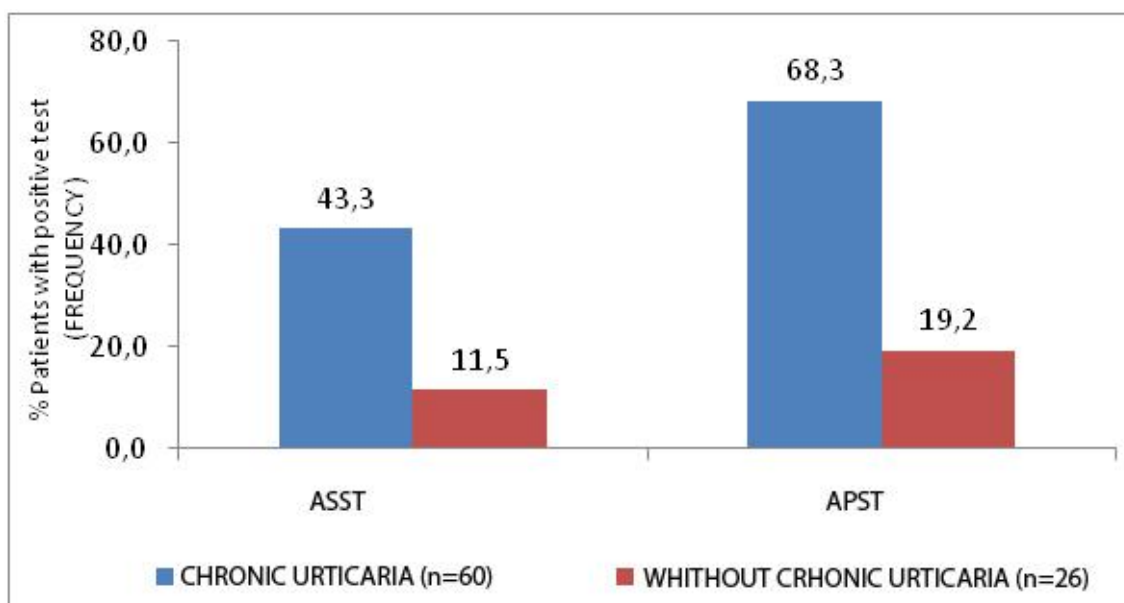
GROUP	ASST		APST	
	n	%*	n	%*
CHRONIC URTICARIA (n=60)	26	43,3	41	68,3
WITHOUT CHRONIC URTICARIA (n=26)	3	11,5	5	19,2

* Frequency.

** University Hospital Professor Edgar Santos - UFBA, Salvador-Ba

Graph 2: Frequency of Autologous Serum Sink Test (ASST) and Autologous Plasma Skin Test (APST) in patients with and without chronic urticaria.

Ambulatory of allergy and immunology at HUPES ** - UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010



** University Hospital Professor Edgar Santos - UFBA, Salvador-Ba

Table 3: Evaluation of tests in chronic urticaria patients according to type of test (ASST or APST). Ambulatory of allergy and immunology at HUPES - UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010

Autologous Plasma Skin Test (APST)	Autologous Serum Sink Test – ASST (reference)				p-value*
	Positivo		Negativo		
	n	%	n	%	
Positive	26	100,0	15	44,1	0,0000
Negative	0	0,0	19	55,9	

* P-value of the Kappa test, with the asymptotic results.

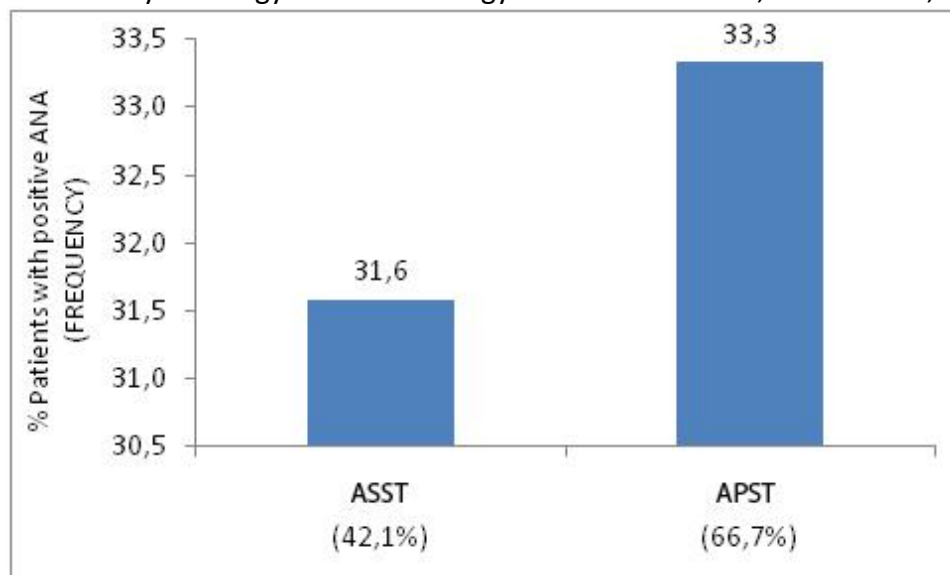
Table 4: Characteristics of patients with chronic urticaria the second kind of test (ASST or APST). Ambulatory of allergy and immunology at HUPES* - UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010

Characteristics	CHRONIC URTICARIA (n = 60)	
	ASST POSITIVE (n=26/60; 43,3%)	APST POSITIVE (n=41;68,3%)
Age - years (average; IC-95%)	40,8 (35,3; 46,3)	41,0 (36,5; 45,5)
Gender (% Female)	73,1	78,0
Papula Diameter (mm) (average; IC-95%)	4,8 (4,4; 5,3)	6,8 (6,4; 7,1)
Illness duration - years (average; IC-95%)	6,5 (3,6; 9,4)	6,9 (4,8; 9,1)

Note: Autologous Serum Sink Test (ASST) and Autologous Plasma Skin Test (APST)

Graph 3: Frequency of ANA (antinuclear antibody) in patients with chronic urticaria (n = 57) according to the kind of test (ASST or APST).

Ambulatory of allergy and immunology at HUPES* - UFBA, Salvador-Ba, 2009-2010



* University Hospital Professor Edgar Santos - UFBA, Salvador-Ba

Note: Autologous Serum Sink Test (ASST) and Autologous Plasma Skin Test (APST)

1. Lindsey A. Brodell, B.L.A.B., MD*; and Sarbjit S. Saini, MD†, *Pathophysiology of chronic urticaria*. Ann Allergy Asthma Immunol., 2008. **VOLUME 100**: p. 291-298.
2. Zuberbier, T., et al., *EAACI/GA(2)LEN/EDF/WAO guideline: definition, classification and diagnosis of urticaria*. Allergy, 2009. **64**(10): p. 1417-26.
3. Leznoff, A., et al., *Association of chronic urticaria and angioedema with thyroid autoimmunity*. Arch Dermatol, 1983. **119**(8): p. 636-40.
4. Kikuchi, Y. and A.P. Kaplan, *Mechanisms of autoimmune activation of basophils in chronic urticaria*. J Allergy Clin Immunol, 2001. **107**(6): p. 1056-62.
5. Grattan, C.E., et al., *A serological mediator in chronic idiopathic urticaria--a clinical, immunological and histological evaluation*. Br J Dermatol, 1986. **114**(5): p. 583-90.
6. Konstantinou, G.N., et al., *EAACI/GA(2)LEN task force consensus report: the autologous serum skin test in urticaria*. Allergy, 2009. **64**(9): p. 1256-68.
7. Asero, R., et al., *Plasma of patients with chronic urticaria shows signs of thrombin generation, and its intradermal injection causes wheal-and-flare reactions much more frequently than autologous serum*. J Allergy Clin Immunol, 2006. **117**(5): p. 1113-7.
8. Asero, R., et al., *Chronic urticaria: a disease at a crossroad between autoimmunity and coagulation*. Autoimmun Rev, 2007. **7**(1): p. 71-6.
9. Asero, R., et al., *Activation of the tissue factor pathway of blood coagulation in patients with chronic urticaria*. J Allergy Clin Immunol, 2007. **119**(3): p. 705-10.
10. Nettis, E., et al., *Clinical and aetiological aspects in urticaria and angio-oedema*. Br J Dermatol, 2003. **148**(3): p. 501-6.
11. Maurer, M., et al., *Unmet clinical needs in chronic spontaneous urticaria. A GA(2) LEN task force report(1)*. Allergy.
12. Toubi, E., et al., *Clinical and laboratory parameters in predicting chronic urticaria duration: a prospective study of 139 patients*. Allergy, 2004. **59**(8): p. 869-73.
13. Zweiman, B.M., *Some Current clinical aspects of chronic urticaria*. University of Pennsylvania School of Medicine, 2006.
14. Metz, M., et al., *Frequency and clinical implications of skin autoreactivity to serum versus plasma in patients with chronic urticaria*. J Allergy Clin Immunol, 2009. **123**(3): p. 705-6.
15. Sabroe, R.A., et al., *The autologous serum skin test: a screening test for autoantibodies in chronic idiopathic urticaria*. Br J Dermatol, 1999. **140**(3): p. 446-52.
16. Guttman-Yassky, E., et al., *The autologous serum skin test in a cohort of chronic idiopathic urticaria patients compared to respiratory allergy patients and healthy individuals*. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2007. **21**(1): p. 35-9.
17. Krupa Shankar, D.S., M. Ramnane, and E.A. Rajouria, *Etiological approach to chronic urticaria*. Indian J Dermatol. **55**(1): p. 33-8.
18. Jirapongsananuruk, O., et al., *Identification of the etiologies of chronic urticaria in children: a prospective study of 94 patients*. Pediatr Allergy Immunol. **21**(3): p. 508-14.