

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

USO DA TERMOGRAFIA PARA AVALIAÇÃO DA REAÇÃO CUTÂNEA INDUZIDA PELA  
HISTAMINA EM CÃES: ESTUDO EXPLORATÓRIO.

Juliana de Oliveira Dhein

Porto Alegre

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

USO DA TERMOGRAFIA PARA AVALIAÇÃO DA REAÇÃO CUTÂNEA INDUZIDA PELA  
HISTAMINA EM CÃES: ESTUDO EXPLORATÓRIO.

Autor: Juliana de Oliveira Dhein

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Veterinárias –  
UFRGS, como requisito parcial da obtenção  
do título de Mestre

Orientador: Daniel Guimarães Gerardi

Coorientadora: Anelise Bonilla Trindade  
Gerardi

Porto Alegre

2020

**O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001**

**CIP - Catalogação na Publicação**

Dhein, Juliana de Oliveira  
USO DA TERMOGRAFIA PARA AVALIAÇÃO DA REAÇÃO CUTÂNEA  
INDUZIDA PELA HISTAMINA EM CÃES: ESTUDO EXPLORATÓRIO.  
/ Juliana de Oliveira Dhein. -- 2020.  
51 f.  
Orientador: Daniel Guimarães Gerardi.

Coorientadora: Anelise Bonilla Trindade Gerardi.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Termografia. 2. Testes alérgicos cutâneos. 3. Histamina. 4. Dermatite atópica. 5. Imunoterapia. I. Guimarães Gerardi, Daniel, orient. II. Bonilla Trindade Gerardi, Anelise, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Juliana de Oliveira Dhein

USO DA TERMOGRAFIA PARA AVALIAÇÃO DA REAÇÃO CUTÂNEA INDUZIDA PELA  
HISTAMINA EM CÃES: ESTUDO EXPLORATÓRIO.

Aprovada em 31 de março de 2020

APROVADA POR:

---

Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi  
Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr. Gustavo Zimmermann Winter  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Marcelo Meller Allievi  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Victor do Espírito Santo Cunha  
Membro da Comissão

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que trilharam esse caminho comigo, que se doaram de alguma forma para que isso se concretizasse.

Obrigada pai e Mari, vocês são meus maiores e melhores incentivadores e a minha maior fortaleza. Mãe, você sempre é a minha calma no meio do caos, quem me lembra de quem eu sou quando eu mesma já quase esqueci.

Obrigada, Thiago, pelo apoio, paciência e parceria ilimitados nessa jornada.

Aos meus amigos que sempre serviram de alicerce para que eu continuasse sã na busca dos meus objetivos, em especial Letícia Baretta, Letícia Moreira e Maiara.

Obrigada aos meus mestres Daniel e Anelise pela oportunidade de aprendizado e convívio ao longo destes anos. Daniel, obrigada por ver potencial em mim e me incentivar a persuadir este caminho.

Às minhas fieis escudeiras, Ana e Le, obrigada pelo bom humor incansável e dedicação.

À FDA-Allergenic, obrigada pela disponibilização das histaminas necessárias para a realização deste estudo.

Por último, mas não menos importante, obrigada a todos os cães desse estudo e seus queridos tutores.

## RESUMO

A dermatite atópica canina é uma doença crônica multifatorial e de diagnóstico clínico. A imunoterapia é uma das modalidades terapêuticas disponíveis para o tratamento em longo prazo. Os testes alérgicos cutâneos são testes auxiliares que antecedem o início da imunoterapia e servem para seleção dos alérgenos a serem incluídos. O resultado destes testes costuma ser obtido por meio da mensuração do diâmetro da pápula formada e/ou de forma subjetiva, avaliando o grau de eritema, turgidez em uma escala de 0-4. Como parte dos testes é realizada a inoculação de histamina, utilizada como controle positivo e de solução salina, utilizada como controle negativo. Este estudo teve como objetivo verificar a viabilidade do uso da imagem termográfica para a avaliação da reação cutânea provocada pela aplicação transdérmica e percutânea de histamina em cães. Os cães selecionados tiveram a aplicação de histamina em diferentes concentrações e solução salina por via transdérmica e percutânea. Estes foram fotografados antes da aplicação da histamina e após 15 minutos, utilizando câmera de imagem infravermelha em ambiente climatizado. Ao final dos 15 minutos, foi realizada leitura com paquímetro e a avaliação subjetiva. Observou-se que a câmera apresentou boa sensibilidade, porém as avaliações realizadas através da imagem termográfica não se correlacionaram com as avaliações objetiva e subjetiva.

**Palavras-chaves:** Dermatite atópica, imunoterapia, termografia, testes alérgicos cutâneos,

## ABSTRACT

Canine atopic dermatitis is a multifactorial and chronic disease that is clinically diagnosed. Immunotherapy is one of the therapies available for long-term treatment. Skin tests precede the start of immunotherapy and help to define which allergens should be included at the immunotherapy. The evaluation of these tests usually is done by measuring the diameter of the formed papule (objective way). Or evaluating the erythema and turgidity on a scale of 0-4 (subjective way). As part of these tests is performed a saline solution and histamine inoculation, it is used as a negative and positive control. This study aims to verify the feasibility of using thermographic image to assess the skin reaction generated by the transdermal and percutaneous application of histamine in dogs. The selected dogs had the application, intradermally and percutaneously, of three different histamine concentrations and saline solution. These dogs were photographed, using the infrared imaging camera, before the application of histamine and after 15 minutes.. The pictures were taken in an air-conditioned environment. At the end of 15 minutes, objective and subjective reading were performed. We observed that the camera had a good sensitivity, but the evaluations did not correlate with objective and subjective evaluations.

## LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1-** A) Paciente 15 minutos após administração das histaminas B) Análise da área de impressão térmica utilizando o programa Flir ResearchIR®, circulado em cores, controle negativo h1, h2 e h3 do teste intradérmico (primeira fileira). Abaixo controle negativo, h1, h2 e h3 do prick test e sua duplicata (fileira 2 e fileira 3, respectivamente). . . . . . 36
- Figura 2-** Análise da área de impressão térmica utilizando o programa Flir ResearchIR® delimitando três pontos de aplicação. Em verde h2 do teste intradérmico em azul h3 do prick test, em vermelho h3 do prick test (duplicata).. . . . . . 36
- Figura 3-** Comparação das medidas da AIT com as medidas obtidas pelo método objetivo, por concentração de histamina (h1,h2,h3) e controle negativo na via intradérmica. As colunas representam a média e as barras de erro representam o erro padrão.. . . . . . 26
- Figura 4-** Comparação das medidas da AIT com as medidas obtidas pelo método objetivo por concentração de histamina (h1,h2,h3) e controle negativo na via percutânea. As colunas representam a média e as barras de erro representam o erro padrão..... 27
- Figura 5-** Comparação da temperatura da pele prévia às aplicações com a temperatura nas diferentes concentrações de histamina e no controle negativo, na via intradérmica. As colunas representam a média e as barras de erro representam o erro padrão..... 28
- Figura 6-** Comparação da temperatura da pele prévia às aplicações com a temperatura nas diferentes concentrações de histamina e no controle negativo, na via percutânea. As colunas representam a média e as barras de erro representam o erro padrão..... 29

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Comparação dos resultados objetivos (cm <sup>2</sup> ) e subjetivos entre as concentrações e vias de aplicação.....	25
<b>Tabela 2-</b> Comparação do número de reações detectadas pelas imagens termográficas entre as concentrações e vias de aplicação .....	25
<b>Tabela 3-</b> Comparação dos valores de AIT (cm <sup>2</sup> ) entre as concentrações de histamina e controle negativo, por tipo de via de aplicação.....	26
<b>Tabela 4-</b> Comparação da temperatura (°C) da pele com a temperatura do controle negativo e das três concentrações de histamina por tipo de via de administração.....	27
<b>Tabela 5-</b> Comparação das diferenças da temperatura (deltas) entre os locais de aplicação do controle negativo e das concentrações de histamina pelas vias intradérmica e percutânea.....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS

AIT	Área de impressão térmica
aC	Antes de cristo
cm	Centímetro
CEUA-UFRGS	Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
DAC	Dermatite atópica canina
DP	Desvio padrão
DTH1	Delta h1
DTH2	Delta h2
DTH3	Delta h3
HCV-UFRGS	Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
IgE	Imunoglobulina E
Kg	Quilogramas
mg	Miligramas
m/s	Metros por segundo
mL	Mililitro
TID	Teste intradérmico
PT	<i>Prick test</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Por cento
°C	Graus Celsius

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Termografia	13
2.2 Dermatite atópica e testes cutâneos	16
3. OBJETIVO GERAL	19
3.1 Objetivos específicos	19
4. MANUSCRITO DO ARTIGO A SER SUBMETIDO	20
5. CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS	38
APÊNDICE	45

## 1. INTRODUÇÃO

A termografia é uma técnica de diagnóstico por imagem não invasiva que registra padrões térmicos cutâneos gerados pela emissão infravermelha do calor corporal (MARINO e LOUGHIN, 2010). Vem sendo empregada na medicina veterinária e diversas áreas têm sido avaliadas através desta com sucesso (HARPER, 2000). Estudos em cães utilizaram a termografia na ortopedia (LOUGHIN e MARINO, 2007; INFERNUSO et al., 2010; MARINO e LOUGHIN, 2010), oncologia (REIS et al., 2010; MELO, 2013), fisiologia do exercício (RIZZO et al., 2017), comportamento (TRAVAIN et al., 2015 ), entre outros.

A imunoterapia alérgeno-específica é uma modalidade terapêutica alternativa considerada segura e eficaz para cães com dermatite atópica, uma doença pruriginosa que não tem cura, porém é manejável por meio de tratamento multimodal. Entre as terapias rotineiramente instituídas estão a utilização de soluções hidratantes ou emolientes para reconstituição da barreira cutânea, fármacos e loções para controle de infecções secundárias e fármacos antipruriginosos e antiinflamatórios para controle do prurido. No entanto, estes últimos podem apresentar efeitos adversos indesejados quando utilizados a longo prazo (OLIVRY et al., 2015; MILLER et al., 2013).

A imunoterapia é o tratamento que mais se aproxima da cura, uma vez que modula o sistema imunológico do paciente para que o mesmo não reaja exacerbadamente aos alérgenos que desencadeiam o prurido e conseqüentemente lesões cutâneas (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; MUELLER, 2019). Os testes cutâneos, como o teste intradérmico (TID) e o “*prick test*” (PT) consistem na inoculação de alérgenos na pele e são realizados previamente ao início da imunoterapia com o intuito de identificar a quais alérgenos o paciente é sensível, visando o maior sucesso da imunoterapia (OLIVRY; SARIDOMICHELAKIS, 2013; CARNETT e PLANT, 2018).

A aplicação de histamina é utilizada como controle positivo dos testes TID e PT, uma vez que sempre é esperada uma reação cutânea com sua aplicação. Isto é, a histamina provoca uma pápula que serve como comparativo para avaliação das reações cutâneas formadas pelos alérgenos testados. Já a solução salina é utilizada como controle negativo, uma vez que não deve haver nenhuma reação cutânea com sua inoculação (HENSEL et al., 2015). Os testes podem ser lidos de forma subjetiva, se há reação ou não e o grau da mesma, ou ainda de forma objetiva, através da mensuração

das reações cutâneas com paquímetro. Em ambos métodos a leitura pode variar dependendo do avaliador, uma vez que as reações não são uniformes (SCOTT et al., 2001; LAMMINEN E VOPIO, 2008).

Embora os testes cutâneos e a termografia já sejam utilizados na medicina veterinária, ainda não foram realizados estudos envolvendo testes cutâneos e termografia. O presente estudo tem como objetivo utilizar a termografia para avaliar a reação cutânea gerada após a inoculação de histamina por via transdérmica e percutânea e assim verificar se este é um método viável para avaliação de reações cutâneas em cães.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Termografia**

A temperatura corporal tem sido utilizada no diagnóstico de enfermidades desde 400 aC (TAN et al., 2009). Na época de Hipócrates, através do uso da lama molhada e observação de sua rápida secagem em uma superfície tumoral, os médicos já haviam percebido a importância da elevação da temperatura corporal (RING, 2006).

Em meados dos anos 60, pesquisas militares sobre monitoramento infravermelho de tropas noturnas deram origem a termografia. A percepção de que mudanças de temperatura são um indicador de disfunção corporal, teve sua primeira utilização prática realizada em 1957, por R. Lawson que concluiu que a temperatura da pele na superfície de um tumor de mama era maior do que no restante do corpo. A partir disso, esta técnica despertou o interesse da medicina, principalmente por se tratar de um método diagnóstico não invasivo (JIANG et al., 2005).

Qualquer objeto, quando tem sua temperatura acima de zero absoluto, emite uma radiação eletromagnética, chamada radiação térmica. A quantidade de ondas eletromagnéticas emitidas de uma superfície é chamada radiação espectral (TAN et al., 2009). Sendo este tipo de energia invisível aos olhos, a câmera termográfica tem como função identificar a energia térmica emitida através da superfície desse objeto, transformando-a em uma imagem visível ao olho humano e mostrando ao usuário informações sobre as temperaturas por meio de cores visíveis (ROBERTO e SOUZA, 2014).

A termometria por imagem infravermelha é considerada o meio mais eficiente para estudo da distribuição de temperatura cutânea, é capaz de avaliar a microcirculação da pele e indiretamente o sistema nervoso autônomo simpático estritamente relacionado com a pele. Por meio das variações de temperatura causadas por maior ou menor irrigação de um território microvascular, é possível distinguir décimos de grau centígrado por milímetros quadrados de área de tecido. Essa variação de temperatura não pode ser percebida com o dorso da mão, uma vez que esta técnica semiológica só consegue captar diferenças superiores a 2 °C de temperatura (BRIOSCHI et al., 2003). É benéfica perante outros meios diagnósticos, por não necessitar de sedação além de não expor o paciente à radiação (MARINO e LOUGHIN, 2010). Por se tratar de um exame

complementar, deve ser associada à um exame físico completo, anamnese detalhada e outros estudos diagnósticos quando necessários (BRIOSCHI, 2003).

Nas últimas cinco décadas a medicina contou com o uso cada vez mais frequente das câmeras de imagem térmica em humanos. A termografia através do infravermelho tem sido usada com sucesso no diagnóstico de câncer de mama (KENNEDY et al., 2009; NG, 2009, GAUTHERIE, 1983), neuropatia diabética (ARMSTRONG et al., 1997; JIANG et al., 2002; BAGAVATHIAPPAN et al., 2010) e distúrbios periféricos, como gangrena isquêmica (BAGAVATHIAPPAN et al., 2008). Também já foi utilizada para detectar problemas associados à ginecologia (GERSHON e HABERMAN, 1965; MENCZER e ESKIN, 1969; NG et al., 2009), cardiologia (MADJID et al., 2006), fisiologia neonatal (KNOBEL et al., 2011), doenças reumáticas (RING et al., 1974; WU et al., 2009; SCHIAVENATO e THIELE, 2012), dermatologia (HASTINGS, et al., 1968; MASON, et al., 1981; MERCER, et al., 2008; SCHNELL e ZASPEL, 2008; ROKITA et al., 2009; FLORES et al., 2011), entre outras.

Os avanços na instrumentação da termografia infravermelha são em grande parte responsáveis pelo uso mais frequente da tecnologia. Câmeras de 30 quadros / segundo de velocidade, resolução térmica no nível de 0,1 °C e resolução de 2140x320 pixels estão com o custo cada vez mais acessível e são bem funcionais para a prática rotineira. Já para as pesquisas, câmeras de resolução térmica mesmo no nível de 0,01 °C e com alta resolução temporal e espacial (mais de 1000 quadros / segundo e 1 milhão de pixels) já estão disponíveis e são mais recomendadas. Associado a isto, os avanços na tecnologia da informática, trazem melhorias ao processamento de dados e visualização das imagens (NOWAKOWSKI, 2006).

Na medicina veterinária, a termografia vem ganhando confiança entre os profissionais e vem sendo utilizada, quase há tanto tempo quanto na medicina (HARPER, 2000). Com a evolução dos meios diagnósticos e a constante preocupação com o bem-estar animal, destacam-se as técnicas não invasivas, como esta (ROBERTO e SOUZA, 2014), que pode ser usada como auxiliar no diagnóstico e ou prognóstico de: claudicação, discopatia, ruptura ou estriamento muscular, tendinites, fraturas, neurite, periostite, artrite, laminite, miosite, ruptura ligamentar, manejo de feridas, entre outros (HARPER, 2000). Entre os estudos já realizados destaca-se o campo da produção animal (KASTELIC et al., 1996; NOGUEIRA et al., 2013; ROBERTO et al., 2014) e

fisiologia do exercício em equinos (ÇETINKAYA e DEMIRUTKU, 2012; FIGUEIREDO et al., 2012).

Já em cães, as pesquisas são principalmente acerca de ortopedia (LOUGHIN e MARINO, 2007; INFERNUSO et al., 2010; MARINO e LOUGHIN, 2010) e oncologia (REIS et al., 2010; MELO, 2013). Seu uso na ortopedia baseia-se no fato de regiões inflamadas serem clinicamente associadas ao calor. Capsulite e sinovite das articulações inflamadas tem um padrão térmico visível, uma área de calor sob a articulação, estes “pontos de calor” podem ser detectados pela termografia até duas semanas antes de qualquer inchaço ou dor (EDDY et al., 2001). Na oncologia, a angiogênese e o aumento do suprimento sanguíneo na região tumoral geram temperatura aumentada no tecido tumoral se comparada a outros locais, identificar essas zonas de calor pode ser muito útil no diagnóstico de malignidade (ARORA et al., 2008).

Como a termografia se trata de um método diagnóstico, existe uma padronização mínima que deve ser obedecida. O local de execução da técnica deve se manter em 22 °C e a variação térmica do ambiente não deve ultrapassar 1°C, em 20 minutos. Deve-se evitar a presença de corrente de ar sob o paciente, e no máximo pode ter velocidade maior que 0,2m/s. É preferível que não haja janelas no local, mas caso as tenha, devem estar devidamente equipadas com telas ou blindagens externas para evitar luz solar. O paciente deve ser afastado de aparelhos eletrônicos que possam gerar calor ou outras fontes que possam alterar a temperatura do mesmo. Na sala deve conter também: termômetro digital, ar condicionado, e apenas luz fria (BRIOSCHI et al., 2003).

Ainda há uma certa escassez de padrões pré-estabelecidos para a realização do exame termográfico na medicina veterinária, em relação ao paciente. Brioschi et al. (2003) afirma que em humanos, o indivíduo deve evitar banhos, agentes tópicos, cremes, talcos, exercícios vigorosos ou fisioterapia até duas horas antes do exame. É preferível que seja feito um jejum de três horas e não haja a ingestão de substâncias estimulantes, como cafeína, ou uso de descongestionantes nasais e é solicitado que o paciente retire toda a roupa que cobre a área de interesse, sendo necessário um período mínimo de 15 minutos para adaptação à temperatura da sala.

Uma vez que em animais, a área de interesse geralmente está coberta por pelos, há uma ambiguidade sobre a realização ou não de tricotomia, uma vez que o pelo pode interferir na visualização, mas por outro lado, a tricotomia pode alterar o resultado, por

causar um aumento na temperatura da pele (MELO, 2013). Loughin e Marino (2007), realizaram um estudo no intuito de padronizar esta prática. Concluíram que a presença de pelos pode ser prejudicial, uma vez que pode gerar uma diminuição na temperatura local, e observaram que há uma estabilização do padrão térmico a partir de 15 minutos após a tricotomia.

## **2.2 Dermatite atópica e testes cutâneos**

O termo dermatite atópica canina é utilizado na medicina veterinária para descrever uma doença pruriginosa e inflamatória, mais comumente causada por uma resposta de anticorpos IgE contra alérgenos ambientais (HALLIWELL, 2006). É uma doença de caráter crônico, comum em cães e que ainda não tem sua etiologia completamente elucidada (OLIVRY et al., 2010). Considerada multifatorial, associa fatores ambientais e genéticos, decorrentes de falha na barreira cutânea e resposta imunológica (MARSELLA et al., 2011).

A imunoterapia é uma das modalidades terapêuticas da doença, é o único tratamento atual para alergia capaz de modificar, ou ao menos reverter em parte, a patogênese da doença. Esta modificação ocorre com efeitos adversos mínimos e com o potencial de uma eficácia de longo prazo (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; MUELLER, 2019).

O teste intradérmico, *prick test* e teste sorológico são utilizados para determinar a sensibilização mediada por IgE em cães com dermatite atópica, com o intuito de identificar alérgenos não alimentares irritativos (LICCARDI et al., 2006; OLIVRY; SARIDOMICHELAKIS, 2013). Um teste cutâneo ou sérico positivo indica sensibilização contra um antígeno e conseqüente produção de IgE, porém esta sensibilidade pode não ser clinicamente relevante. Portanto, tais testes não são adequados para diagnóstico de alergia e sim para formulação de imunoterapia específica para cães já diagnosticados com DAC com base no histórico, exame clínico e descarte de diagnósticos diferenciais (MUELLER, 2019).

O teste intradérmico vem sendo utilizado por décadas na medicina veterinária (DeBOER e HILLIER, 2001). A região de escolha para aplicação deste teste é a lateral do tórax. Após tricotomia são aplicadas injeções, com o mínimo de 2 centímetros entre elas. O volume aplicado é de 0,05-0,1 ml, de forma intradérmica. A avaliação é feita de 15-20 minutos após a aplicação. A reação de cada ponto de aplicação deve ser

comparada com o controle positivo (fosfato de histamina) e o controle negativo (solução salina com fenol) (HENSEL et al., 2015).

Os extratos alergênicos usados para o teste cutâneo devem ter uma concentração limiar, ou seja, a concentração mais alta do extrato que não causa irritação, uma vez que a irritação pode levar a um falso positivo. A concentração ideal é aquela em que não mais que 10% dos cães não atópicos tenham uma reação positiva (BAUER et al., 2010). Devem se manter refrigerados em 4 °C e serem retirados da refrigeração cerca de 15 minutos antes da aplicação, para que atinjam temperatura ambiente, após o uso devem ser refrigerados novamente, sempre evitando o congelamento (DeBOER e HILLIER, 2001).

O fosfato de histamina, utilizado como controle positivo, geralmente está na concentração de 0,01 ou 0,001% (SCOTT et al., 2001). Hensel et al. (2004) compararam ambas as concentrações e concluíram que a concentração preferível para os testes intradérmicos em cães é de 0,01%. Cunha e Faccini (2009) observaram que a resposta ao controle positivo de histamina pode variar de acordo com o porte do paciente, sugerindo que para cães de grande porte deveria ser considerada a utilização de alérgenos mais concentrados, por estes apresentarem reações mais exuberantes ao controle positivo.

A histamina leva a vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, por atuar nas células do musculo liso vascular e células endoteliais. Na pele é capaz de causar uma resposta tríplice que cursa com avermelhamento local imediato, pápula, devido ao aumento da permeabilidade vascular e uma resposta de eritema tardio mais acentuado devido ao reflexo axonal (THURMOND et al., 2008).

A leitura do teste intradérmico é de forma objetiva ou subjetiva. A forma subjetiva avalia intensidade e, ou, tamanho do eritema, turgor ou urticaria. Já a forma objetiva avalia o diâmetro da reação. Por convenção, as reações são registradas em um escore subjetivo de 0, 1, 2, 3 ou 4. A reação 0 é igual à amostra de controle negativo e a reação positiva é igual à amostra de controle positivo. Qualquer reação igual ou superior a dois é considerada como positiva. Na leitura objetiva, as reações são consideradas positivas quando são iguais ou maiores que a média obtida entre a reação do controle positivo (fosfato de histamina) e o controle negativo (solução salina) (SCOTT et al., 2001).

Já o *prick test*, é realizado utilizando um aplicador tipo lanceta para “picar” a pele com uma quantidade de alérgeno (ROSSI et al., 2013). As lancetas devem ser estéreis, devendo se utilizar uma lanceta para cada picada (ANTUNES et al., 2009). Em humanos, tem sido a principal ferramenta no diagnóstico das alergias do tipo I (mediadas pela IgE), por mostrar um melhor valor preditivo positivo (BOUSQUET et al., 2012). Sua preferência em humanos, também pode se dar pelo fato de haver menor risco de reações adversas sistêmicas utilizando esta técnica do que a técnica intradérmica nesta espécie, o que não ocorre em cães (HILLIER; DEBOER, 2001; MILLER et al., 2013).

O *prick test* quando comparado ao teste intradérmico, possui como desvantagem a menor quantidade de estudos embasando seu uso na medicina veterinária, além de suas reações serem menos fáceis de identificar. Contudo, levando em consideração seu uso em humanos, não seria de se esperar que os resultados obtidos com o *prick test* espelhassem por completo aqueles obtidos com o teste intradérmico. Apesar disso, o *prick test* pode trazer como vantagens, menor necessidade de sedação, maior aceitação do tutor, menor incidência de reações sistêmicas e maior aproximação da exposição natural (BALLAUF, 1991; CARNETT e PLANT, 2018).

Em caso de hipersensibilidade ao alérgeno, é formada uma pápula que também é lida de forma subjetiva e objetiva (ROSSI et al., 2013). A leitura do *prick test* não tem uma padronização bem definida como o teste intradérmico, os estudos feitos utilizando esta técnica, fizeram a leitura de forma objetiva e subjetiva, que se assemelham ao *prick test* na medicina humana. Segundo Antunes et al. (2009) a leitura subjetiva é desencorajada na medicina, uma vez que pode ser muito variável entre os observadores.

Os alérgenos para o teste intradérmico em geral são diluídos em veículo aquoso e os para realização do *prick test* em glicerinado (HILLIER; DEBOER, 2001). A glicerina é um poliol viscoso com excelente poder conservante, porém também é reconhecida por gerar inflamação e dor no local de aplicação (ROSSI et al., 2013). No entanto, Gentry e Messinger (2016) testaram em gatos saudáveis soluções glicerinadas aplicadas de forma percutânea e não houve evidência de falsos positivos, o que sugere que o potencial irritativo da glicerina não interfere na sua utilização no *prick test*.

O *prick test* é uma boa opção, é um teste simples e barato, permitindo um bom planejamento terapêutico na maior parte dos casos, porém em alguns casos, o

diagnóstico pode ser difícil e novas técnicas de resposta cutânea à alergia devem sempre ser investigadas (ROK et al., 2016). Rokita et al. (2009) propuseram um modelo matemático para validar a termografia como um método de avaliação do *prick test* em humanos. Neste estudo, os valores dos parâmetros do modelo não se correlacionam bem com a avaliação subjetiva de rotina, isto é, baseada na avaliação da pápula e eritema. Porém houve um aumento da temperatura cutânea perante a aplicação de histamina em 80% dos pacientes, 20% não obtiveram aumento de temperatura.

### **3. OBJETIVO GERAL**

O presente estudo tem como objetivo detectar a área e a temperatura das reações cutâneas induzidas pela administração de histamina por via intradérmica e percutânea em cães por meio da imagem termográfica.

#### **3.1 Objetivos específicos**

Verificar se há diferença nos resultados das avaliações objetiva e subjetiva após 15 minutos da administração de três concentrações de histamina, pelas vias intradérmica e percutânea;

Avaliar a sensibilidade da termografia para avaliação da reação cutânea provocada pela histamina;

Verificar se há diferença nas dimensões da área de impressão térmica entre controle negativo e diferentes concentrações de histamina, quando administrada pelas vias intradérmica e percutânea, após 15 minutos;

Verificar se há diferença entre as dimensões das medidas objetivas e das áreas de impressão térmica, do controle negativo e das três concentrações de histamina, por via intradérmica e percutânea, após 15 minutos;

Avaliar se há diferença entre as temperaturas da pele, dos locais de aplicação dos controles negativos e das reações cutâneas induzidas pela aplicação de histamina, em três concentrações, por via intradérmica e percutânea após 15 minutos.

Avaliar se há diferença entre a variação de temperatura (delta) entre os locais de administração do controle negativo e das concentrações de histamina, aplicadas pelas vias intradérmica e percutânea.

Avaliar se há correlação entre as medidas objetivas e subjetiva provocadas pela aplicação da histamina, pelas vias intradérmica e percutânea;

Avaliar se há correlação entre as dimensões das áreas térmicas e as temperaturas provocadas pela aplicação da histamina, pelas vias intradérmica e percutânea;

Avaliar se há correlação entre as medidas objetivas e as dimensões das áreas de impressão térmica provocadas pela aplicação da histamina, pelas vias intradérmica e percutânea;

Avaliar se há correlação entre as avaliações subjetivas e as temperaturas provocadas pelas aplicações do controle negativo, histamina, pelas vias intradérmica e percutânea.

#### **4. MANUSCRITO DO ARTIGO A SER SUBMETIDO**

##### **USO DA IMAGEM TERMOGRÁFICA PARA AVALIAÇÃO DA REAÇÃO CUTÂNEA INDUZIDA PELA APLICAÇÃO DE HISTAMINA POR VIA TRANSDÉRMICA E PERCUTÂNEA EM CÃES**

Juliana Dhein\*; Anelise Bonilla Trindade Gerardi†; Victor E. S. Cunha‡; Daniel Guimarães Gerardi\*;

\*Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

† Departamento de Medicina Animal da Faculdade de Veterinária - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

‡ FDA-Allergenic- Rio de Janeiro, Brasil

Correspondente: Daniel Guimarães Gerardi, Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 9090, Bairro agronomia, Porto Alegre, CEP: 91540-000, Brasil. E-mail: d\_gerardi@hotmail.com

Conflitos de interesse: As soluções de histamina e solução de controle negativo (solução salina) foram fornecidos gratuitamente pela FDA-Allergenic, Rio de Janeiro, Brasil.

**Revisão** – A seleção dos alérgenos para realização da imunoterapia alérgeno-específica em cães com dermatite atópica, é feita muitas vezes por meio de testes cutâneos, como o intradérmico e o percutâneo, usando soluções de histamina como controle positivo. No entanto, a interpretação destes pode ser imprecisa. A termografia é um método não invasivo, utilizada para auxiliar no diagnóstico de várias condições inflamatórias e não inflamatórias na medicina e na veterinária e, pode ser uma ferramenta para auxiliar na interpretação dos testes alérgicos cutâneos.

**Objetivos** – Avaliar se a termografia é um método viável para avaliar a reação cutânea após administração de histamina, pelas vias intradérmica e percutânea em cães.

**Animais** – Foram selecionados 25 cães dermatologicamente saudáveis.

**Métodos** – O estudo ocorreu de forma prospectiva. Soluções de histamina, em três concentrações diferentes, e solução salina foram administradas pelas vias intradérmica e percutânea. As imagens termográficas foram obtidas antes e 15 minutos após as aplicações.

**Resultados** – A técnica de termografia demonstrou boa sensibilidade, porém baixa correlação com os métodos de avaliação já utilizados.

**Conclusão** – A termografia pode ser útil para leitura dos testes cutâneos na medicina veterinária, porém novos estudos precisam ser realizados para aprimoramento da técnica antes de sua validação.

**Palavras-chave:** termografia, testes alérgicos cutâneos, prick test.

## INTRODUÇÃO

A termografia é uma técnica moderna, pouco invasiva que vem sendo utilizada em diversas áreas na medicina veterinária como oncologia, ortopedia e comportamento animal (LOUGHIN e MARINO, 2007; INFERNUSO et al., 2010; HARPER, 2000; MARINO e LOUGHIN, 2010; REIS et al., 2010; MELO, 2013, TRAVAIN et al., 2015). A técnica é capaz de avaliar a microcirculação da pele, por meio do registro as variações de temperatura causadas por maior ou menor irrigação da região analisada. Apresenta como vantagem ser pouco invasiva, não necessitar de sedação, não expor o paciente à radiação e não necessitar de toque ao tecido avaliado. É considerada uma técnica segura e asséptica, com rápida obtenção dos resultados, fácil captação de dados que podem permanecer armazenados durante toda a vida do paciente (BRIOSCHI et al., 2003; NOWAKOWSKI, 2006; MARINO e LOUGHIN, 2010). Em humanos a termografia já foi empregada como um método alternativo para avaliação das respostas aos testes alérgicos cutâneos e apresentou bons resultados (JUSTO et al., 2016; ROK et al., 2016; TVERSKY E MACGLASHAN, 2019).

A imunoterapia alérgeno-específica é o único tratamento capaz de modular o sistema imune dos cães com dermatite atópica e, em alguns animais, controlar os sinais clínicos da doença à longo prazo. Os testes alérgicos cutâneos são empregados para a seleção de alérgenos a serem utilizados na imunoterapia (MUELLER, 2019). Entre eles estão o teste intradérmico, que por muito tempo foi o único empregado na medicina veterinária, e o *prick test* que vem sendo utilizado mais recentemente. O *prick test* costuma ter reações mais difíceis de serem avaliadas do que o teste intradérmico, porém pode ser mais prático, menos invasivo aos olhos do tutor e se aproximar mais da inoculação natural dos alérgenos (DeBOER e HILLIER, 2001; CARNETT e PLANT, 2018).

Em alguns casos, embora a utilização dos testes seja relativamente simples, o diagnóstico pode ser comprometido pois as reações podem ser difíceis de serem avaliadas, levando a resultados inconsistentes. Por este e outros fatores, novos métodos de leitura devem ser estudados. Para isso pesquisas têm sido realizadas com o intuito de gerar uma melhor padronização

da leitura dos testes na medicina humana, contudo ainda existem desafios para a realização de um método automatizado que facilite a leitura e também gere uma melhor padronização (LAMMINEN E VOPIO, 2008, ROK et al., 2016; TVERSKY E MACGLASHAN, 2019). Na medicina veterinária, a técnica percutânea ainda é considerada recente. Estudos acerca de sua padronização são escassos.

O presente estudo tem como objetivo verificar se a termografia é um método viável para avaliar a reação cutânea gerada após a administração de histamina por via transdérmica e percutânea, visando no futuro empregar essa técnica para auxiliar na identificação das reações positivas e negativas, após a administração dos alérgenos, no teste intradérmico e *prick test*.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Este estudo foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRGS (CEUA- UFRGS), número 36746, antes do início de sua execução. Para que o cão fosse incluído no estudo os tutores precisavam concordar com a participação e registrar essa concordância assinando o termo de livre consentimento (Apêndice I). O experimento foi executado no período de setembro a dezembro de 2019.

### **Animais**

Os cães incluídos foram selecionados por conveniência e foram provenientes da rotina clínica do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCV-UFRGS), de criadores, abrigos de cães e projetos de extensão de proteção animal da UFRGS. Todos os cães residiam na Grande Porto Alegre/RS. Os mesmos se encontravam clinicamente saudáveis, e tinham idade que variou de 1 a 10 anos, sendo a idade média 5,2 anos ( $\pm 2,8$ ). As raças e portes variaram, sendo a média de peso 11,8 kg ( $\pm 10,1$ ). Foram incluídos 13 machos e 12 fêmeas.

Os responsáveis pelos cães foram entrevistados e os cães foram posteriormente examinados pela mesma médica veterinária pesquisadora quanto à presença de prurido, lesões de pele e presença de ectoparasitas. Os animais não estavam utilizando nenhuma medicação antipruriginosa no momento da aplicação intradérmica e percutânea da histamina e solução salina; respeitou-se o período de carência de três semanas para o uso de corticoides de uso oral, oito semanas para injetáveis e duas semanas para os de uso tópico. Para anti-histamínicos, um período de carência de 14 dias foi estabelecido (MILLER et al., 2013). O tutor do paciente foi orientado a evitar banhos e agentes tópicos até duas horas antes da realização das aplicações.

### **Aplicação intradérmica de histamina e solução salina**

Os cães tiveram uma área de cerca de 10 cm x 10 cm tricotomizada na região lateral do tórax e foram mantidos em ambiente com temperatura controlada para aclimatação durante 15 minutos, durante este período os pacientes ficavam livres pelo conforto. Após 15 minutos da tricotomia, foi aplicado pela via intradérmica 0,05 ml de solução salina estéril (controle negativo) e 0,05 ml de solução de cloridrato de histamina em três concentrações diferentes de histamina base (0,025 mg/ml, 0,05 mg/ml, 0,1

mg/ml), em três pontos diferentes, (respectivamente intituladas de h1, h2 e h3), respeitando um espaço de 2 cm entre as aplicações. Foi utilizada agulha 29 G encaixada à uma seringa estéril de 1ml para realizar as aplicações. A histamina e a solução salina foram deixadas na seringa por 15 minutos fora da geladeira antes da aplicação (MCDONALD et al., 1990).

Após 15 minutos das aplicações, os diâmetros longitudinais e transversais das reações foram mensurados com o paquímetro e, posteriormente, foi calculado o valor da média ortogonal. Os pacientes foram fotografados com câmera de imagem termográfica FLIR® T530, a uma distância de 0,6 metros. As respostas cutâneas às aplicações também foram avaliadas subjetivamente. O eritema e a turgidez das reações foram avaliados em uma escala de 0-4, porém sem que houvesse toque no local das aplicações, para evitar que fosse deixada uma impressão térmica que interferiria na análise termográfica. Foi considerado: 0- não apresenta turgidez ou eritema; 1- leve turgidez e/ou leve eritema; 2- turgidez moderada e ou eritema moderado; 3- acentuada turgidez ou eritema e 4- turgidez e eritema acentuados.

### **Aplicação percutânea de histamina e solução salina**

Para a realização da aplicação percutânea foi utilizado o puntor Duotip II®, um dispositivo plástico estéril descartável com ponta bifurcada. Foi instilada uma gota de solução salina estéril (controle negativo) e uma gota de cloridrato de histamina em diferentes concentrações de histamina base (1,25mg/ml, 2,5 mg/ml e 5 mg/ml), (respectivamente denominadas de h1, h2 e h3), em três pontos diferentes, sempre respeitando uma distância de 2 cm entre os pontos. Com o puntor Duotip II® foi feita uma pressão sob a pele, em um ângulo de 45°, deslizando verticalmente e provocando uma pequena picada. Este teste foi realizado em duplicata para gerar maior confiabilidade, uma vez que este ainda não apresenta uma padronização bem determinada na medicina veterinária. O local de aplicação foi abaixo das aplicações intradérmicas, na mesma área de tricotomia feita para a realização destas. Os frascos contendo os sais de histamina e solução salina foram retirados de refrigeração e mantidos na bancada, durante 15 minutos antes da realização do teste (MCDONALD, et al., 1990).

Após 15 minutos das aplicações os diâmetros longitudinais e transversais das reações foram mensurados com o paquímetro e posteriormente foi calculado o valor da média ortogonal. Para fins estatísticos, foi empregado o valor médio do diâmetro das duplicatas. Os pacientes foram fotografados com câmera de imagem termográfica FLIR® T530 a uma distância de 0,6 metros. As respostas cutâneas às aplicações também foram avaliadas subjetivamente conforme descrito no item anterior.

### **Termografia**

Para a avaliação termográfica, todos os pacientes foram fotografados em sala isenta de corrente de ar, com janela devidamente coberta (evitando incidência de luz solar), com luz fria e climatizada durante todos os testes e registros. A temperatura e umidade relativa do ar foi controlada por meio de termômetro digital para ambientes internos (TERMO-HIGRÔMETRO SIMPLA - TH01). Os registros foram realizados entre 9 horas e 19 horas. A temperatura

ambiente na sala durante todo o estudo variou entre 21 e 23°C, no entanto não houve oscilação maior do que 1°C durante a realização dos testes individualmente.

Os animais foram fotografados antes e após 15 minutos da administração da solução salina e de histamina. Para o registro fotográfico o paciente foi contido com a área das aplicações voltada para a câmera, sempre tomando a precaução de não tocar o paciente na área a ser fotografada, para evitar impressões térmicas.

As imagens foram analisadas pelo software FLIR ResearchIR®, que avalia as imagens por meio de mapeamento de cores emitidas de acordo com a temperatura. Foi padronizado em todas as imagens a utilização da paleta de cores em escala de cinza®, que foi a paleta que mais preservou a forma da informação térmica. Durante a análise a emissividade foi ajustada para 0,98 e a distância para 0,6 metros. A emissividade da pele humana é 0,97-0,99, para cães ainda não há estudos que definam um valor. Os estudos realizados em diferentes espécies utilizaram o valor da emissividade entre 0,95-1 (STEKETEE 1973, LYNCH et al. 2011; WESTERMANN et al., 2013). A temperatura média da pele antes da administração do controle negativo e das histaminas, foi determinada por meio de uma área retangular que apresentava as dimensões da região da tricotomia. Nas imagens termográficas obtidas após 15 minutos da administração do controle negativo e das histaminas foram avaliados a área de impressão térmica (AIT) e temperatura. Para estas avaliações foi empregado o recurso *free hand*, capaz de calcular em cm<sup>2</sup> a área delimitada e sua temperatura média (Figura 1 e Figura 2). A delimitação da AIT foi feita com caneta digital em um monitor do tipo *touch screen* (HP envy x360®).

### **Análise estatística**

No presente estudo, o tamanho do “n” amostral estimado foi o necessário para detectar como estatisticamente significativas, correlações fortes entre os valores obtidos na termografia e valores obtidos no paquímetro, na avaliação subjetiva e de concentração de histamina. Para estimar um coeficiente de correlação de Pearson de magnitude forte ( $r=0,60$ ), considerando um poder de 90% e um nível de significância de 0,05 foram necessários 25 animais. O cálculo amostral foi realizado com o programa WINPEPI versão 11.65 (Abramson, J.H. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. *Epidemiologic Perspectives & Innovations* 2011, 8:1).

As variáveis quantitativas foram descritas por média e erro padrão e as categóricas por frequência absolutas e relativas. Para avaliar as diferenças entre as concentrações, o modelo de Equações de Estimativas Generalizadas (GEE) complementado pelo teste de Bonferroni foi aplicado. Para as variáveis numéricas, o modelo linear foi utilizado e para as categóricas, o modelo logístico binário foi aplicado.

Para a comparação dos resultados AIT com os objetivos por concentração e via, o teste *t-student* para amostras pareadas foi aplicado. A associação entre as variáveis foi avaliada pelo teste da correlação de Pearson.

O nível de significância adotado foi de 5% ( $p < 0,05$ ) e as análises foram realizadas no programa SPSS versão 21.0.

## Resultados

Todos os animais incluídos apresentaram reatividade cutânea à histamina aplicada por via intradérmica e percutânea. Foi observado que a média da medida objetiva (diâmetro ortogonal das reações) e escore da avaliação subjetiva do controle negativo e das três concentrações de histamina diferiram significativamente entre si ( $p < 0,001$ ), independente da via de administração. Observou-se que a média das medidas objetivas e dos escores subjetivos foi crescente de acordo com a maior concentração de histamina (Tabela 1).

Tabela 1 – Comparação dos resultados objetivos (cm) e subjetivos (0-4) entre as concentrações de histamina (h1,h2,h3) e controle negativo (CN) na via intradérmica e percutânea.

	CN	h1	h2	h3	p
	Média ± EP	Média ± EP	Média ± EP	Média ± EP	
<b>Via Intradérmica</b>					
Resultado objetivo	0,08 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,33 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,53 ± 0,04 <sup>c</sup>	1,70 ± 0,04 <sup>d</sup>	<0,001
Resultado subjetivo	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,57 ± 0,15 <sup>b</sup>	2,17 ± 0,10 <sup>c</sup>	3,04 ± 0,14 <sup>d</sup>	<0,001
<b>Via Percutânea</b>					
Resultado objetivo	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,56 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,75 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,92 ± 0,03 <sup>d</sup>	<0,001
Resultado subjetivo	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,08 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,28 ± 0,11 <sup>b</sup>	1,90 ± 0,11 <sup>c</sup>	<0,001

EP=Erro Padrão; <sup>a,b,c,d</sup> Letras iguais não diferem pelo teste de Bonferroni a 5% de significância

O número de reações em que foi possível identificar a AIT pelas imagens termográficas foi significativamente maior nos locais de aplicação das histaminas do que nos locais de aplicação da solução salina, pelas duas vias avaliadas (Tabela 2). No entanto, não foi observado diferença no número de reações detectadas entre as soluções com diferentes concentrações de histamina (Tabela 2).

Tabela 2 – Comparação do número de reações detectadas pelas imagens termográficas entre as concentrações de histamina (h1,h2,h3) e controle negativo (CN) na via intradérmica e percutânea .

	CN	h1	h2	h3	Total(h1+2+3)	p
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
<b>Via Intradérmica</b>	8 (32,0) <sup>a</sup>	17 (68,0) <sup>b</sup>	16 (64,0) <sup>b</sup>	17 (68,0) <sup>b</sup>	50 (66,7)	0,018
<b>Via Percutânea</b>	7 (28,0) <sup>a</sup>	21 (84,0) <sup>b</sup>	21 (84,0) <sup>b</sup>	23 (92,0) <sup>b</sup>	65 (86,7)	<0,001

<sup>a,b</sup> Letras iguais não diferem pelo teste de Bonferroni a 5% de significância

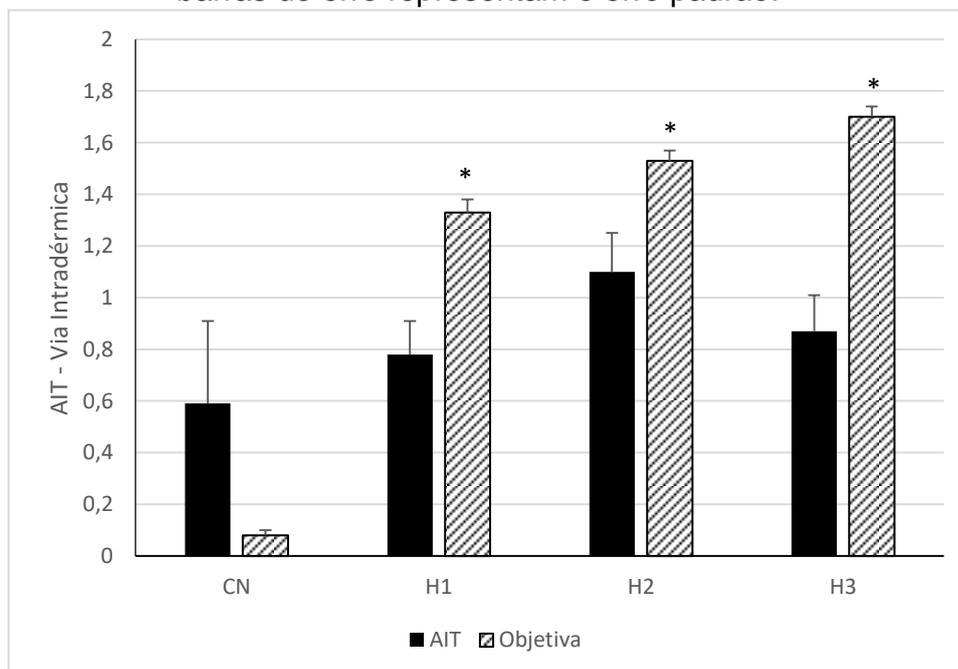
Ao comparar a AIT entre as diferentes concentrações de histamina e o controle negativo, não houve diferença significativa, tanto na aplicação intradérmica quanto na aplicação percutânea (Tabela 3).

Tabela 3 – Comparação dos valores de AIT (cm<sup>2</sup>) entre as concentrações de histamina (h1,h2,h3) e controle negativo (CN) na via intradérmica e percutânea .

	CN	h1	h2	h3	p
	Média ± EP	Média ± EP	Média ± EP	Média ± EP	
Via Intradérmica	0,59 ± 0,32	0,78 ± 0,13	1,10 ± 0,15	0,87 ± 0,14	0,158
Via Percutânea	0,36 ± 0,08	0,41 ± 0,07	0,32 ± 0,06	0,28 ± 0,04	0,098

A medida das áreas das pápulas obtidas por meio da aplicação intradérmica, pelo método objetivo, foi significativamente maior quando comparadas com AIT, em todas as concentrações de histamina, no entanto o mesmo não foi observado no controle negativo (provavelmente pela grande variabilidade encontrada nos valores de AIT nestes locais) (Figura 3).

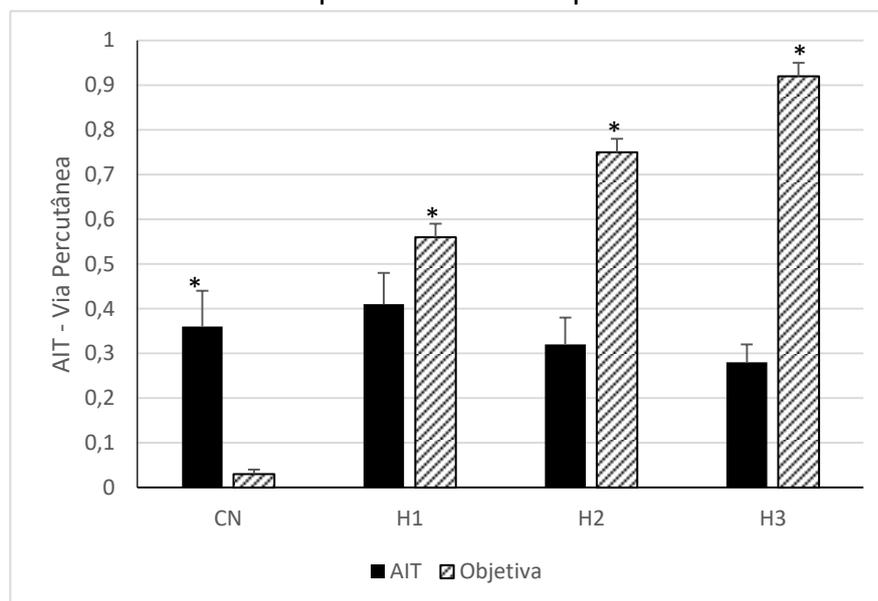
Figura 3 – Comparação das medidas da AIT com as medidas obtidas pelo método objetivo, por concentração de histamina (h1,h2,h3) e controle negativo na via intradérmica. As colunas representam a média e as barras de erro representam o erro padrão.



\* P<0,05

Já na aplicação percutânea, em relação ao CN, os valores de AIT foram significativamente superiores à medida objetiva (p=0,007). Quanto ao h1, h2 e h3, a medida objetiva foi significativamente maior do que a AIT (p=0,041, p<0,001 e p<0,001, respectivamente) (Figura 4).

Figura 4 – Comparação das medidas da AIT com as medidas obtidas pelo método objetivo por concentração de histamina (h1,h2,h3) e controle negativo na via percutânea. As colunas representam a média e as barras de erro representam o erro padrão.



\*  $p < 0,05$

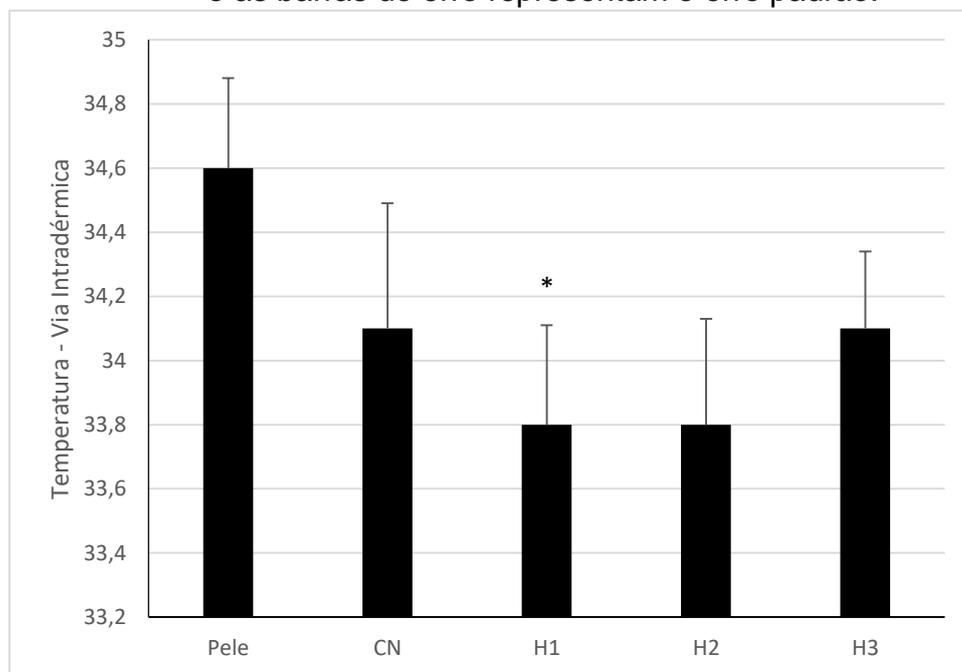
A temperatura média da pele antes das aplicações foi significativamente maior que no local de aplicação intradérmica da h1 ( $p=0,034$ ), no entanto o mesmo não foi observado quando comparado com o CN, h2 e h3 ( $p > 0,10$ ) (Tabela 4 e Figura 5). As temperaturas em h1, h2 e h3 foram significativamente mais baixas do que da pele antes das aplicações pela via percutânea ( $p < 0,001$ ), no entanto o mesmo não foi observado quando a temperatura da pele com o CN ( $p > 0,10$ ) (Tabela 4 e Figura 6).

Tabela 4 – Comparação da temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) da pele antes da aplicação com a temperatura do local de aplicação do controle negativo (CN) e das três concentrações de histamina (h1,h2,h3) pela via intradérmica e percutânea.

	Pele	CN	h1	h2	h3	p
	Média $\pm$ EP	Média $\pm$ EP	Média $\pm$ EP	Média $\pm$ EP	Média $\pm$ EP	
<b>Via Intradérmica</b>	34,6 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>	34,1 $\pm$ 0,39 <sup>ab</sup>	33,8 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>	33,8 $\pm$ 0,33 <sup>ab</sup>	34,1 $\pm$ 0,24 <sup>ab</sup>	0,043
<b>Via Percutânea</b>	34,6 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>	34,1 $\pm$ 0,48 <sup>ab</sup>	33,6 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>	33,8 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	33,7 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>	<0,001

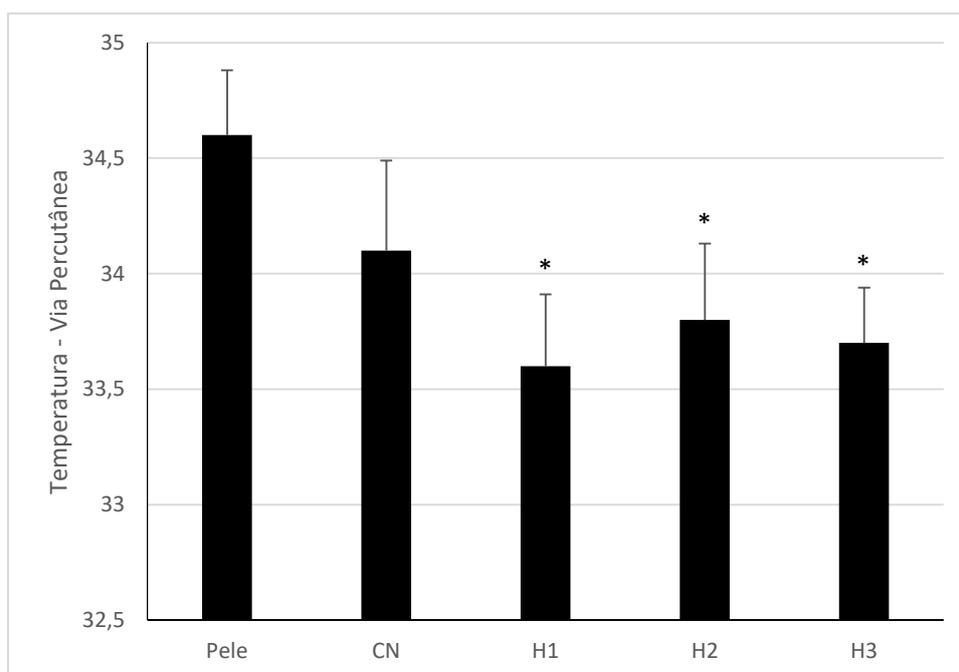
<sup>a,b</sup> Letras iguais não diferem pelo teste de Bonferroni a 5% de significância

Figura 5 – Comparação da temperatura da pele prévia às aplicações com a temperatura nas diferentes concentrações de histamina e no controle negativo, na via intradérmica. As colunas representam a média e as barras de erro representam o erro padrão.



\*  $p < 0,05$

Figura 6 – Comparação da temperatura da pele prévia às aplicações com a temperatura nas diferentes concentrações de histamina e no controle negativo, na via percutânea. As colunas representam a média e as barras de erro representam o erro padrão.



\*  $p < 0,05$

As médias dos deltas (DT) de temperatura entre os locais de administração do CN e das três concentrações de histamina, pelas vias intradérmica e percutânea, foram negativas em todas as concentrações, com exceção do delta em h1 pela via intradérmica (Tabela 5). Nas comparações das médias dos deltas de temperatura, houve somente diferença significativa no delta de h1 pela via percutânea ( $P < 0,001$ , Tabela 5).

Tabela 5 – Comparação das diferenças da temperatura (deltas) entre os locais de aplicação do controle negativo e das concentrações de histamina pelas vias intradérmica e percutânea

	DTH1	DTH2	DTH3	P
	Média ± EP	Média ± EP	Média ± EP	
<b>Via Intradérmica</b>	0,05 ± 0,07	-0,01 ± 0,18	-0,09 ± 0,26	0,857
<b>Via Percutânea</b>	-0,49 ± 0,43 <sup>a</sup>	-0,22 ± 0,40 <sup>b</sup>	-0,13 ± 0,44 <sup>b</sup>	<0,001

<sup>a,b</sup> Letras iguais não diferem pelo teste de Bonferroni a 5% de significância

Observou-se correlação moderada entre valores das medidas objetivas e subjetivas apenas para h1 ( $r=0,413$  e  $p=0,04$ ) e h2 ( $r=0,447$  e  $p=0,02$ ) pela via intradérmica. No entanto, não foi observada correlação significativa entre a AIT e a temperatura, AIT e medida objetiva e temperatura e escore subjetivo ( $P>0,05$ ).

## DISCUSSÃO

A avaliação das reações cutâneas à aplicação de histamina, por meio da análise termográfica, foi idealizada visando, no futuro, auxiliar na detecção das reações frente à aplicação de alérgenos que possam gerar dúvida ou dificuldade em sua interpretação. As reações obtidas pela administração dos alérgenos pela via percutânea são geralmente de menores dimensões, podendo ser equivocadamente interpretadas. De fato, no presente estudo, observou-se uma boa sensibilidade em detectar e delimitar, nas imagens termográficas, as reações cutâneas provocadas pela administração de histamina, principalmente quando aplicada pela via percutânea. Além disso, a técnica mostrou ter boa especificidade, pois a porcentagem de AIT detectada no local de aplicação do controle negativo foi significativamente mais baixa quando comparada com os locais de aplicação de histamina. Nossos resultados contrastam com o estudo realizado por Tversky e Macglashan (2019), que encontrou sensibilidade de apenas 38% após a administração de aeroalérgenos por via percutânea, em humanos com rinite alérgica. No entanto, acredita-se que a maior sensibilidade observada em nosso estudo quando comparado com o publicado por Tversky e Macglashan (2019), possa ser justificada por termos realizado a avaliação somente com histamina.

A histamina é empregada como controle positivo nos testes intradérmico e *prick test* em seres humanos e animais (HENSEL et al., 2004, ANTUNES et al., 2009). Na pele, esta é capaz de causar uma resposta tríplice que leva ao avermelhamento local imediato, pápula, devido ao aumento da permeabilidade vascular e uma resposta de eritema tardio mais acentuado devido ao reflexo axonal (THURMOND et al., 2008). No presente estudo, este efeito pode ser observado na avaliação subjetiva das reações após a administração da histamina nas três concentrações utilizadas. Este fato não foi observado no local de aplicação da solução salina, o que dá credibilidade à sensibilidade cutânea à histamina. No entanto, a sua ação pode variar dependendo da concentração utilizada e quais receptores são ativados (THURMOND et al., 2008; BRANCO et al., 2018). O efeito concentração-dependente da histamina também pôde ser comprovado neste estudo quando a esta foi administrada pelas duas vias, intradérmica e percutânea, em três concentrações crescentes, pelas avaliações objetiva e subjetiva.

Tversky e Macglashan (2019) relataram que as maiores dificuldades na avaliação das imagens termográficas foram a falta de um padrão das reações que pudesse ser identificado ou mensurado facilmente. No presente estudo essas dificuldades também foram observadas em algumas reações, principalmente a pouca definição das bordas, o que gerou dúvidas no avaliador sobre o seu real limite. A mesma observação foi feita por Uematsu et al. (1987) os quais afirmaram que o formato das áreas térmicas, decorrentes da aplicação

intradérmica da histamina, tendiam ser bastante irregulares, enquanto que visualmente as reações tendiam a ser mais arredondadas.

Baseado no estudo de Uematsu et al. (1987) que observaram que a área térmica e a temperatura aumentaram com incremento da dose de histamina aplicada pela via intradérmica, esperava-se, no presente estudo, que o efeito concentração-dependente da histamina também fosse percebido na avaliação das imagens termográficas. Embora nas avaliações objetiva e subjetiva isto tenha sido verificado, na análise termográfica isso não ocorreu.

Outro resultado que foi contra as hipóteses elaboradas no desenvolvimento do estudo, foi que as dimensões da AIT fossem maiores que as das avaliações objetivas, conforme o observado por Uematsu et al. (1987). Neste estudo, os autores verificaram em humanos que as áreas correspondentes as reações à histamina, aplicada por via intradérmica, observadas nas imagens termográficas, foram maiores que as observadas visualmente. Uma possível explicação para isso foi o critério que nós aplicamos na avaliação das imagens termográficas, já que o delineamento das reações no *software* foi realizada somente ao redor das áreas com as bordas bem definidas, correspondendo à região central da pápula em si, e não incluindo a região eritematosa ao seu redor.

O fato da média da AIT do controle negativo ter sido maior que a média da AIT de h2 e h3 na via percutânea também chamou a atenção. Acredita-se que a AIT quando observada no local de aplicação do controle negativo possa ser decorrente do trauma local ou da retenção da solução na pele em alguns casos (STANEV et al., 2019), uma vez que não é esperado que a solução salina provoque reação na pele pois não gera irritação cutânea (ANTUNES et al., 2009).

Em consonância com o observado nos resultados obtidos na análise da AIT, os nossos resultados mostraram que houve redução da temperatura média nos locais de aplicação da histamina quando comparado com a média da temperatura da pele antes das aplicações e do controle negativo, refutando a nossa hipótese inicial e o observado em estudos em humanos (STÜTTGEN et al., 1980; UEMATSU et al., 1987; ROKITA et al., 2011; ROK et al., 2016). Uematsu et al. (1987) e Stanev et al. (2019) identificaram que a temperatura dos locais de aplicação de histamina foi 0,2 a 0,3°C maior que a pele adjacente e, aproximadamente 1°C maior que o controle negativo, respectivamente. Em contraste com o observado em nosso estudo, cujos valores de delta foram negativos entre as temperaturas dos locais de aplicação de histamina e o de aplicação do controle negativo, com exceção do observado em h1, pela via intradérmica.

Na pele a histamina provoca vasodilatação, aumento da permeabilidade endotelial e estimulação das fibras nervosas nociceptivas, provocando o surgimento de pápulas urticariformes, eritema e prurido (LIEBERMAN, 2011). O desenvolvimento do edema diminui a condução de calor da pele. Strüttgen et al. (1980), observaram que o início do aparecimento da pápula-urticariforme, após a aplicação de alérgenos por via intradérmica, ocorre alguns minutos mais cedo que o aumento máximo da radiação infravermelha. Os autores acreditam que esta diferença de tempo é provavelmente devido a formação de edema,

que inicialmente reduz o aumento do fluxo de calor para a superfície da pele nas regiões alérgicas. O mesmo foi observado por Stanev et al. (2019) que perceberam uma redução da temperatura na região de aplicação do alérgeno (anestésico local), pela via percutânea. No presente estudo, a temperatura mais baixa observada no local de aplicação das diferentes concentrações de histamina quando comparada com a pele antes da aplicação e com o controle negativo (embora não tenha sido estatisticamente significativo), mais uma vez pode ser explicada pela forma que foram avaliadas as imagens termográficas. Assim como para AIT, a determinação da temperatura média pelo *software* utilizado, ocorreu somente dentro da área delimitada, quando as bordas destas eram bem definidas. As áreas delimitadas correspondiam a região central das pápulas-urticariformes, e pode ter sofrido influência do edema gerado pela maior permeabilidade endotelial provocada pela histamina.

No presente estudo verificamos que houve correlação moderada entre a avaliação objetiva e subjetiva das pápulas provocadas pela aplicação intradérmica de duas concentrações de histamina (h1 e h2). Hubbard & White (2011) também verificaram correlação moderada entre os resultados das duas formas de avaliação a diferentes alérgenos em cães com dermatite atópica ( $p=0,00001$ ;  $r=0,457$ ). No entanto, não houve correlação entre as duas formas de avaliação quando a histamina foi aplicada pela via percutânea. Isso pode decorrer do fato das pápulas e o eritema serem mais discretos o que levaria ao examinador subestimar o escore subjetivo.

Esperava-se que houvesse uma correlação significativa entre o tamanho da AIT e a temperatura, no entanto isso não foi verificado, independente da concentração da histamina e da via de administração. Isto indica que não houve um aumento linear entre o tamanho da AIT e a temperatura da pápula, devendo ser avaliados de forma independente. Da mesma forma não houve correlação entre a medida objetiva e a AIT calculada pelo *software*. Em humanos, Uematsu et al. (1987) verificaram que houve forte correlação entre a AIT e a medida objetiva na aplicação intradérmica de diferentes concentrações de histamina. Os autores ainda verificaram que quanto maior era a área de eritema, maior a subestimação visual quando comparados com a avaliação termográfica. A possível justificativa para isso ter ocorrido é a grande variação dos valores das AIT. Por fim, não observamos correlação entre o valor da temperatura média das pápulas e os escores subjetivos atribuídos às mesmas. Este fato pode ter ocorrido por haver alguma discrepância entre o eritema causado pela vasodilatação e o calor produzido pela reação inflamatória (UEMATSU et al., 1987). Ou seja, não se pode atribuir em todas as situações que a intensidade do eritema será condizente com a maior temperatura local.

Entre os fatores limitantes deste estudo, pode-se incluir os ligados ao equipamento utilizado. A câmera termográfica utilizada nesse estudo possui sensor capaz de captar radiação na faixa espectral de 7,5 a 14  $\mu\text{m}$ . No entanto, Tversky e Macglashan (2019) utilizaram uma nova câmera termográfica que captam ondas infravermelhas curtas (1 a 2  $\mu\text{m}$ ) e compararam com equipamento semelhante ao usado em nosso estudo para avaliar as reações da aplicação percutânea de alérgenos e histamina. Este tipo de equipamento

tem habilidade única em discriminar água e mostrou superioridade para detectar as pápulas quando comparada à outras câmeras. Outra possível limitação foi a metodologia de análise das imagens. A delimitação das reações à aplicação de histamina e solução salina foi realizada somente quando as bordas da área foram nítidas e provavelmente não inclui a região do eritema adjacente, o que pode contribuir para a redução da média da AIT e da temperatura.

Concluimos que a análise das reações à aplicação de histamina empregando a termografia é viável, uma vez que apresentou boa sensibilidade. No entanto, o fato dos resultados da AIT e temperatura não terem se correlacionado com os métodos padrões de avaliação, indica que a técnica ainda precisa ser aprimorada antes de ser validada e utilizada para avaliação dos resultados dos testes alérgicos cutâneos.

## REFERÊNCIAS

Antunes J, Borrego L, Romeira A *et al.* Skin prick tests and allergy diagnosis. *Allergologia et immunopathologia* 2009; 37:155-164.

Branco AC, Yoshikawa FSY, Pietrobon AJ *et al.* Role of histamine in modulating the immune response and inflammation. *Mediators of inflammation* 2018; 2018: 01-10.

Brioschi ML, Macedo JF, Macedo RAC. Termografia cutânea: novas concepções. *Revista Vasculiar Brasileira* 2003; 2: 151-160.

Carnett MJH, Plant JD. Percutaneous prick test irritant threshold concentrations for eight allergens in healthy nonsedated dogs in the USA. *Veterinary Dermatology* 2018; 29:117-e47.

Deboer DJ, Hillier, A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Veterinary immunology and immunopathology* 2001; 81: 271-276.

Harper D. Thermography in veterinary medicine. *Inframation* 2000; 1.4:1-6.

Hensel P, Austel M, Medleau L *et al.* Determination of threshold concentrations of allergens and evaluation of two different histamine concentrations in canine intradermal testing. *Veterinary dermatology* 2004; 2:304-308.

Hubbard TL, Patricia DW. Comparison of subjective and objective intradermal allergy test scoring methods in dogs with atopic dermatitis. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2011; 47.6:399-405.

Infernuso T, Loughin CA, Marino DJ *et al.* Thermal Imaging of Normal and Cruciate ligament-deficiency stifles in dogs. *Veterinary Surgery* 2010; 39:410-417.

Justo X, Díaz I, Gil JJ *et al.* Prick test: evolution towards automated reading. *Allergy* 2016; 71:1095-1102.

Lamminen H, Voipio V. Computer-aided skin prick test. *Experimental dermatology*, 2008; 17: 975-976.

- Lieberman, P. The basics of histamine biology. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 2011; 106:2-5.
- Lynch M, Kirkwood R, Mitchell A, Duignan P, Arnould JPY. Prevalence and significance of an alopecia syndrome in Australian fur seals (*Arctocephalus pusillus doriferus*). *Journal of Mammalogy* 2001; 92: 342-351.
- Loughin CA, Marino DJ. Evaluation of thermographic imaging of the limbs of healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research* 2007; 68:1064-1069.
- Marino DJ, Loughin, CA. Diagnostic Imaging of Canine Stifle: a Review. *Veterinary Surgery* 2010; 39:284-295.
- McDonald, C, Parkin, J.E, Richardson, CA *et al.* Stability of solutions of histamine acid phosphate after sterilization by heating in an autoclave. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics* 1998; 15:41-44.
- Melo SR. Fatores prognósticos em mastocitoma canino: Correlação entre parâmetros clínicos, histológicos, marcadores de proliferação e análise termográfica 2013 [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.
- Miller WH, Griffin CE, Campbell KL. Hypersensitivity Disorders In: *Muller & Kirk's small animal dermatology*, 7th edition. St. Louis: Elsevier Mosby, 2013; 363-431.
- Mueller RS. Update on Allergen Immunotherapy. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* 2019; 49:1–7.
- Nowakowski AZ. Advances of quantitative IR-thermal imaging. In: *Medical diagnostics 8th International Conference*, Padova, Italia: 2006; 1-3.
- Reis FR, Barreira APB Castro, V *et al.* Índícios sobre a correlação entre diferentes métodos diagnósticos em casos de tumor de mama em cadelas. *Revista Eletrônica Novo Enfoque* 2010; 09:14–31
- Rok T, Rokita E, Tatoń G *et al.* Thermographic assessment of skin prick tests in comparison with the routine evaluation methods. *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii* 2016; 33:193.
- Rokita E, Rok T, Tatoń G. Thermographic measurements of allergen-induced skin reactions. In: *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering*. Munich, Germany: 2009; 120-25.
- Stanev E, Dencheva M, Lyapina M *et al.* Thermographic examination of prick test reactions with local anesthetic. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2019; 1-7.
- Steketee J. Spectral emissivity of skin and pericardium. *Physics in Medicine and Biology* 1973; 18: 686- 694.
- Stüttgen G, Flesch U, Witt H *et al.* Thermographic analysis of skin test reaction using AGA thermovision. *Archives of dermatological research* 1980; 268(2):113-128.

Thurmond RL, Gelfand EW, Dunford PJ. The role of histamine H<sub>1</sub> and H<sub>4</sub> receptors in allergic inflammation: the search for new antihistamines. *Nature reviews Drug Discovery* 2008; 7:41.

Toshihiko U, Yoshiharu T, Atsuhiko M et al. Application of thermography to the evaluation of the histamine skin test in man. *Journal of pharmacological methods* 1987, 18.2: 103-110.

Tversky J, MacGlashan D. SWIR camera as a novel solution to allergy skin testing. *Allergy* 2019.

Travain T, Colombo ES, Heinzl E et al. Hot dogs: Thermography in the assessment of stress in dogs (*Canis familiaris*) - A pilot study. *Journal of veterinary behavior* 2015; 10:1-23.

Westermann S, Stanek C, SCHRAMEL JP et al. The effect of airflow on thermographically determined temperature of the distal forelimb of the horse. *Equine Veterinary Journal* 2013; 45: 637-641.

Figura 1- A) Paciente 15 minutos após administração das histaminas B) Análise da área de impressão térmica utilizando o programa Flir ResearchIR®, circulado em cores, controle negativo h1, h2 e h3 do teste intradérmico (primeira fileira). Abaixo controle negativo, h1, h2 e h3 do *prick test* e sua duplicata (fileira 2 e fileira 3, respectivamente).

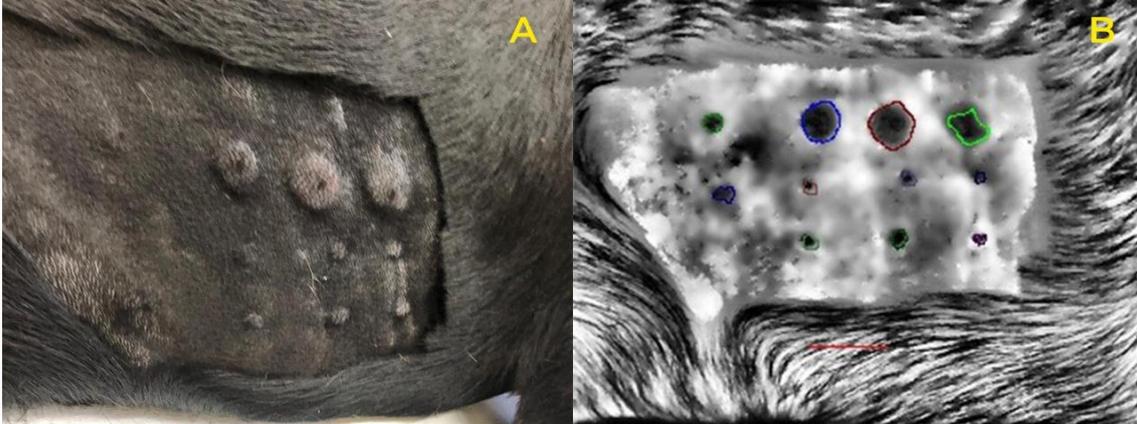
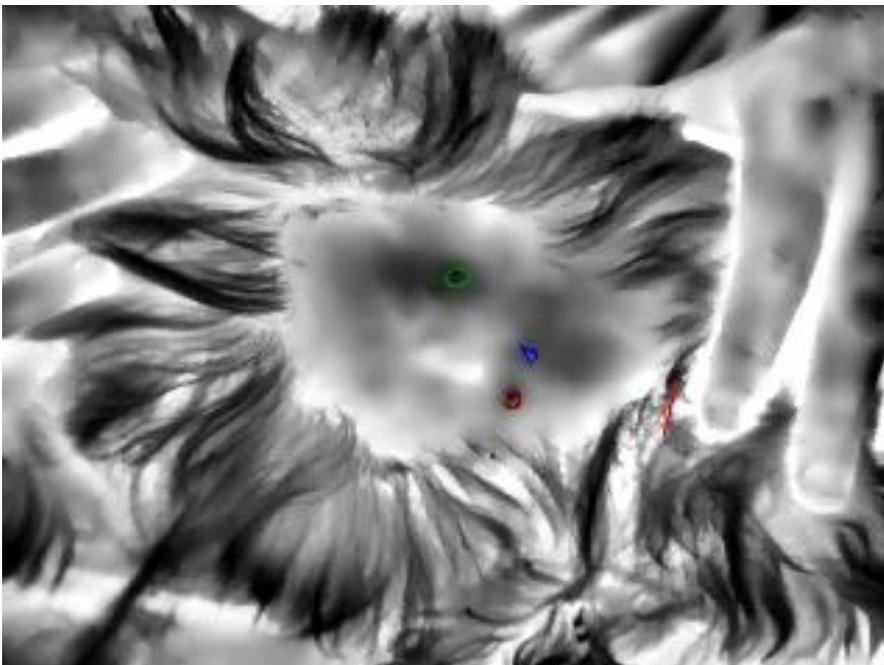


Figura 2- Análise da área de impressão térmica utilizando o programa Flir ResearchIR® delimitando três pontos de aplicação. Em verde h2 do teste intradérmico em azul h3 do *prick test*, em vermelho h3 do *prick test* (duplicta)



## **5. CONCLUSÃO**

Concluimos que a análise das reações à aplicação de histamina empregando a termografia é viável, uma vez que apresentou boa sensibilidade. No entanto, o fato dos resultados da AIT e temperatura não ter se correlacionado com os métodos padrões de avaliação, indica que a técnica ainda precisa ser aprimorada antes de ser validada e utilizada para avaliação dos resultados dos testes alérgicos cutâneos.

## REFERÊNCIAS

- Antunes, J.; Borrego, L.; Romeira, A.; Pinto, P. 2009.** Skin prick tests and allergy diagnosis. *Allergologia et immunopathologia*, 37(3), 155-164.
- Armstrong, D.G., Lavery, L.A., Liswood, P.J., Todd, W.F., Tredwell, J.A. 1997.** Infrared dermal thermometry for the high-risk diabetic foot. *Physical Therapy*, 77: 169–175.
- Arora, N.; Martins, D.; Ruggiero, D., Tousimis, E., Swistel, A.J.; Osborne, M.P.; Simmons, R.M. 2008.** Effectiveness of noninvasive digital infrared thermal imaging system in the detection of breast cancer. *The American Journal of Surgery*, 196: 523-526.
- Bagavathiappan, S.; Saravanan, T.; Philip, J.; Jayakumar, T.; Raj, B.; Karunanithi, R.; Panicker, T.M.; Korath, P.; Jagadeesan, K. 2008.** Investigation of peripheral vascular disorders using thermal imaging. *The British Journal of Diabetes and Vascular Disease*, 8:102–104.
- Bagavathiappan, S.; Philip, J.; Jayakumar, T.; Raj, B.; Rao, P.N.S., Varalakshmi, M.; Mohan, V. 2010.** Correlation between plantar foot temperature and diabetic neuropathy by using an infrared thermal imaging technique. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 4:1386–1392.
- Ballauf, B.; 1991.** Comparison of the intradermal and prick tests for diagnosis of allergy in the dog. *Tierärztliche Praxis* 19: 428–430.
- Bauer, C. L., Hensel, P., Austel, M., & Keys, D. 2010.** Determination of irritant threshold concentrations to weeds, trees and grasses through serial dilutions in intradermal testing on healthy clinically nonallergic dogs. *Veterinary dermatology*, 21(2), 192-197.
- Bousquet, J.; Heinzerling, L.; Bachert, C.; et al. 2012.** Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy*, 67: 18–24.
- Brioschi M. L.; Macedo, J. F.; Macedo, R. A. C. 2003.** Termografia cutânea: novas concepções. *Revista Vasculiar Brasileira*, 2: 151-160..

- Carnett, M. J. H.; Plant, J. D. 2018.** Percutaneous prick test irritant threshold concentrations for eight allergens in healthy nonsedated dogs in the USA. *Veterinary Dermatology*, 29: 117-e47.
- Cunha, V. E. S.; Faccini, J. L. H. 2009.** Use of histamine phosphate for the interpretation of intradermal skin tests in dogs. *Veterinary Record*, 165: 723-724.
- Çetinkaya, M.A.; Demirutku, A. 2012.** Thermography in the assessment of equine lameness. *Journal Veterinary Animal Science*, 36: 43-48
- DeBoer, D.J.; Hillier, A. 2001.** The ACVD task force on canine atopic dermatites (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81: 271-276.
- Deboer, Douglas J.; 2017.** The future of immunotherapy for canine atopic dermatitis: a review. *Veterinary dermatology*, 28 (1): 25-e6.
- Eddy, A.L.; Van Hoogmoed, L.M.; Synder, J.R. 2001.** The role of thermography in the management of equine lameness. *The Veterinary Journal*, 162: 172-181.
- Figueiredo T.; Dzyekanski, B.; Kunz, J.; Silveira, A.B.; Ramos, C.M.G.; Michelotto Júnior, P.V. 2012.** A importância do exame termográfico na avaliação do aparato locomotor em equinos atletas. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 18: 50-65.
- Flores-sahagun, J.H.; Vargas, J.V.C.; Mulinari-Brenner, F.A. 2011.** Analysis and diagnosis of basal cell carcinoma (CCC) via infrared imaging. *Infrared Physics & Technology*, 54: 367–378.
- Gautherie, M. 1983.** Thermobiological assessment of benign and malignant breast diseases. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 147: 861 – 869.
- Gershon-cohen, J.; Haberman-Brueschke, J.D. 1965.** Obstetric and gynecologic Thermography. *Obstetrics and Gynecology*, 26: 842–847.
- Gentry, C. M.; Messinger, L. 2016.** Comparison of intradermal and percutaneous testing to histamine, saline and nine allergens in healthy adult cats. *Veterinary dermatology*, 27(5), 370-e92.
- Halliwell, R. 2006.** Revised nomenclature for veterinary allergy. *Veterinary*

Immunology and Immunopathology, 114: 207–208.

**Harper, D. 2000.** Thermography in veterinary medicine. *Inframation*, 1: 1-2

**Hastings, R.C.; Brand, P.W.; Mansfield, R.E.; Ebner, R.D. 1968.** Bacterial density in the skin in lepromatous leprosy as related to temperature. *Leprosy Review*, 39: 71–

**Hensel, P.; Austel, M.; Medleau, L.; Zhao, Y.; Vidyashankar, A. 2004.** Determination of threshold concentrations of allergens and evaluation of two different histamine concentrations in canine intradermal testing. *Veterinary dermatology*, 15(5), 304-308.

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

**Hillier, A.; DeBoer, D.J. 2001.** The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81: 289-304.

**Infernuso, T.; Loughin, C.A.; Marino, D.J.; Umbaugh, S.E.; Solt, P.S. 2010.** Thermal Imaging Of Normal and Cruciate ligament-deficiency stifles in dogs. *Veterinary Surgery*, 39: 410-417

**Jiang, G.; Shang, Z.; Zhang, M.** Metabolism parameter analysis of diabetics based on the thermography. In: *Proceeding of the 24th Annual Conference and the Annual Fall Meeting of the Biomedical Engineering Society EMBS/BMES Conference, 2002; Honolulu: Havaí; p. 2226–2227.*

**Jiang, L.J.; Ng, E.Y.; Yeo, A.C.; Wu, S.; Pan, F.; Yau, W.Y.; Chen, J.H.; Yang, Y. 2005.** A perspective on medical infrared imaging. *Journal of Medical Engineering & Technology*, 29: 257–267.

**Kastelic, J.P.; Cook, R.B.; Coulter, G.H.; Wallins, G.L.; Entz, T. 1996.** Environmental factors affecting measurement of bovine scrotal surface temperature with infrared thermography. *Animal Reproduction Science*, 41: 153- 159.

**Kennedy, D.; Lee, T.; Seely, D. 2009.** A comparative review of thermography as a breast screening technique. *Integrative Cancer Therapies*, 8: 9–16.

- Knobel, R.B.; Guenther, B.D.; Rice, H.E. 2011.** Thermoregulation and thermography in neonatal physiology and disease. *Biological Research for Nursing*, 13: 274–282.
- Lamminen, H.; Voipio, V. 2008.** Computer-aided skin prick test. *Experimental dermatology*, 17; 975-976.
- Liccardi, G., D Amato, G., Canonica, G. W., Salzillo, A., Piccolo, A., & Passalacqua, G. 2006.** Systemic reactions from skin testing: literature review. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 16(2), 75.
- Loughin, C.A.; Marino, D.J. 2007.** Evaluation of thermographic imaging of the limbs of healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 68: 1064-1069.
- Madjid, M.; Willerson, J.T.; Casscells, S.W. 2006.** Intracoronary thermography for detection of high-risk vulnerable plaques. *Journal of the American College of Cardiology* 47: C80–C85.
- Marsella, R.; Olivry, T.; Carlotti, D.N. 2011.** Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatites. *Veterinary Dermatology*, 22: 239–248.
- Marino, D.J.; Loughin, C.A. 2010.** Diagnostic Imaging of Canine Stifle: a Review. *Veterinary Surgery*, 39:284-295.
- Mason, B.R. Graff, A.J. Pegg, S.P. 1981.** Colour thermography in the diagnosis of the depth of burn injury. *Burns* 7: 197–202.
- Melo, Samanta Rios.** Fatores prognósticos em mastocitoma canino: Correlação entre parâmetros clínicos, histológicos, marcadores de proliferação e análise termográfica [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2013 [citado 2018-03-20]. doi:10.11606/D.10.2013.tde-22112013-110438.
- Menczer, J.; Eskin, B.A. 1969.** Evaluation of postpartum breast engorgement by thermography. *Obstetrics and Gynecology*, 33: 260-263.
- Mercer, J.B.; Nielsen, S.P.; Hoffmann, G. 2008.** Improvement of wound healing by water-filtered infrared-A (wIRA) in patients with chronic venous stasis ulcers of the lower legs including evaluation using infrared thermography. *German Medical Science*, 6: 1–26.

**Miller, W.H.; Griffin, C.E.; Campbell, K.L. 2013.** Hipersensitivity Disorders In: \_\_\_\_\_. Muller & Kirk's small animal dermatology, 7. ed. St. Louis: Elsevier Mosby. P.363-431.

**Mueller, R. S. 2019.** Update on Allergen Immunotherapy. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 49 (1):1–7.

**Ng, E.Y.K. 2009.** A review of thermography as promising non-invasive detection modality for breast tumor. *International Journal of Thermal Sciences*, 48:849–859.

**Ng,W.K.; Ng, Y.K.; Tan, Y.K. 2009.** Qualitative study of sexual functioning in couples with erectile dysfunction: prospective evaluation of the thermographic diagnostic system. *Journal of Reproductive Medicine*, 54: 698–705.

**Nogueira, F.R.B.; Sousa B.B.; Carvalho, M.G.X.; Junior, F.G.; Marques, A.V.M.S.; Leite, R.F. 2013.** Termografia infravermelha: uma ferramenta para auxiliar no diagnóstico e prognóstico de mastite em ovelha. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35:289-297.

**Nowakowski, A.Z.** Advances of quantitative IR-thermal imaging. In: *Medical diagnostics 8th International Conference, 2006; QIRT: Padova*. P 1-3.

**Olivry, T.; Deboer, D.J.; Favrot, C.; Jackson, H.A.; Mueller, R.S.; Nuttall,T.; Prélaud, P. 2010.** Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 21: 233–248.

**Olivry, T.; Saridomichelakis, M. 2013.** Evidence-based guidelines for anti-allergic drug withdrawal times before allergen-specific intradermal and IgE serological tests in dogs. *Veterinary Dermatology*, v. 24, n. 2.

**Olivry, T., DeBoer, D. J., Favrot, C., Jackson, H. A., Mueller, R. S., Nuttall, T., & Prélaud, P. 2015.** Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). *BMC veterinary research*, 11, 210.

**Reis, F. R.; Barreira, A.P.B.; Castro, V.; Castro, J.L.C.; Suzano, S.M.C.; Rocha, A.A. 2010.** Indícios sobre a correlação entre diferentes métodos diagnósticos em casos de tumor de mama em cadelas. *Revista Eletrônica Novo Enfoque*, 09:14 – 31

- Ring, E.F.J.; Collins, A.J.; Bacon, P.A.; Cosh, J.A. 1974.** Quantitation of thermography in arthritis using multi-isothermal analysis II. Effect of nonsteroidal antiinflammatory therapy on the thermographic index. *Annals of the Rheumatic Diseases* 33: 353–356.
- Ring, E.F.J. 2006.** The historical development of thermometry and thermal imaging in medicine. *Journal of Medical Engineering & Technology*, 30, 4: 192 – 198.
- Rizzo, M., Arfuso, F., Alberghina, D., Giudice, E., Giancesella, M., & Piccione, G. 2017.** Monitoring changes in body surface temperature associated with treadmill exercise in dogs by use of infrared methodology. *Journal of thermal biology*, 69: 64-68.
- Roberto, J.V.B.; Souza B.B. 2014.** Utilização da termografia de infravermelho na medicina veterinária e na produção animal. *Journal Animal Behavior Biometeorology*, 2:73-84
- Roberto, J.V.B.; Souza B.B.; Furtado, D.A.; Delfino, L.J.B.; Marques B.A.A. 2014.** Gradientes térmicos e respostas fisiológicas de caprinos no semiárido brasileiro utilizando a termografia infravermelha. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 2:11-19.
- Rok, T.; Rokita, E.; Tatoń, G.; Guzik, T.; Śliwa, T. 2016.** Thermographic assessment of skin prick tests in comparison with the routine evaluation methods. *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii*, 33:3- 193.
- Rokita E., Rok T., Tatoń G. 2009.** Thermographic measurements of allergen-induced skin reactions. In: Dössel O., Schlegel W.C. (eds) *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering*, Munich, Germany. IFMBE Proceedings, 25:13.
- Rossi, M.A.; Messinger, L.; Olivry, T.; Hoontrakoon, R. 2013.** A pilot study of the validation of percutaneous testing in cats. *Veterinary Dermatology*, 24: 488–e115
- Schiavenato, M.; Thiele, R.G. 2012.** Thermography detects subclinical inflammation in chronic tophaceous gout. *Journal of Rheumatology*, 39:182–183.
- Schnell, H.M.; Zaspel, J.G. 2008.** Cooling extensive burns: sprayed coolants can improve initial cooling management – a thermography-based study, *Burns*, 34: 505–508.

**Scott, D. W., Miller, W. H.; Griffin, C. E. 2001.** Skin immune system and allergic skin diseases. In Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. 6th edn. W. B. Saunders, p. 543-666.

**Tan, J.H.; Ng E.Y.K.; Acharya, U.R.; Chee, C. 2009.** Infrared thermography on ocular surface temperature: a review. *Infrared Physics & Technology*, 52: 97–108.

**Thurmond, R. L.; Gelfand, E. W.; Dunford, P. J. 2008.** The role of histamine H 1 and H 4 receptors in allergic inflammation: the search for new antihistamines. *Nature reviews Drug discovery*, 7(1) 41.

**Travain, T., Colombo, E. S., Heinzl, E., Bellucci, D., Previde, E. P., & Valsecchi, P. 2015.** Hot dogs: Thermography in the assessment of stress in dogs (*Canis familiaris*)—A pilot study. *Journal of veterinary behavior*, 10: 17-23

**Wu, C.L.; Yu, K.L.; Chuang, H.Y.; Huang, M.H.; Chen, T.W.; Chen, C.H. 2009.** The application of infrared thermography in the assessment of patients with coccygodynia before and after manual therapy combined with diathermy. *Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics*, 32: 287–293.

## APÊNDICE

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Na sua cópia consta o telefone e endereço institucional do pesquisador principal, de modo que você poderá tirar suas dúvidas sobre o projeto e a participação do seu cão, agora ou a qualquer momento. Em caso de recusa ou desistência você não será penalizado(a) de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pelo telefone (51) 3308 – 3738 ou pelo e-mail ceua@propesq.ufrgs.br.

### INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

**Título do projeto:** Uso da termografia para avaliação da reação cutânea induzida pela histamina em cães: estudo exploratório.

**Pesquisador responsável:** Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi – Professor associado do Departamento de Medicina Animal da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e coordenador do projeto.

**Endereço:** Av. Bento Gonçalves, 9090 – Agronomia, Porto Alegre/RS  
CEP: 91540-000  
Telefone: 51 3308-6922

**E-mail:** [daniel.gerardi@ufrgs.br](mailto:daniel.gerardi@ufrgs.br)

**Aluna responsável:** Juliana de Oliveira Dhein – Médica Veterinária, aluna de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (PPGCV-UFRGS).

**Telefone para contato:** (51) 993038170

**E-mail:** [dheinjuliana@gmail.com](mailto:dheinjuliana@gmail.com)

Seu cão está sendo convidado para participar da pesquisa: “Uso da termografia para avaliação da reação cutânea induzida pela histamina em cães: estudo exploratório.”.

Seu cão foi selecionado e a participação do mesmo não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir e retirar seu consentimento para o seu cão fazer parte da pesquisa. Sua recusa não trará nenhum prejuízo na relação do seu animal com o pesquisador ou com a instituição. O objetivo deste projeto é detectar alterações na temperatura cutânea induzida pela aplicação de histamina por via transdérmica e percutânea em cães através da imagem termográfica.

Seu cão será fotografado com câmera de imagem infravermelha antes da tricotomia (remoção dos pelos por meio de máquina de tosa ou lâmina de barbear) 15 minutos após a remoção (antes da aplicação da histamina e solução salina por via transdérmica e percutânea) e após a aplicação, a cada 3 minutos, durante 15 minutos.

Não há riscos à saúde do seu cão relacionado com a participação na pesquisa, sendo todos os procedimentos realizados classificados de grau de severidade leve, conforme documentação acessória fornecida pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRGS (CEUA-UFRGS). Podem ocorrer reações locais de irritação prolongadas, caso isto ocorra será fornecida pomada de corticosteroide para aplicação e acompanhamento veterinário da resolução.

Você terá a garantia de sigilo das informações obtidas bem como o direito de retirar o consentimento a qualquer tempo.

#### CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, \_\_\_\_\_,  
RG \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo  
assinado, proprietário do canino da raça \_\_\_\_\_, sexo \_\_\_\_\_, idade  
\_\_\_\_\_, denominado de \_\_\_\_\_, ficha HCV \_\_\_\_\_, concordo em ceder  
meu animal para participar do projeto “Uso da termografia para avaliação da reação cutânea  
induzida pela histamina em cães: estudo exploratório”.

Bem como o registro fotográfico do mesmo. Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios da participação do meu cão e que fui devidamente informado e esclarecido pela mestrandia pesquisadora JULIANA DE OLIVEIRA DHEIN sobre a pesquisa e os procedimentos nela envolvidos. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção do acompanhamento do meu animal.

Porto Alegre, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_.

---

Assinatura do proprietário

Assinatura do aluno (mestrando)

---

Assinatura do orientador (pesquisador responsável)

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Na sua cópia consta o telefone e endereço institucional do pesquisador principal, de modo que você poderá tirar suas dúvidas sobre o projeto e a participação do seu cão, agora ou a qualquer momento. Em caso de recusa ou desistência você não será penalizado(a) de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pelo telefone (51) 3308 – 3738 ou pelo e-mail ceua@propesq.ufrgs.br.

#### INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

**Título do projeto:** “Uso da termografia para avaliação da reação cutânea induzida pela histamina em cães: estudo exploratório”..

**Pesquisador responsável:** Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi – Professor associado do Departamento de Medicina Animal da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e coordenador do projeto.

**Endereço:** Av. Bento Gonçalves, 9090 – Agronomia, Porto Alegre/RS

CEP: 91540-000

Telefone: 51 3308-6922

**E-mail:** [daniel.gerardi@ufrgs.br](mailto:daniel.gerardi@ufrgs.br)

**Aluna responsável:** Juliana de Oliveira Dhein – Médica Veterinária, aluna de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (PPGCV-UFRGS).

**Telefone para contato:** (51) 993038170

**E-mail:** [dheinjuliana@gmail.com](mailto:dheinjuliana@gmail.com)

O cão sob sua tutela está sendo convidado para participar da pesquisa: “Uso da termografia para avaliação da reação cutânea induzida pela histamina em cães: estudo exploratório”.”.

O cão sob sua tutela foi selecionado e a participação do mesmo não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir e retirar seu consentimento para o seu cão fazer parte da pesquisa. Sua recusa não trará nenhum prejuízo na relação do seu animal com o pesquisador ou com a instituição. O objetivo deste projeto é detectar alterações na temperatura cutânea induzida pela aplicação de histamina por via transdérmica e percutânea em cães através da imagem termográfica.

O cão sob sua tutela será fotografado com câmera de imagem infravermelha antes da tricotomia (remoção dos pelos por meio de máquina de tosa ou lâmina de barbear) 15 minutos após a remoção (antes da aplicação da histamina e solução salina por via transdérmica e percutânea) e após a aplicação, a cada 3 minutos, durante 15 minutos.

Não há riscos à saúde do cão relacionado com a participação na pesquisa, sendo todos os procedimentos realizados classificados de grau de severidade leve, conforme documentação acessória fornecida pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRGS (CEUA-UFRGS). Podem ocorrer reações locais de irritação prolongadas, caso isto ocorra será fornecida pomada de corticosteroide para aplicação e acompanhamento veterinário da resolução.

Você terá a garantia de sigilo das informações obtidas bem como o direito de retirar o consentimento a qualquer tempo.

#### TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE PARTICIPAÇÃO:

Eu, \_\_\_\_\_,  
RG \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo  
assinado, responsável pela instituição \_\_\_\_\_, autorizo que os  
cães presentes nesta instituição, atualmente sob minha responsabilidade, participem do  
projeto “Uso da termografia para avaliação da reação cutânea induzida pela histamina em  
cães: estudo exploratório”.”. Bem como o registro fotográfico do mesmo.

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios da participação dos cães e que fui devidamente informado e esclarecido pela mestranda pesquisadora JULIANA DE OLIVEIRA DHEIN sobre a pesquisa e os procedimentos nela envolvidos. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção do acompanhamento dos animais.

Porto Alegre, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_.

---

Assinatura do responsável

---

Assinatura do aluno (mestrando)

---

Assinatura do orientador (pesquisador responsável)