

Reactividade cutânea inespecífica em estudos populacionais*

MÁRIO MORAIS DE ALMEIDA¹, ÂNGELA GASPAR², ANA ROMEIRA², GRAÇA SAMPAIO², CÉU TEIXEIRA³, RITA CÂMARA⁴, ANA MARQUES⁵, DULCE LOPES⁶, KIM MUI IEONG⁷, ISABEL ANDRADE⁷, NUNO ANDRADE⁷, CRISTINA SANTA MARTA¹, GRAÇA PIRES¹, JORGE ROMEIRA⁸, NUNO NEUPARTH¹, FERNANDO DRUMMOND BORGES⁹, JORGE HUMBERTO¹⁰, JOSÉ ROSADO PINTO¹¹

RESUMO

Os testes cutâneos por *prick* constituem o método diagnóstico de eleição no estudo da sensibilização alérgica, sendo no entanto influenciados por diversos factores. Não se encontram disponíveis dados sobre a quantificação da reactividade cutânea inespecífica em estudos populacionais pediátricos, incluindo amostras de raças diversas.

Objectivo: Avaliar e correlacionar a reactividade cutânea à histamina em crianças de diferentes raças, bem como a possível influência de factores como o sexo e a atopia.

Material e Métodos: Englobado no Estudo Português de Doenças Alérgicas na Criança (*PAC Study*), foram estudadas 1710 crianças em idade escolar (6 a 12 anos), 244 de raça Negra na República de Cabo Verde, 756 Caucásicas na Ilha da Madeira e 710 de raça Chinesa em Macau. A todas as crianças foram efectuados testes cutâneos por *prick* com aeroalergenos, utilizando como referência positiva um extracto de histamina a 10mg/ml (Merck Allergopharma). Foi efectuada análise comparativa do diâmetro médio da pápula induzida pela histamina.

Resultados: Encontraram-se diferenças estatisticamente significativas nos diâmetros médios das pápulas induzidas pela histamina nas várias populações estudadas ($p < 0.0001$), correspondendo a um valor médio ($\pm DP$) de: Macau - 3.58 (± 1.01) mm; Cabo Verde - 3.91 (± 1.08) mm; Madeira - 6.36 (± 1.43) mm. As crianças atópicas apresentaram uma maior reactividade cutânea à histamina, com significado estatístico ($p < 0.008$). Comparando a reactividade cutânea entre as crianças atópicas das várias populações, verificou-se que as diferenças encontradas mantinham-se significativas ($p < 0.006$). A reactividade cutânea por sexos não revelou diferenças, em todas as populações ($p > 0.14$).

Conclusões: Demonstrou-se que a reactividade cutânea inespecífica é influenciada pela atopia e por factores raciais, independentemente da sensibilização alérgica. A reactividade cutânea é independente da variável sexo, sendo superior nas crianças atópicas e na população Caucásica.

Palavras-Chave: Reactividade cutânea inespecífica, Testes cutâneos por *prick*, Epidemiologia, Raça, Atopia, Sexo.

ABSTRACT

NONSPECIFIC SKIN REACTIVITY IN EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

The skin prick tests represent in allergy practice the major diagnostic tool of allergenic sensitisation, although they are influenced by various factors. There are no studies concerning the quantification of skin test reactivity to histamine in paediatric populations including different races.

Purpose: *The aim of this work was to determine and to correlate the cutaneous reactivity to histamine in children with different races, as well as the possible influence of atopy and gender.*

Material and Methods: *Included in an epidemiological study of childhood allergic diseases in Portuguese speaking regions (PAC Study), we studied 1710 school-children (aged 6 to 12 years), 244 of ethnic Black in Cape*

¹ Assistente Hospitalar de Imunoalergologia do Hospital de Dona Estefânia

² Interna do Internato Complementar de Imunoalergologia do Hospital de Dona Estefânia

³ Interna do Internato Complementar de Imunoalergologia da República de Cabo Verde

⁴ Assistente Hospitalar de Imunoalergologia do Centro Hospitalar do Funchal

⁵ Consultora de Pediatria do Centro Hospitalar do Funchal

⁶ Assistente Hospitalar de Medicina Interna do Hospital Dr Baptista de Sousa, República de Cabo Verde

⁷ Assistente Hospitalar de Pediatria do Centro Hospitalar Conde São Januário, Macau, China

⁸ Consultor de Medicina Interna do Centro Hospitalar do Funchal

⁹ Director da Unidade de Imunoalergologia do Centro Hospitalar do Funchal

¹⁰ Director do Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar Conde São Januário, Macau, China

¹¹ Director do Serviço de Imunoalergologia do Hospital de Dona Estefânia

* A este trabalho foi atribuído o 1.º Prémio SPAIC / UCB 2000.

Verde Republic, 756 Caucasians in Madeira Island and 710 of ethnic Chinese in Macau. All the children performed skin prick tests with aeroallergens, with histamine extract in 10mg/ml concentration as positive reference (Merck Allergopharma). A comparative analysis of the mean wheal diameter induced by histamine was done.

Results: We found statistically significant differences between the mean diameters of induced wheal reactions to histamine in the studied samples ($p < 0.0001$), with a mean value ($\pm SD$) of: Macau - 3.58 (± 1.01) mm; Cape Verde - 3.91 (± 1.08) mm; Madeira - 6.36 (± 1.43) mm. The atopic children have significantly higher cutaneous reactivity to histamine ($p < 0.008$). The differences found among the studied populations remained significant between the atopic children ($p < 0.006$). No sex difference was found ($p > 0.14$).

Conclusions: The cutaneous reactivity to histamine is influenced by atopy and racial factors, independently of allergenic sensitisation. The skin test reactivity is independent of sex and is higher in atopic children and in Caucasian populations.

Key-Words: Nonspecific skin reactivity, Skin prick tests, Epidemiology, Race, Atopy, Gender.

INTRODUÇÃO

A utilização dos testes cutâneos por *prick* ou picada, como método de diagnóstico *in vivo*, assume-se desde os primórdios da prática imunoalergológica como o meio mais simples para a identificação, se existente, do alérgeno sensibilizante. A introdução do alérgeno nas camadas superficiais da pele leva ao aparecimento de uma reacção imediata, dependente da desgranulação dos mastócitos¹ e envolvendo também factores neurogénicos,² com libertação de histamina e outros mediadores originando uma resposta de pápula e eritema (máxima aos 15 minutos, com desaparecimento aos 30 minutos). Numa pequena percentagem de indivíduos pode também ocorrer uma resposta tardia (6 a 24 horas após), correspondendo a uma infiltração celular por células mononucleadas e também por eosinófilos, basófilos e neutrófilos;³ esta reacção não tem, na maioria dos casos, expressão macroscópica.

Embora tenha sido Charles Blackley,⁴ em 1865, o primeiro autor a descrever a utilização dos testes cutâneos por arranhadura (*scratch*) no diagnóstico das sensibilizações a pólenes, foi de facto Lewis⁵ que em 1924 introduziu os testes cutâneos por *prick*. Na prática clínica, o método manteve-se pouco divulgado até há cerca de 20 anos, quando os trabalhos publicados por Pepys,⁶ versando a modificação da técnica, melhorando a sua fiabilidade e reproductibilidade, vieram dar um impulso fundamental elevando os testes cutâneos por *prick* à qualidade de *gold standard*, primeiro passo no estudo das sensibilizações alérgicas quer em crianças quer em adultos.^{3,7,8}

A facilidade de execução, rapidez de obtenção de resultados, segurança e baixo custo dos testes cutâneos por *prick*, contrasta com a execução dos testes intradérmicos, mais invasivos, menos específicos e com um risco de ocorrência de reacções adversas graves em até 2% dos casos, o que deverá contra-indicar a sua utilização por rotina.^{3,8}

A identificação do alérgeno suspeito, poderá obviamente ser também efectuada por métodos *in vitro*, que permitem determinar as concentrações de IgE específica para o alérgeno em causa.³ No entanto, devido à sua menor sensibilidade e ao seu custo, a sua utilização deverá ser reservada para os casos de limitação à execução dos testes cutâneos ou para a tentativa de esclarecimento de casos discordantes ou duvidosos.

Os testes cutâneos por *prick* são, no entanto, influenciados por diversos factores, que podem determinar os resultados e condicionar a precisão dos mesmos. Os factores que podem interferir com a qualidade do método podem agrupar-se, segundo Dreborg,⁹ em três tipos: factores técnicos, factores biológicos e factores externos não alérgicos. A influência dos factores biológicos, não controláveis pelo utilizador, tais como idade e sexo do indivíduo e existência de sensibilização alérgica, tem sido largamente estudada por vários autores.¹⁰⁻²¹ A raça poderá ser um outro factor determinante, não existindo no entanto disponíveis dados sobre a quantificação da reactividade cutânea inespecífica em estudos populacionais significativos incluindo amostras de raças diversas.

Foram objectivos deste estudo avaliar e correlacionar a reactividade cutânea inespecífica em crianças de diferentes raças, bem como a possível influência de factores como o sexo e a atopia, através da realização de testes cutâneos por *prick* com histamina numa concentração de 10mg/ml.

MATERIAL E MÉTODOS

População

Englobado no **Estudo Português de Doenças Alérgicas na Criança (PAC Study)**²² cujos aspectos gerais se sintetizam no anexo, foram estudadas 1710 crianças em idade escolar, com idades compreendidas entre os 6 e os 12 anos, residentes em regiões de língua portuguesa pertencentes a três continentes: na Ilha da Madeira (Portugal, Europa), na República de Cabo Verde (África) e em Macau (China, Ásia), região asiática sob administração portuguesa desde 1557 até Dezembro de 1999.

Na Ilha da Madeira foi incluída uma amostra de 756 crianças, todas de raça Caucásica, de um total de 18.000 neste grupo etário. Na República de Cabo Verde foram seleccionadas 244 crianças de raça Negra, de um total de 10.300 neste grupo etário. Em Macau foram estudadas 710 crianças, todas de raça Chinesa, de um total de 35.000 neste grupo etário.

Todas as crianças efectuaram testes cutâneos por *prick*. Em todos os casos foi obtido o consentimento dos pais ou responsáveis para a participação das crianças no estudo.

Metodologia dos testes cutâneos

Os testes cutâneos por *prick* foram efectuados por uma equipa médica treinada na realização dos mesmos, respeitando os períodos de evicção habitualmente recomendados para os medicamentos relevantes³ e utilizando sempre a mesma metodologia.

Foram realizados na face anterior dos antebraços, respeitando uma distância mínima de 3cm em relação às articulações do punho e do cotovelo. Os extractos foram colocados a uma distância mínima de 2cm entre cada extracto alergénico e 3cm para a referência positiva, sem contaminação das gotas de cada alergeno e limpeza do excesso após a aplicação da lanceta.^{23,24}

Como referência positiva foi utilizado o extracto de cloridrato de histamina na concentração de 10mg/ml (Merck Allergopharma),^{25,26} obtendo-se 100% de resultados positivos (diâmetro médio da pápula variando de 2 a 19.5mm). Como referência negativa foi utilizada uma solução de fenol a 0.5%, não se tendo obtido em nenhum caso pápulas mensuráveis.

Foram utilizados extractos alergénicos standardizados para aeroalergenos comuns: ácaros do pó doméstico (*Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae*), ácaros de armazenamento (*Thyrophagus putrescentiae*, *Acarus siro* e *Lepidoglyphus destructor*), cão, gato, mistura de fungos, mistura de pólenes de gramíneas e árvores (Merck Allergopharma) e baratas (*Blatella germanica*, *Periplaneta americana* e *Blatta orientalis*, CBF Leti).

Os testes cutâneos foram efectuados com lancetas metálicas do tipo Morrow-Brown de aplicação perpendicular na pele com 1mm de penetração (Prick Lancetter - Dome Hollister Stier),²⁷ com utilização de uma lanceta para cada extracto, obviando a ocorrência do fenómeno de arrastamento do alergeno (*carryover*).⁹

A leitura dos resultados foi efectuada aos 15 minutos, avaliando-se apenas a área das pápulas, não considerando a área de eritema, tal como proposto por outros autores.⁹ A transcrição dos resultados foi efectuada por delimitação com marcador fino para adesivo poroso e colagem em papel para arquivo permanente.

Definiu-se **atopia** pela existência de pelo menos um teste cutâneo positivo para aeroalergenos comuns (diâmetro médio da pápula ≥ 3 mm).^{6,8,9}

Análise estatística

Foi efectuada análise comparativa do diâmetro médio da pápula induzida pela histamina pelo **teste t de Student**, para amostras não emparelhadas, significativo se $p < 0.05$.

RESULTADOS

Encontraram-se diferenças estatisticamente significativas nos diâmetros médios das pápulas induzidas pela histamina nas populações estudadas de diferentes raças ($p < 0.0001$), correspondendo a um valor médio ($\pm DP$) de 3.58 (± 1.01) mm em Macau (raça Chinesa), 3.91 (± 1.08) mm na República de Cabo Verde (raça Negra) e 6.36 (± 1.43) mm na Ilha da Madeira (raça Caucasiana), conforme documentado na tabela 1.

Tabela 1 - Reactividade cutânea à histamina nas populações estudadas de diferentes raças (comparação dos diâmetros médios da pápula induzida pela histamina).

Região	N	Diâmetro médio (histamina) Média ($\pm DP$)	p
Macau	710	3.58 (± 1.01) mm	<0.0001
Cabo Verde	244	3.91 (± 1.08) mm	
Madeira	756	6.36 (± 1.43) mm	

A população de raça Caucasiana (Ilha da Madeira) revelou a maior reactividade cutânea inespecífica (figura),

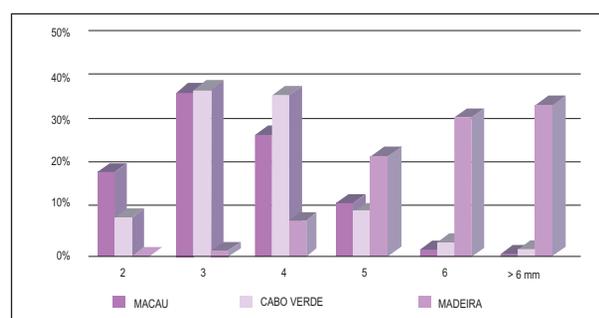


Figura - Influência da variável raça na reactividade cutânea à histamina. Diâmetro médio da pápula induzida pela histamina nas populações estudadas de diferentes raças: Chinesa (Macau), Negra (República de Cabo Verde) e Caucasiana (Ilha da Madeira).

apresentando a maioria destas crianças um diâmetro médio da pápula induzida pela histamina superior ou igual a 6mm (67%), comparativamente às populações de raça não Caucasiana, apenas 5% nas crianças de raça Negra (Cabo Verde) e 2% nas crianças de raça Chinesa (Macau). A população de raça Chinesa (Macau) revelou a menor reactividade cutânea inespecífica, apresentando a maioria destas crianças um diâmetro médio da pápula induzida pela histamina inferior ou igual a 3mm (57%), comparativamente às populações de raça Negra (48%) e Caucasiana (2%).

Relativamente à variável sexo, não se encontraram diferenças com significado estatístico ($p > 0.14$) nos diâmetros médios das pápulas induzidas pela histamina nas crianças do sexo masculino e feminino, nas várias populações estudadas (tabela 2).

Relativamente à variável atopia, as crianças atópicas apresentaram uma maior reactividade cutânea à histamina,

Tabela 2 - Reactividade cutânea à histamina nas crianças do sexo masculino e feminino, nas três populações estudadas (comparação dos diâmetros médios da pápula induzida pela histamina).

Região	Sexo Masculino		Sexo Feminino		p
	N	Média (± DP)	N	Média (± DP)	
Macau	405	3.59 (±1.06) mm	305	3.58 (±0.95) mm	0.46
Cabo Verde	106	3.83 (±1.05) mm	138	3.97 (±1.10) mm	0.15
Madeira	373	6.32 (±1.36) mm	383	3.83 (±1.49) mm	0.28

com significado estatístico ($p < 0.008$), nas populações estudadas (tabela 3).

Tabela 3 - Reactividade cutânea à histamina nas crianças atópicas e não atópicas, nas três populações estudadas (comparação dos diâmetros médios da pápula induzida pela histamina)

Região	Atópicos		Não Atópicos		p
	N	Média (± DP)	N	Média (± DP)	
Macau	346	3.79 (±1.03) mm	364	3.39 (±0.96) mm	<0.0001
Cabo Verde	78	4.15 (±1.0) mm	166	3.79 (±1.09) mm	<0.007
Madeira	582	6.60 (±1.46) mm	174	5.59 (±0.99) mm	<0.0001

Pretendendo esclarecer se as diferenças raciais encontradas poderiam ser influenciadas pelo factor atopia comparámos a reactividade cutânea inespecífica à histamina entre as crianças atópicas das várias populações estudadas. As diferenças encontradas nos diâmetros médios das pápulas induzidas pela histamina mantinham-se significativas ($p < 0.006$), correspondendo a um valor médio (±DP) de 3.79 (±1.03) mm nas crianças atópicas de raça Chinesa (Macau), 4.15 (±1.00) mm nas crianças atópicas de raça Negra (Cabo Verde) e 6.60 (±1.46) mm nas crianças atópicas de raça Caucasiana (Ilha da Madeira), conforme documentado na tabela 4.

Tabela 4 - Reactividade cutânea à histamina nas crianças atópicas de diferentes raças (comparação dos diâmetros médios da pápula induzida pela histamina).

Região	Atópico (n)	Diâmetro médio (histamina) Média (± DP)	p
Macau	346	3.39 (±0.96) mm	
Cabo Verde	78	3.79 (±1.09) mm	<0.006
Madeira	582	5.59 (±0.99) mm	

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo, englobando um total de 1710 crianças em idade escolar, permitem concluir que a reactividade cutânea inespecífica à histamina é influenciada pela variável atopia e por factores raciais, sendo superior nas crianças atópicas e na população Caucasiana. A reactividade cutânea revelou-se independente da variável sexo.

Os testes cutâneos por *prick* constituem o método diagnóstico de eleição no estudo da sensibilização alérgica, quer em adultos quer em idade pediátrica, pela facilidade de execução, rapidez de obtenção de resultados, segurança, baixo custo e elevada sensibilidade.^{3,8}

Os testes cutâneos podem, no entanto, ser influenciados por uma série de variáveis que poderão agrupar-se em: factores técnicos, factores biológicos e factores externos não alérgicos.⁹ Os factores técnicos estão relacionados com a preparação do alergeno (potência, qualidade, composição e estabilidade) e com a metodologia do teste.^{3,9} Os factores externos não alérgicos incluem a medicação actual (principalmente anti-histamínicos H₁, ketotifeno e antidepressivos tricíclicos)²⁸⁻³⁰ e condições patológicas intercorrentes que segundo alguns autores também poderão diminuir a reactividade cutânea, tais como insuficiência renal crónica em hemodiálise, neoplasias, exacerbação de eczema e mesmo infecções intercorrentes.³¹⁻³⁴

No nosso trabalho, a possível influência destes factores na interpretação dos testes cutâneos foi obviada pela utilização da mesma metodologia, previamente normalizada,³⁵ em todas as crianças estudadas. O treino e a utilização de uma mesma equipa na execução dos testes cutâneos por *prick* permitiu também uma redução significativa na variação dos resultados.^{36,37}

Os factores biológicos, não controláveis pelo utilizador, tais como existência de sensibilização alérgica, idade e sexo do indivíduo têm sido largamente estudados.¹⁰⁻²¹ No entanto, à excepção da variável idade, resultados discordantes têm sido encontrados pelos vários autores.

Outros factores biológicos, tais como variação circadiana e variação sazonal relacionada com exposição alérgica, poderão ocasionar variações intra-individuais na reactividade cutânea inespecífica, não tendo repercussão em estudos populacionais pelo que não foram objecto deste estudo. A variação circadiana da reactividade cutânea é mínima, não afectando a interpretação clínica dos testes.³⁸⁻⁴⁰ Foi demonstrada existência de variação sazonal na alergia a pólenes,^{41,42} constatando-se um aumento da reactividade cutânea com a época polínica, para os aeroalergenos implicados.

É um facto bem documentado que a reactividade cutânea varia com a idade do indivíduo. Vários estudos têm demonstrado que a reactividade cutânea inespecífica aumenta com a idade, sendo menor na criança que no adulto,^{11,12,14,16,18,21} particularmente antes dos dois anos de idade.^{12,14} Skassa-Brociek et al¹⁶ em 365 indivíduos, com idades compreendidas entre 1 e 85 anos, estudaram a influência da idade na reactividade cutânea específica e inespecífica constatando que o diâmetro médio das pápulas aumentava significativamente até aos 20 anos e diminuía após os 60 anos.

No nosso estudo a influência do factor idade foi anulada pelo facto de todos os indivíduos estudados pertencerem ao mesmo grupo etário, com idades compreendidas entre os 6 e os 12 anos.

Segundo alguns autores a variável sexo também pode influenciar o resultado dos testes cutâneos por *prick*, encontrando uma maior reactividade cutânea à histamina em indivíduos do sexo masculino.^{10,13} Kalogeromitos et al⁽²⁰⁾ concluíram ainda, em 30 mulheres em idade fértil, que a reactividade cutânea varia com o período do ciclo menstrual, sendo superior nos 12º a 16º dias correspondendo à ovulação e aumento dos níveis de estrogénios, embora sem significado clínico.

Outros autores, pelo contrário, não encontraram diferenças na reactividade cutânea inespecífica entre sexos.^{16,18,19,21} De igual modo, no nosso trabalho não se encontraram diferenças com significado estatístico nos diâmetros médios das pápulas induzidas pela histamina nas crianças do sexo masculino e feminino, nas várias populações estudadas.

Van Asperen et al¹² em estudo efectuado em 78 crianças constataram que a existência de sensibilização alérgica influenciava a reactividade cutânea inespecífica, tendo encontrado uma maior reactividade à histamina nas crianças atópicas comparativamente às não atópicas. Malling¹⁷ e Stuckey et al,¹⁵ respectivamente em 34 e em 893 indivíduos adultos, encontraram resultados sobreponíveis. Pelo contrário, outros autores concluíram que a reactividade cutânea à histamina não era influenciada pela variável atopia.^{16,20}

No nosso estudo, as crianças atópicas apresentaram uma maior reactividade cutânea inespecífica à histamina, com significado estatístico.

A possível influência do factor racial na reactividade cutânea inespecífica tem sido uma hipótese sugerida por alguns autores,^{43,44} no entanto na revisão bibliográfica efectuada encontrámos apenas um estudo no qual a importância desta variável é estudada. Van Niekerk et al⁽⁴⁴⁾ avaliaram a reactividade cutânea pela realização de testes intra-dérmicos com histamina, encontrando uma maior reactividade cutânea na raça Negra. Salientamos o facto de este trabalho ter sido efectuado com um número muito reduzido de indivíduos, 30 adultos de raça Caucasiana e 30 adultos de raça Negra.

No estudo epidemiológico por nós apresentado, englobando 1710 crianças de diferentes raças (Caucasiana, Chinesa e Negra), demonstrámos que a reactividade cutânea inespecífica é influenciada pela variável raça, independentemente da existência de sensibilização alérgica. A população de raça Caucasiana revelou uma maior reactividade cutânea à histamina, comparativamente às populações de raça não Caucasiana; entre estas, a população de raça Chinesa revelou uma menor reactividade cutânea inespecífica. O facto da avaliação ter sido efectuada em relação ao diâmetro médio da pápula induzida pela histamina e não do eritema, permite afastar a hipótese de

artefacto por uma menor visualização do eritema na pele não Caucasiana.

O conjunto de resultados obtidos, permite-nos reflectir sobre a qualidade dos testes cutâneos por *prick*, sem dúvida auxiliares fundamentais e insubstituíveis não só na investigação clínica de atopia, mas também na realização de projectos de investigação clínica, farmacológica, laboratorial ou epidemiológica.^{3,9,45,46} Contrastando com a facilidade de execução a adequada interpretação dos testes necessita de investigadores treinados capazes de reconhecerem e relacionarem os múltiplos factores passíveis de interferir com os resultados. A normalização é importante, em situações de rotina e principalmente na área de investigação, devendo ser sempre correctamente definido o método dos testes cutâneos que se utiliza.

No presente estudo, realizado em três continentes, concluímos da importância dos factores ligados à raça na interpretação dos resultados dos testes cutâneos por *prick*, não permitindo excluir que estilos de vida possam estar igualmente implicados, com consequências na programação de projectos de investigação epidemiológicos.

BIBLIOGRAFIA

1. Friedman MM, Kaliner M. Ultrastructural changes in human skin mast cells during antigen-induced degranulation in vivo. *J Allergy Clin Immunol.* 1988; 82: 998-1005.
2. Foreman JC. Substance P and calcitonin gene-related peptide: effects on mast cells and in human skin. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1987; 82: 366-71.
3. Position paper: Allergen standardization and skin tests. The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy.* 1993; 48: 48-82.
4. Blackley CH: Experimental researches on the causes and nature of catarrhus aestivus (hay-fever or hay-asthma). *Baillière, Tindall & Cox, London,* 1873.
5. Lewis J, Grant RT. Vascular reactions of the skin to injury. *Heart.* 1926; 13: 219-25.
6. Pepys J. Skin testing. *Br J Hosp Med.* 1975; 14: 412-7.
7. Nelson HS. Quality assurance in allergy skin testing. *Ann Allergy.* 1993; 71: 3-4.
8. Bernstein IL, Storms WW. Practice parameters for allergy diagnostic testing. Joint Task Force on Practice Parameters for the Diagnosis and Treatment of Asthma. The American Academy of Allergy, Asthma and Immunology and the American College of Allergy, Asthma and Immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1995; 75: 543-625.
9. Dreborg S. The skin prick test – Methodological studies and clinical applications. *Linköping University, Medical Dissertations.* No. 239. 1987: 8-41.
10. Haahela T, Björkstén F, Heiskala M, Suoniemi I. Skin prick test reactivity to common allergens in Finnish adolescents. *Allergy.* 1980; 35: 425-31.
11. Barbee RA, Brown WG, Kaltenborn W, Halonen M. Allergen skin-test reactivity in a community population sample: correlation with age, histamine skin reactions and total serum immunoglobulin E. *J Allergy Clin Immunol.* 1981; 68: 15-9.
12. Van Asperen PP, Kemp AS, Mellis CM. Skin test reactivity and clinical allergen sensitivity in infancy. *J Allergy Clin Immunol.* 1984; 73: 381-6.

13. **Freidhoff LR, Meyers DA, Marsh DG.** A genetic-epidemiologic study of human immune responsiveness to allergens in an industrial population. II. The association among skin sensitivity, total serum IgE, age, sex and the reporting of allergies in a stratified random sample. *J Allergy Clin Immunol.* 1984; 73: 490-9.
14. **Ménardo JL, Bousquet J, Rodière M, Astruc J, Michel FB.** Skin test reactivity in infancy. *J Allergy Clin Immunol.* 1985; 75: 646-51.
15. **Stuckey MS, Witt CS, Schmitt LH, Warlow R, Lattimore M, Dawkins RL.** Histamine sensitivity influences reactivity to allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 1985; 75: 373-6.
16. **Skassa-Brociek W, Manderscheid JC, Michel FB, Bousquet J.** Skin test reactivity to histamine from infancy to old age. *J Allergy Clin Immunol.* 1987; 80: 711-6.
17. **Malling HJ.** Quantitative skin prick testing. Dose-response of histamine and allergen-induced wheal reactions. *Allergy.* 1987; 42: 196-204.
18. **Lopez LR, Noriega Y, Losno R.** Immediate skin test reactivity to common aeroallergens in patients with respiratory allergies: a comparative analysis of allergen-induced skin reactions and their histamine controls. *J Allergy Clin Immunol.* 1988; 81: 1143-8.
19. **Atkins PC, von Allmen C, Valenzano M, Zweiman B.** The effects of gender on allergen-induced histamine release in ongoing allergic cutaneous reactions. *J Allergy Clin Immunol.* 1993; 91: 1031-4.
20. **Kalogeromitros D, Katsarou A, Armenaka M, Rigopoulos D, Zapanti M, Stratigos I.** Influence of the menstrual cycle on skin-prick test reactions to histamine, morphine and allergen. *Clin Exp Allergy.* 1995; 25: 461-6.
21. **Halász MR, Gonsales SL, Solé D, Naspitz CK.** Specific sensitization to Dermatophagoides pteronyssinus and cutaneous reactivity to histamine in Brazilian children. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 1997; 7:98-102.
22. **Morais de Almeida M, Rosado Pinto J.** Bronchial asthma in children: clinical and epidemiologic approach in different Portuguese speaking countries. *Pediatr Pulmonol Suppl.* 1999; 18: 49-53.
23. **Terho EO, Husman K, Kivekäs J, Riihimäki H.** Histamine control affects the wheal produced by the adjacent diluent control in skin prick tests. *Allergy.* 1989; 44: 30-2.
24. **Nelson HS, Knoetzer J, Bucher B.** Effect of distance between sites and region of the body on results of skin prick tests. *J Allergy Clin Immunol.* 1996; 97: 596-601.
25. **Malling HJ.** Skin prick testing and the use of histamine references. *Allergy.* 1984; 39: 596-601.
26. **Dreborg S, Holgersson M, Nilsson G, Zetterstrom O.** Dose response relationship of allergen, histamine, and histamine releasers in skin prick test and precision of the skin prick test method. *Allergy.* 1987; 42: 117-25.
27. **Morrow-Brown H.** Standardisation de la méthode du Prick à l'aide d'une aiguille de précision. *Rev Franç Allerg.* 1980; 20: 185-7.
28. **Sullivan TJ.** Pharmacologic modulation of the whealing response to histamine in human skin: identification of doxepin as a potent in vivo inhibitor. *J Allergy Clin Immunol.* 1982; 69: 260-7.
29. **Esau S, del Carpio J, Martin JG.** A comparison of the effects of ketotifen and clemastine on cutaneous and airway reactivity to histamine and allergen in atopic asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol.* 1984; 74: 270-4.
30. **Long WF, Taylor RJ, Wagner CJ, Leavengood DC, Nelson HS.** Skin test suppression by antihistamines and the development of subsensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 1985; 76: 113-7.
31. **Uehara M.** Reduced histamine reaction in atopic dermatitis. *Arch Dermatol.* 1982; 118: 244-5.
32. **Burtin C, Noirot C, Giroux C, Scheinmann P.** Decreased skin response to intradermal histamine in cancer patients. *J Allergy Clin Immunol.* 1986; 78: 83-9.
33. **Bousquet J, Maurice F, Rivory JP, et al.** Allergy in long-term hemodialysis. *J Allergy Clin Immunol.* 1988; 81: 605-10.
34. **Goldberg A, Korzets Z, Bernheim J, Mekori YA.** Cutaneous responses to histamine compound 48/80 and codeine in patients with chronic renal failure. *Ann Allergy* 1991; 67: 525-8.
35. **Morais de Almeida M, Pires G, Prates S, Santa Marta C, Leiria Pinto P, Abreu Nogueira J, Rosado Pinto J.** Testes cutâneos por *prick* - normalização e aplicações. *Rev. Port. Imunoalergol.* 1997; 4: 201-28.
36. **Aas K.** Some variables in skin prick testing. *Allergy.* 1980; 35: 250-2.
37. **Bousquet J, Michel FB.** Precision of prick and puncture tests. *J Allergy Clin Immunol.* 1992; 90: 870-2.
38. **Taudorf E, Malling HJ, Laursen LC, Lanner A, Weeke B.** Reproducibility of histamine skin prick test. Inter and intravariation using histamine dihydrochloride 1, 5 and 10 mg/ml. *Allergy.* 1985; 40: 344-9.
39. **Vichyanond P, Nelson HS.** Circadian variation of skin reactivity and allergy skin tests. *J Allergy Clin Immunol.* 1989; 83: 1101-6.
40. **Paquet F, Boulet LP, Bédard G, Tremblay G, Cormier Y.** Influence of time of administration on allergic skin prick tests response. *Ann Allergy.* 1991; 67: 163-6.
41. **Haahtela T, Jokela H.** Influence of the pollen season on immediate skin test reactivity to common allergens. *Allergy.* 1980; 35: 15-21.
42. **Oppenheimer JJ, Nelson HS.** Seasonal variation in immediate skin test reactions. *Ann Allergy.* 1993; 71:227-9.
43. **Chan-Yeung M, Vedal S, Lam S, Enarson D.** Immediate skin reactivity and its relationship to age, sex, smoking, and occupational exposure. *Arch Environ Health.* 1985; 40: 53-7.
44. **Van Nierkerk CH, Prinsloo AE.** Effect of skin pigmentation on the response to intradermal histamine. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1985; 76: 73-5.
45. **Neuman I, Amran D.** Variations in skin tests before and after immunotherapy in allergic asthma. *Ann Allergy.* 1988; 61: 180-3.
46. **Frew AJ.** Skin tests in clinical practice and epidemiology. *Clin Exp Allergy.* 1992; 22: 881-2.

Correspondência:

Mário Morais de Almeida
 Serviço de Imunoalergologia, Hospital de D. Estefânia
 Rua Jacinto Marto, 1160-045 Lisboa
 Telefone: 21 3126653 - Fax: 21 3126654