



# Determinação da potência relativa de extratos alergênicos de *Phleum pratense* por testes cutâneos

*Establishing the relative potency of Phleum pratense allergenic extracts using skin prick tests*

Nelson A. Rosario Filho<sup>1</sup>, Elizabeth M. Mercer Mourão<sup>1</sup>, Alessandra dos Santos Bitencourt<sup>1</sup>,  
Cristine S. Rosario<sup>1</sup>, Désirée E.S. Larenas Linnemann<sup>2</sup>

## RESUMO

**Objetivos:** Comparar a potência de extratos europeus de *Phleum pratense* para imunoterapia sublingual (ITSL), em relação ao extrato referência norte-americano. **Métodos:** Foram selecionados 15 sujeitos, com idade entre 18 e 55 anos, histórico clínico sazonal compatível e teste cutâneo com alta reatividade a gramíneas. O delineamento de estudo foi transversal, triplo cego e randômico, e comparadas as potências dos seguintes extratos alergênicos para ITSL: (A) Soluprick® (30 HEP/mL) e (B) Grazax® 75.000 SQ-T, ambos os extratos da ALK-Abelló; (C) Oralair® e (D) Staloral®, com 300 IR/mL, Stallergènes, França. O extrato de origem norte-americana (E) foi o padrão, contendo 10.000 BAU/mL. Todos os extratos foram usados em forma de concentrados e nas diluições 1:3, 1:10, e 1:30. Os testes foram aplicados em quadruplicata em dois dias não consecutivos. Os diâmetros de pápula e eritema foram registrados após 15 minutos. **Resultados:** Não houve diferença significativa entre os testes realizados no primeiro e segundo dias ( $p = 0,37$ ) com extratos concentrados, na diluição 1:3 e também 1:10 ( $p = 0,20$  e  $p = 0,33$ , respectivamente). No segundo dia de testes, a média obtida das pápulas do extrato A foi de 16,7 mm na diluição 1:3; de 14,3 mm na diluição 1:10; e de 9,8 mm na diluição 1:30. Houve diferenças significativas entre os extratos A, B, C, D e E na comparação entre as médias das pápulas obtidas em todas as diluições, mostrando diferença de potência entre os extratos. O diâmetro das pápulas obtidas com o material concentrado, em ordem decrescente de potência, foram  $C > A > E > D > B$ . As reações observadas com extratos concentrados mostrou que o mais potente foi Staloral, e o menos potente Grazax. **Conclusões:** Houve variabilidade significativa de potência nos diversos extratos comparados. Isto reforça a necessidade de padronização de extratos alergênicos para ITSL.

**Descritores:** Imunoterapia com alérgenos, alérgenos, alergia a pólen.

## ABSTRACT

**Objectives:** To compare the potency of European *Phleum pratense* pollen extracts for sublingual immunotherapy (SLIT) compared to the U.S. reference extract. **Methods:** Fifteen subjects aged between 18 and 55 years, with compatible seasonal clinical history and skin tests highly reactive to grass, were selected. The design was cross-sectional, blind, randomized. The following extracts were compared for SLIT: (A) Soluprick® (30 HEP/mL) and (B) Grazax® 75,000 SQ-T, both from ALK-Abelló; (C) Oralair® and (D) Staloral®, with 300 IR/mL, Stallergènes, France. The American extract (E) was the standard 10,000 BAU/mL. Extracts were used in concentrate form and also diluted in 1:3, 1:10, and 1:30 ratios. Tests were applied in quadruplicate on two nonconsecutive days. Skin test reading were done after 15 minutes. **Results:** There were no significant differences between the tests conducted on the first and second days with the extracts in concentrate form ( $p = 0.37$ ) or diluted at 1:3 or 1:10 ( $p = 0.20$ ,  $p = 0.33$ , respectively). On the second day of tests, mean wheal sizes obtained with extract A were 16.7 mm with the 1:3 dilution, 14.3 mm with the 1:10 dilution, and 9.8 mm with the 1:30 dilution. There were significant differences between extracts A, B, C, D and E when comparing mean wheal sizes obtained with all dilutions, demonstrating differences in the extracts' potency. Mean wheal diameters obtained with the concentrates, in decreasing order of potency, were  $C > A > E > D > B$ . The reactions showed that the most potent extract was Staloral, and the least potent, Grazax. **Conclusions:** There were significant potency variations in the different extracts assessed. These results reinforce the need for standardization of allergenic extracts used for SLIT.

**Keywords:** Immunotherapy with allergens, allergens, pollen allergy.

1. Serviço de Medicina Respiratória Pediátrica, Complexo Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná – Curitiba, PR, Brasil.

2. Hospital Medica Sur - México, D.F., México.

Submetido em: 23/02/2018, aceito em 26/02/2018.

Arq Asma Alerg Imunol. 2018;2(1):101-7.

## Introdução

As manifestações clínicas da alergia ao pólen podem ocorrer durante todo o ano ou durante a primavera, época de polinização mais intensa. No Sul do Brasil, a polinização de gramíneas inicia em setembro e pode se estender até janeiro. As variações climáticas e o índice de precipitação pluviométrica controlam a época de polinização e a carga atmosférica do pólen, resultando em modificações na intensidade e no início dos sintomas em cada estação<sup>1,2</sup>. Várias espécies de gramíneas produtoras de pólen têm sido reconhecidas como alergênicas, entre elas, *Lolium perenne*, *Poa pratensis*, *Phleum pratense*, *Dactylis glomerata* e *Cynodon dactylon*<sup>2,3</sup>.

*Lolium multiflorum*, gramínea conhecida como azevém, é a principal causadora de polinose na região Sul do Brasil<sup>4,5</sup>. Estudos imunológicos indicam que há até 95% de homologia antigênica entre as gramíneas *Lolium multiflorum* e *Phleum pratense*. *Phleum pratense* é uma gramínea de relevância alergênica em regiões de clima temperado. Entre seus alérgenos se destacam: Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5 e Phl p 6. Os grupos 1 e 5, são os mais prevalentes na sensibilização de pacientes<sup>3</sup>.

Imunoterapia específica para alérgenos é o único tratamento disponível que pode limitar a progressão das doenças alérgicas e prevenir o surgimento de novas sensibilizações alérgicas<sup>6-8</sup>.

Os testes cutâneos de leitura imediata, por punção ou intradérmicos, são usados há décadas como forma de identificar a presença de anticorpos IgE específicos para alérgenos<sup>9</sup>. São altamente sensíveis para diagnóstico das doenças atópicas com rapidez e reprodutibilidade<sup>10,11</sup>. Testes cutâneos por punção ou intradérmicos em indivíduos conhecidamente alérgicos foram ambos validados para avaliar a potência biológica dos extratos de imunoterapia, e ainda permitir a comparação da potência de extratos de diferentes fabricantes<sup>12-16</sup>.

Extratos alergênicos são produzidos para diagnóstico e tratamento de doenças mediadas por IgE. Esses extratos são constituídos por complexos de materiais biológicos<sup>17-19</sup>. A padronização é o processo de avaliação da potência de determinado extrato, comparando-o a amostras de referência com quantidades conhecidas de alérgenos específicos<sup>16,20</sup>. Embora seja altamente desejável, nem todos os extratos utilizados na prática clínica são padronizados, nesse caso cada produtor deve ter seu controle interno para assegurar um nível aceitável de comparação a cada novo lote preparado<sup>19,21</sup>.

Os objetivos deste estudo são comparar em testes de punção as potências de extratos europeus de *Phleum pratense* em relação ao extrato de referência do FDA (*Food and Drug Administration*) dos Estados Unidos da América.

## Material e métodos

Para documentar a potência relativa em testes cutâneos de extratos alergênicos de *Phleum pratense* de diferentes fabricantes, o delineamento selecionado foi um ensaio clínico de superioridade de potência, com a finalidade de avaliar um dos pilares do tratamento com extratos alergênicos. O estudo foi triplo cego, randômico, multicêntrico e internacional. Os dados gerados neste Serviço foram analisados interinamente. Os participantes foram recrutados através de notificação eletrônica via intranet (sistema eletrônico do Complexo Hospital de Clínicas - UFPR), e que tivessem sintomas típicos de rinoconjuntivite alérgica durante o período da primavera.

Foram selecionados os sujeitos de qualquer sexo ou raça, com idade entre 18 e 55 anos, com histórico clínico sazonal compatível com possível alergia ao pólen e confirmada por resultado positivo para teste de punção (diâmetro médio de pápula de 8 mm) para *Phleum pratense* com extrato contendo 10.000 AU/mL, Greer Laboratories, EUA. Nenhum dos sujeitos havia usado medicação nos últimos 15 dias que pudesse interferir com os resultados de testes cutâneos.

Os critérios de exclusão foram os seguintes: espirometria com volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>) abaixo de 80% do valor normal previsto; gravidez ou pacientes femininos sem prática contraceptiva aceitável; pacientes com histórico de anafilaxia ou reações alérgicas graves; necessidade de anti-histamínicos para controlar sintomas; administração de corticoide nos últimos 15 dias, ou de ação prolongada nos últimos 90 dias; portadores de dermatite atópica ativa; hiperreatividade cutânea - controle negativo superior a 3 mm de diâmetro ou tendência a urticária; pacientes em vigência de imunoterapia ou com história de realizá-la nos últimos 5 anos.

Testes cutâneos foram realizados na região dorsal de 15 pacientes alérgicos, selecionados conforme critérios de inclusão e exclusão, por história clínica sugestiva de alergia a *Lolium* e teste cutâneo de punção com alta reatividade a este alérgeno.

O dispositivo usado para punção foi lanceta de aço inoxidável, calibrada e descartável Alk Lancet®.

### Extratos alergênicos

Para reduzir esta diferença em potência, o concentrado de extrato dos Estados Unidos da América foi diluído em 50%, portanto, o concentrado de extrato americano de *Phleum pratense* teria 5.000 BAU/mL. Através de testes de puntura foram comparadas as potências dos seguintes extratos alergênicos para imunoterapia sublingual: (A) Soluprick® (30 HEP/mL), e (B) Grazax® 75.000 SQ-T, ambos os extratos feitos da mesma matéria prima da ALK-Abelló; (C) Staloral® e (D) Oralair®, com 300 IR/mL, Stallergènes, França. O extrato de origem norte-americana (E) é o padrão *Center for Biologics Evaluation and Research/Food and Drug Administration USA*, CBER/FDA de 10.000 BAU/mL.

A quantidade de antígeno Phl p 5 em microgramas por mililitro de cada extrato alergênico é de uma publicação prévia: 15 µg em Grazax®; 8,4 µg em Staloral®; 5,2 µg em Oralair®; 9,2 µg em Soluprick®, e 64 µg no extrato original do FDA<sup>22</sup>.

O diluente utilizado foi glicerina 50%, fornecido por Greer Laboratories®. Os extratos de pólen de *Phleum pratense* foram testados em duplicata em cada sessão de testes cutâneos por paciente, portanto, em resultado quádruplo. As formulações em comprimidos foram dissolvidas no mesmo diluente glicerinado. Para os testes por puntura todos os extratos foram usados em forma de concentrados, e nas diluições 1:3, 1:10, e 1:30.

Os extratos alergênicos de *Phleum pratense* de diferentes fontes e diluições foram selecionados de forma cega e aplicados em lados opostos do dorso do indivíduo. Os frascos de concentrados identificados com as letras A-E e os controles negativos e positivos foram mantidos em códigos, e revelados apenas ao final do estudo.

### Testes cutâneos

Para obter resultados mais confiáveis, antes de iniciar os testes de puntura com os extratos em estudo, o técnico designado para aplicação dos testes foi submetido a treinamento. O teste de proficiência consistiu na aplicação alternada de histamina e solução salina no antebraço do paciente. Ambas, histamina e salina foram aplicadas 10 vezes, e a média do diâmetro das pápulas usadas para calcular o coeficiente de variação, que não deveria ser superior a 20%. O teste foi repetido até o aplicador ser aprovado.

Os testes de puntura para cada extrato, concentrados e diluídos, foram aplicados em quadruplicata –

dois lados do dorso, em dois dias não consecutivos. O aplicador do teste soube somente quais eram os controles positivos e negativos, assim como os frascos com os concentrados. Além disso, o controle negativo foi usado para confirmar a reatividade da pele do paciente, conforme descrito nos critérios de inclusão.

Os resultados foram avaliados após 15 minutos pelo contorno da pápula e eritema com caneta porosa e transferidos com adesivo transparente para uma folha branca de papel. Esse método, utilizando a fita adesiva, é padrão ouro no registro de testes cutâneos, utilizado em diversos estudos.

Após 7 a 15 dias, durante a segunda sessão, a mesma rotina foi estabelecida e o teste foi repetido, para conseguir o total de quatro repetições.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, e os participantes, após informação sobre o protocolo, assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### Resultados

Foram analisados testes cutâneos por puntura de 15 pacientes, com idade entre 18-48 anos e história clínica compatível com rinoconjuntivite alérgica sazonal ao pólen de gramíneas. Esses pacientes realizaram duas visitas ao serviço de referência e foram submetidos a testes no dorso à esquerda e à direita, com padrão em duplicata, dos extratos analisados em suas diluições padronizadas.

Os dados obtidos foram submetidos à mensuração manual, em régua milimetrada, por um único examinador. Foram avaliadas média, desvio padrão, mediana e intervalo de confiança de todos os dados, descritos nas Tabelas 1 e 2. Considerou-se resultado estatisticamente significativo para o valor obtido de  $p < 0,05$ . Não houve diferença significativa entre os testes realizados no primeiro e segundo dias ( $p = 0,37$ ) na comparação dos diâmetros médios das pápulas obtidas com extratos concentrados, na diluição 1:3 e também 1:10 (respectivamente  $p = 0,20$  e  $p = 0,33$ ). Para comparação entre os extratos na diluição 1:30, foi utilizado o teste de Wilcoxon, e tampouco revelou diferenças significativas nos valores dos diâmetros médios das pápulas ( $p = 0,30$ ). Não houve diferença entre os testes realizados no dorso à direita e à esquerda, pelo teste Anova ( $p = 0,97$ ).

No segundo dia de testes, a média obtida das pápulas do extrato A concentrado foi de 16,7 mm

na diluição 1:3; de 14,3 mm na diluição 1:10; e de 9,8 mm na diluição 1:30. Nesta diluição 1:30 a mediana obtida foi 0 mm, pois alguns testes foram negativos (Tabela 2).

A média das pápulas do extrato B concentrado foi de 12,4 mm; 10,5 mm na diluição 1:3; 8,7 mm na diluição 1:10; e 5,0 mm na diluição 1:30. A mediana obtida com 1:30 foi 6 mm.

A média obtida das pápulas do extrato C concentrado foi de 17,9 mm; na diluição 1:3 a média foi 13,7 mm; na diluição 1:10 a média foi 11,4 mm; e na diluição 1:30 foi 2,4 mm.

As médias obtidas das pápulas com o extrato D foram respectivamente 14,3 mm; 12 mm; 8,7 mm; e 1,3 mm com o concentrado e diluições 1:3, 1:10 e 1:30.

Para o extrato E, as médias das pápulas foram, respectivamente, de 14,6 mm, 12,5 mm, 10,5 mm

e 0,98 mm com o concentrado e diluições 1:3, 1:10 e 1:30.

Na comparação entre os extratos concentrados, os resultados obtidos foram semelhantes nos extratos A e C. O extrato B, na diluição 3, foi diferente dos demais na comparação entre os demais extratos. Nas variáveis com distribuição simétrica foi utilizado o teste paramétrico Anova. Nas variáveis com distribuição assimétrica foi utilizado o teste não paramétrico Anova de Kruskal-Wallis.

Houve diferenças significativas entre os extratos A, B, C, D e E na comparação entre as médias das pápulas obtidas em todas as diluições, mostrando diferença de potência entre os extratos. Ao se comparar a potência dos extratos no segundo dia de teste, o diâmetro médio das pápulas obtidas com o material concentrado, em ordem decrescente de potência foram C > A > E > D > B.

**Tabela 1**

Diâmetro médio das pápulas (mm) com os diferentes extratos alergênicos\*

Diluição	Extratos					p
	A	B	C	D	E	
(C)	15,9±4,9 15,7 (6,5-27,0) IC = 14,1-17,8	12,8±3,9 12,5 (5,5-21,0) IC = 11,4-14,3	16,5±6,2 16,0 (7,5-36,0) IC = 9,0-23,7	13,3±4,1 12,5 (6,5-24,0) IC = 9,0-18,7	15,7±4,4 16,7 (5,5-21,5) IC = 14,1-17,4	0,006
1:3	12,7±4,4 13,2 (6,0-21,0) IC = 11,0-14,4	10,3±2,8 10,5 (3,5-17,0) IC = 9,3-11,4	13,5±4,3 13,0 (6,5-25,5) IC = 11,9-15,1	11,3±3,9 10,5 (5,0-19) IC = 9,9-12,8	13,2±4,4 12,2 (5,0-24) IC = 11,5-14,8	0,01
1:10	9,7±2,6 9,0 (5,0-16,0) IC = 8,7-10,6	8,4±2,1 8,0 (4,5-14,5) IC = 7,7-9,2	12,6±4,8 11,7 (6,0-26,5) IC = 7,0-18,0	8,7±2,3 8,5 (4,0-14) IC = 7,8-9,6	8,7±2,4 8,5 (5,0-14) IC = 7,8-9,6	< 0,001
1:30	0,4±1,5 0,0 (0,0-6,0) IC = (0-0)	4,1±3,8 5,0 (0,0-11,0) IC = 0,0-9,2	1,9±2,8 0,0 (0,0-8,0) IC = 0,0-6,5	2,5±3,4 0,0 (0,0-9,0) IC = 0,0-7,5	2,8±3,7 0,0 (0,0-10) IC = 0,0-7,7	< 0,001

Histamina: média = 9,9±2,5 (IC 95% = 8,9-10,8); mediana = 9,5 (6,0-20,0); IC95% = 7,5-12,2.

(A) Soluprick® (30 HEP/mL); (B) Grazax® 75.000 SQ-T; (C) Stalora®; (D) Oralair®; (E) Center for Biologics Evaluation and Research/Food and Drug Administration USA, CBER/FDA.

\* Média±desvio padrão, mediana (mínimo e máximo), intervalo de confiança 95%.

Assim, o extrato C foi o mais potente nos testes cutâneos com extratos concentrados, e o extrato B o menos potente.

Na diluição 1:3 a potência se manifestou da seguinte forma em ordem decrescente: C > A > E > D > B. Na diluição 1:10 a potência em ordem decrescente foi: C > E > A > D = B. Na diluição 1:30 a potência em ordem decrescente foi: B > C > D > E > A.

A média obtida das reações aos testes com histamina 10 mg/mL no primeiro e segundo dias foi de 9,9 mm.

## Discussão

Este estudo se propôs a comparar extratos alergênicos para imunoterapia sublingual comercialmente disponíveis, que em teoria deveriam ter a mesma eficácia na melhora clínica do paciente com sensibilização a alérgenos de gramíneas.

Existe variação considerável nos métodos para verificar a potência de extratos alergênicos. Na Europa, a maioria dos fabricantes reporta a potência de um extrato alergênico em unidades baseadas em referência própria, o que dificulta a compreensão da dose exata utilizada. A tendência de alguns fabricantes em expressarem a potência de seus produtos em unidades de massa (microgramas do alérgeno dominante) ainda é unidade arbitrária, e varia com as técnicas empregadas para a determinação dos alérgenos<sup>23</sup>. A imunoterapia é o único tratamento imunomodulador específico capaz de influenciar a resposta imunológica iniciada pelo alérgeno e restabelecer a imunidade normal, além de ser o único tratamento com objetivo de tratar a causa e não os sintomas da alergia respiratória<sup>24</sup>. Baseia-se na administração de doses crescentes do alérgeno identificado como causal, visando reduzir a reatividade de pacientes alérgicos<sup>6,25</sup>. Tais efeitos culminam

**Tabela 2**

Diâmetro médio das pápulas (mm) na repetição dos testes cutâneos\*

Diluição	Extratos					p
	A	B	C	D	E	
(C)	16,7±5,8 16,0 (7,5-30,0) IC = 9,5-26,0	12,4 ±4,0 11,7 (7,0-24) IC = 10,9-13,9	17,9±6,0 16 (9,5-37) IC = 15,6-20,1	14,3±5,2 14 (6,5-32) IC = 12,4-16,3	14,6±4,9 13,5 (7,0-28) IC = 12,7-16,4	0,001
1:3	14,3±5,0 12,7 (8-25) C = 12,4-16,1	10,5±3,5 9,7 (5,5-18,5) IC = 9,2-11,8	13,7±4,8 13,7 (7,0-26,5) IC = 11,9-15,5	12,0±4,5 10,7 (6,5-26) IC = 10,3-13,7	12,5±4,4 11,5 (5,0-23,5) IC = 10,8-14,2	0,01
1:10	9,8±3,4 9,2 (5,5-21) IC = 8,5-11,1	8,7±2,5 8,7 (5,0-13,5) IC = 7,8-9,7	11,4±3,8 10,5 (5,0-19) IC = 10-12,8	8,7±2,7 8,5 (5,0-16,5) IC = 7,7-9,7	10,5±3,6 9,7 (6,5-20,5) IC = 9,1-11,8	0,006
1:30	0,4±1,5 0 (0-6,5) IC = 0-0	5,0±3,5 6,0 (0,0-12,0) IC = 0-8,5	2,4±3,1 0 (0-8,5) IC = 0-7,0	1,3±2,7 0 (0-9,0) IC = 0-6,7	0,98±2,2 0 (0-6,0) IC = 0-6,0	< 0,001

Histamina: média 9,9±2,3 (IC = 9,0-10,7); mediana = 9,5 (6,5-15,0); IC95% = 7,2-13,0.

(A) Soluprick® (30 HEP/mL); (B) Grazax® 75.000 SQ-T; (C) Staloral®; (D) Oralair®, (E) Center for Biologics Evaluation and Research/Food and Drug Administration USA, CBER/FDA.

\* Média±desvio padrão, mediana (mínimo e máximo), intervalo de confiança 95%.

na remissão da doença por tempo prolongado, melhora clínica, redução da terapia farmacológica e diminuição da resposta ao alérgeno nos testes cutâneos de resposta imediata e na provocação alérgica específica.

A eficácia da imunoterapia por via sublingual ou subcutânea depende da dose do alérgeno administrada<sup>6,26</sup>. A indução terapêutica de tolerância pode restaurar a imunidade em distúrbios alérgicos e autoimunes. A imunoterapia é um dos melhores exemplos para ilustrar a indução de tolerância por antígenos externos<sup>24</sup>.

A padronização dos extratos alergênicos é tema de extrema relevância em alergologia, uma vez que permite ao médico atuante tomar a melhor decisão na escolha do extrato para imunoterapia, de acordo com a sensibilização do paciente<sup>6,24</sup>.

A ausência de unidade comum aos extratos disponíveis mundialmente dificulta a adequada comparação da potência dos mesmos<sup>27</sup>.

Os extratos comparados neste estudo são de apresentação líquida e em comprimido de dissolução sublingual.

Os resultados obtidos mostraram que há diferença estatisticamente significativa ao se comparar por teste de puntura os extratos alergênicos disponíveis para imunoterapia sublingual. A relação entre concentração em microgramas de alérgenos por mililitro e diâmetro de reação cutânea obtida, não se aplica, uma vez que não há informações precisas do método de preparo e obtenção dos extratos. Além disso, conforme se observou, o extrato com maior concentração de *Phleum pratense* por mililitro - o extrato do FDA, não apresentou reações proporcionalmente maiores, embora já diluído em 50%.

Na avaliação dos extratos, a potência observada pelo teste de puntura com extratos concentrados o mais potente foi Staloral, e o menos potente, Grazax. Resultados obtidos em quadruplicata, no primeiro e segundo dia de testes, e à direita e à esquerda, no dorso dos pacientes. Mostrando dessa forma que há, sim, diferença de potência entre os extratos disponíveis para imunoterapia, mas isto não indica se poderá gerar uma diferença na resposta clínica individual do paciente.

Essa diferença observada entre os extratos comprova a necessidade de padronização, como no estudo que comparou níveis de alérgenos de *Dermatophagoides pteronyssinus* ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) em extratos de vários fabricantes, e encontrou níveis

insuficientes para alcançar doses efetivas preconizadas internacionalmente para imunoterapia efetiva<sup>28</sup>. É importante a qualidade de extratos alergênicos visando a segurança e eficácia do tratamento imunoterápico. A padronização dos mesmos permite uma redução na frequência e gravidade das reações sistêmicas secundárias a imunoterapia.

A variabilidade significativa de potência nos diversos extratos disponíveis na Europa e Estados Unidos da América é inevitável, mas a relevância clínica no tratamento das doenças alérgicas não foi estabelecida<sup>21,22</sup>. O extrato Staloral<sup>®</sup> foi o mais potente nos testes cutâneos com extratos concentrados, e o extrato Grazax<sup>®</sup> o menos potente. Estes resultados reforçam a necessidade de padronização de extratos alergênicos visando resposta semelhante e confiável, de acordo com a preferência do médico assistente, no tratamento dos pacientes alérgicos em imunoterapia sublingual para alérgenos, especialmente porque essa terapia se encontra em ascensão no Brasil.

## Referências

1. Pfaar O, Bastl K, Berger U, Buters J, Calderon MA, Clot B, Darsow U, et al. Defining pollen exposure times for clinical trials of allergen immunotherapy for pollen induced rhinoconjunctivitis - an EAACI Position Paper. *Allergy*. 2017;72:713-22.
2. Rosário Filho NA. Alergia ao pólen de gramíneas: "back to the future". *Rev bras alerg imunopatol*. 2012;35:82-4.
3. Garcia-Mozo H. Poaceae pollen as the leading aeroallergen worldwide: a review. *Allergy*. 2017, doi: 10.1111/all.13210.
4. Rosário Filho NA. Pollinosis in Brazil: changing concepts. *J Allergy Clin Immunol*. 1990;85:819-20.
5. Rosário Filho NA. Atualização sobre polinose: Um problema médico e ecológico recente no Brasil. *Rev bras alerg imunopatol*. 1989;12:104-8.
6. Jutel M, Agache I, Bonini S, Burks AW, Calderon M, Canonica W et al. International consensus on allergy immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136:556-68.
7. Di Bona D, Plaia A, Leto-Barone MS, La Piana S, Macchia L, Di Lorenzo G. Efficacy of allergen immunotherapy in reducing the likelihood of developing new allergen sensitizations: a systematic review. *Allergy*. 2017;72:691-704.
8. Kristiansen M, Dhami S, Netuveli G, Halken S, Muraro A, Roberts G, Larenas-Linnemann D, et al. Allergen immunotherapy for the prevention of allergy: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Allergy Immunol*. 2017;28:18-29.
9. Bernstein IL, Li JT, Bernstein DI, et al. Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2008;100(Suppl 3):S1-S148.
10. Haahtela T, Burbach GJ, Bachert C, Bindslev-Jensen C, Bonini S, Bousquet J, et al. Clinical relevance is associated with allergen-specific wheal size in skin prick testing. *Clin Exp Allergy*. 2014;44:407-16.
11. Chong Neto HJ, Rosario NA. Studying specific IgE: in vivo or in vitro. *Allergol et Immunopathol*. 2009;37:31-5.

12. Zavadniak AF, Rosário Filho NA, Arruda LK, Castro FFM, Solé D, Aun WT, et al. Evaluation of the potency of commercially available *Dermatophagoides pteronyssinus* allergenic extracts for immunotherapy. *Rev bras alerg imunopatol.* 2004;27:46-54.
13. Larenas-Linnemann D, Cox LS; Immunotherapy and Allergy Diagnostics Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. European allergen extract units and potency: review of available information. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2008;100:137-45.
14. Larenas-Linnemann D, Cruz AA, Gutierrez IR, et al. European and Mexican vs US diagnostic extracts of Bermuda grass and cat in skin testing. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2011;106:421-8.
15. Nordic Council on Medicines. Registration of allergenic preparations. Nordic guidelines, 2nd edn. Uppsala: NLN Publications; 1989. p. 1-34.
16. Turkeltaub PC. Biological standardization based on quantitative skin testing – the ID50 EAL method (intradermal dilution for 50 mm sum of erythema diameters determines the allergy unit). *Arb Paul Ehrlich Inst Georg Speyer Haus Ferdinand Blum Inst Frankf A M.* 1987;80:169-73.
17. Khurana T, Bridgewater JL, Rabin RL. Allergenic extracts to diagnose and treat sensitivity to insect venoms and inhaled allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2017;118:531-6.
18. Cox L, Nelson H, Lockey R, Calabria C, Chacko T, Finegold I, et al. Allergen immunotherapy: a practice parameter third update. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(1 Suppl):S1-S55.
19. Larenas Linnemann DES, Singh J, Rosario N, Esch R, Matta JJ, Maspero J, et al. Similar biological activity in skin prick test for Oralair®(8200 BAU) and Grazax® (6200 BAU) reinforces effective SLIT dosing level. *Allergy.* 2016;71:1782-6.
20. Bachert C, Larché M, Bonini S, Canonica GW, Kündig T, Larenas-Linnemann D, et al. Allergen immunotherapy on the way to product based evaluation - a WAO statement. *World Allergy Organ J.* 2015;8:29.
21. Larenas-Linnemann D, Matta JJ, Shah-Hosseini K, Michels A, Mosges R. Skin prick test evaluation of *Dermatophagoides pteronyssinus* diagnostic extracts from Europe, Mexico, and the United States. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010;104:420-5.
22. Larenas-Linnemann D, Esch R, Plunkett G, Brown S, Maddox D, Barnes C, et al. Maintenance dosing for sublingual immunotherapy by prominent European allergen manufacturers expressed in bioequivalent allergy units. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2011;107:448-58.
23. Esch RE. Evaluation of allergen vaccine potency. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2006;6:402-6.
24. Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: multiple suppressor factors at work in immune tolerance to allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133:621-31.
25. Li JT, Bernstein DI, Calderon MA, Casale TB, Cox L, Passalacqua G, et al. Sublingual grass and ragweed immunotherapy: clinical considerations - a PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137:369-76.
26. Canonica GW, Bachert C, Hellings P, Ryan D, Valovirta E, Wickman M, et al. Allergen Immunotherapy (AIT): a prototype of Precision Medicine. *World Allergy Organization Journal.* 2015; 8:31.
27. van Ree R, Chapman MD, Ferreira F, Vieths S, Bryan D, Cromwell O, et al. The CREATE project: development of certified reference materials for allergenic products and validation of methods for their quantification. *Allergy.* 2008;63:310-26.
28. Zavadniak AF, Rosário Filho NA, Arruda LK, Castro FFM, Solé D, Aun WT, et al. Evaluation of the potency of commercially available *Dermatophagoides pteronyssinus* allergenic extracts for immunotherapy. *Rev bras alerg imunopatol.* 2004;27:46-54.

---

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Correspondência:  
Nelson A. Rosario Filho  
E-mail: nelson.rosario@ufpr.br