PAULA REZENDE MEIRELES DIAS

**Valor da determinação de IgE específica para tropomiosina
no diagnóstico da alergia a camarão**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de Alergia e Immunopatologia

Orientador: Prof. Dr. Fábio Fernandes Morato Castro

São Paulo

2018

PAULA REZENDE MEIRELES DIAS

**Valor da determinação de IgE específica para tropomiosina
no diagnóstico da alergia a camarão**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de Alergia e Immunopatologia

Orientador: Prof. Dr. Fábio Fernandes Morato Castro

São Paulo

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Dias, Paula Rezende Meireles

Valor da determinação de IgE específica para
tropomiosina no diagnóstico da alergia ao camarão /
Paula Rezende Meireles Dias. -- São Paulo, 2018.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Alergia e Imunopatologia.

Orientador: Fabio Fernandes Morato Castro.

Descritores: 1.Hipersensibilidade alimentar
2.Hipersensibilidade a frutos do mar 3.Tropomiosina
4.Reatividade cruzada 5.Teste de provocação oral
6.Diagnóstico 7.Teste cutâneo de leitura imediata

USP/FM/DBD-305/18

Responsável: Eidi Raquel Franco Abdalla - CRB-8/4901

*Para Ana Laura e Alexandre,
razões de todas as minhas escolhas,
motivos das minhas maiores alegrias.*

Agradecimentos

Dizem que mineiro chega de mansinho e vai conquistando seus objetivos. Comigo não foi diferente. Mas todas as minhas conquistas só foram possíveis pois encontrei verdadeiros mestres e amigos em meu caminho.

Agradeço ao Dr. Fábio Castro por todas as oportunidades, apoio, atenção e estímulo. Que honra poder conversar, escutar, aprender e trabalhar ao seu lado. Sua “visão além do alcance” motiva e inspira nosso caminho na especialidade.

A Dra. Ariana Yang, por tudo. Por me acolher em seu ambulatório todos estes anos, por me escutar, ensinar, guiar, aconselhar, estimular e por tentar me mostrar como a vida pode ser mais leve. Acredito não conseguir demonstrar em palavras toda minha gratidão. Algumas pessoas são iluminadas. Você é uma delas. Hoje, o que “salta aos olhos” é a alegria por ter escolhido seguir seu caminho. E que caminho! Que venham mais anos e anos de convivência e aprendizado. Obrigada!

Ao Dr. Clóvis Galvão e Dra. Ana Paula Castro pelos ensinamentos e carinho. Minha admiração por vocês não tem limites.

A minha amiga Denise Borges, por mais de uma década de amizade, por não me deixar desistir dos meus sonhos, pelo carinho.

As minhas amigas e colegas de ambulatório Roberta, Adriana, Patrícia, Juliana e Pablo.

A Keity Santos, por toda atenção, paciência, didática e interesse. Aprendo muito com você. Muito obrigada!

A Anne Ventura por realizar e compartilhar o trabalho de bancada que não sou capaz de realizar.

Ao querido Serafim Fidalgo, por toda atenção e ajuda desde o início da minha formação. Você é especial!

A minha querida Rosana Coutinho. Meu braço direito neste projeto. Sem você os meus testes não seriam possíveis. Obrigada de coração.

Aos queridos Maurício Freitas, Osvaldo Junior e Eleni por todo carinho e suporte.

Agradeço também aos pacientes do Ambulatório de Alergia Alimentar e Dermatite atópica do HC-FMUSP por toda paciência, disponibilidade e confiança.

Chegou a hora de agradecer aos meus pais Mônica e Rogério. Como é difícil traduzir sentimentos depois de nos tornarmos pais. Mãe, obrigada por toda entrega, sacrifício e abdicação. Obrigada por me ensinar a ser firme, a levantar e buscar o que realmente importa. Pai, obrigada pelo brilho nos olhos e por acreditar em mim, bem mais do que eu acredito. Amo vocês.

As minhas avós Martha e Elzira pelo amor ofertado, pela dedicação e cuidado.

Aos meus sogros Elaine e Marco, pelo suporte, disponibilidade, atenção e escuta. Que sorte a minha.

Agradeço todos os dias da minha vida pela família que Nossa Senhora do Carmo me permitiu construir. Meu amado esposo Alexandre, a melhor pessoa que eu conheço. Minha filha Ana Laura, o que dizer? Obrigada filha. Mamãe te ama!.

O rio e o oceano

“Diz-se que, mesmo antes de um rio cair no oceano ele treme de medo.

Olha para trás, para toda a jornada, os cumes, as montanhas, o longo caminho sinuoso através das florestas, através dos povoados, e vê à sua frente um oceano tão vasto que entrar nele nada mais é do que desaparecer para sempre.

Mas não há outra maneira.

O rio não pode voltar.

Ninguém pode voltar.

Voltar é impossível na existência.

Você pode apenas ir em frente.

O rio precisa se arriscar e entrar no oceano.

E somente quando ele entra no oceano é que o medo desaparece.

Porque apenas então o rio saberá que não se trata de desaparecer no oceano, mas tornar-se oceano.

Por um lado é desaparecimento e por outro lado é renascimento.

Assim somos nós.

Só podemos ir em frente e arriscar.

Coragem! Avance firme e torne-se Oceano!”

Osho

(Texto enviado por Ariana Yang quando iniciei este trabalho)

Normalização adotada

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

RESUMO

ABSTRACT

1. Introdução.....	19
1.1. Alergia alimentar	19
1.2. Alergia a frutos do mar	24
1.3. Camarão <i>Xiphopenaeus kroyeri</i>	26
1.4. Tropomiosina e reatividade cruzada	27
1.5. Outros alérgenos do camarão descritos	30
1.6. Ferramentas atuais para o diagnóstico da alergia a camarão	32
2. Justificativa	35
3. OBJETIVOS.....	36
3.1. Objetivo geral	36
3.2. Objetivos específicos	36
4. MÉTODOS	37
4.1. Aprovação ética	37
4.2. Modelo do estudo	37
4.3. Seleção dos pacientes	37
4.4. Casuística.....	37
4.5. Critérios de inclusão	38
4.6. Critérios de exclusão.....	38
4.7. Teste cutâneo de leitura imediata.....	39
4.8. Dosagem de IgE sérica específica	39
4.9. Testes de provocação oral	40
4.10. <i>Western blotting</i> 1D	41
4.11. Análise estatística.....	42
5. RESULTADOS	44

5.1.	- Valor diagnóstico da IgE sérica específica para tropomiosina de camarão, camarão e dos testes cutâneos de leitura imediata	44
5.2.	Caracterização da casuística.....	44
5.3.	Desfecho dos testes de provocação oral	46
5.4.	Teste cutâneo de leitura imediata para camarão <i>X. kroyeri</i> “in natura” (cru e cozido) e extrato de <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> , <i>Blomia tropicalis</i> e <i>Periplaneta americana</i> 50	
5.5.	Dosagens de IgE específica para camarão, tropomiosina de camarão, <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> , <i>Blomia tropicalis</i> e <i>Periplaneta americana</i>	54
5.6.	Manifestações clínicas	62
6.	DISCUSSÃO.....	68
7.	CONCLUSÕES.....	83
8.	ANEXOS.....	84
9.	REFERÊNCIAS.....	95
10.	Apêndices	102
10.1.	Apêndice 1 - Laudo ImmunoCAP ISAC paciente 16	102
10.2.	Apêndice 2 – Aprovação ética do estudo	111
10.3.	Apêndice 3 – TCLE do estudo	112

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição dos 32 pacientes com suspeita de alergia a camarão em três perfis distintos de acordo com os critérios de inclusão	45
Figura 2 – Caracterização do total de indivíduos avaliados em relação a história clínica de alergia a camarão e indicação de testes de provocação oral	46
Figura 3 – Caracterização do total de indivíduos avaliados em relação a forma de teste de provocação oral e seus resultados	47
Figura 4 - Desfechos dos testes duplo cego placebo controlados	47
Figura 5 - Curva ROC para teste cutâneo de leitura imediata – Extrato	53
Figura 6 - Curva ROC para teste cutâneo de leitura imediata – Cru.....	54
Figura 7 - Curva ROC para teste cutâneo de leitura imediata – Cozido	54
Figura 8 - Número de pacientes alérgicos e não alérgicos a camarão, com IgE específica positiva ou negativa para tropomiosina de camarão	57
Figura 9 – Porcentagem de IgE positiva para camarão e tropomiosina em alérgicos.	57
Figura 10 - Curva ROC para “IgE tropomiosina” no diagnóstico de alérgico	58
Figura 11 - Curva ROC para “IgE camarão” no diagnóstico de alérgico.....	59
Figura 12 – Perfil de sensibilização dos pacientes alérgicos a camarão	65
Figura 13 – Gel e WB com pool de soros de pacientes alérgicos	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características básicas da proteína <i>Pen a 1</i>	27
Tabela 2 – Lista de tropomiosinas clinicamente relevantes.....	28
Tabela 3- Alérgenos identificados em diferentes espécies de camarão	31
Tabela 4 – Demonstração de cálculo de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo	43
Tabela 5 - Valor diagnóstico da IgE sérica específica para tropomiosina de camarão, camarão e dos testes cutâneos de leitura imediata	44
Tabela 6 - Características dos testes duplo cego placebo controlados realizados em pacientes alérgicos, bem como doses atingidas e tempo entre doses e sintomas	48
Tabela 7 – Dados referentes aos testes de provocação oral realizados em pacientes alérgicos com duplo cego placebo controlado negativo seguido por teste de provocação oral aberto positivo	49
Tabela 8 – Teste cutâneo de leitura imediata e IgE sérica específica dos pacientes com dos testes duplo cego placebo controlado negativo e aberta positiva	49
Tabela 9 – Distribuição dos resultados de teste cutâneo de leitura imediata para extrato comercial de camarão segundo desfecho nos testes de provocação oral	51
Tabela 10 – Distribuição dos resultados de teste cutâneo de leitura imediata para camarão cru segundo desfecho nos testes de provocação oral	51
Tabela 11– Distribuição dos resultados de teste cutâneo de leitura imediata para camarão cozido segundo desfecho nos testes de provocação oral	52
Tabela 12 - Análise dos resultados obtidos nos TCLI para camarão extrato e “in natura”, <i>D.pteronyssinus</i> , <i>B.tropicalis</i> e <i>P.americana</i>	52
Tabela 13 - Área da Curva ROC para teste cutâneo de leitura imediata com camarão	53

Tabela 14 - Distribuição dos resultados de IgE específica para camarão segundo desfecho nos testes de provocação oral	55
Tabela 15 - Distribuição dos resultados de IgE específica para tropomiosina de camarão segundo desfecho nos testes de provocação oral	55
Tabela 16 - Análise dos resultados obtidos com as dosagens de IgE específica para tropomiosina, camarão, <i>D.pteronyssinus</i> , <i>B.tropicalis</i> e <i>P.americana</i>	56
Tabela 17 - Área da Curva ROC para “IgE tropomiosina” e “IgE camarão”	58
Tabela 18 - Distribuição dos resultados de IgE específica para <i>D.pteronyssinus</i> segundo desfecho nos testes de provocação oral	59
Tabela 19 - Distribuição dos resultados de IgE específica para <i>B.tropicalis</i> segundo desfecho nos testes de provocação oral	60
Tabela 20 - Distribuição dos resultados de IgE específica para <i>P.americana</i> segundo desfecho nos testes de provocação oral	61
Tabela 21 - Sintomas relatados pelos pacientes em reações prévias (n:17)	62
Tabela 22 – Classificação de gravidade das reações prévias reportadas por alérgicos segundo os critérios de Mueller (n:17)	63
Tabela 23 - Reprodutibilidade dos sintomas relatados pelos pacientes que reagiram ao duplo cego placebo controlado (n:8).....	63
Tabela 24 - Características dos sujeitos recrutados para o estudo	64
Tabela 25 – Desfecho dos testes de provocação oral (n: 32).....	84
Tabela 26 – Teste cutâneo para camarão com extrato (Greer) , camarão cru e cozido (<i>X. Kroyeri</i>) em mm (n: 42).....	85
Tabela 27 - Teste cutâneo para <i>D.pteronyssinus</i> , <i>B. tropicalis</i> , <i>P. americana</i> (n: 32) .	86
Tabela 28 – Valores de sensibilidade e especificidade para “teste cutâneo de leitura imediata - Extrato” que compoem a curva ROC	87
Tabela 29 – Valores de sensibilidade e especificidade para “teste cutâneo de leitura imediata - Cru” que compoem a curva ROC	88

Tabela 30 – Valores de sensibilidade e especificidade para “teste cutâneo de leitura imediata - Cozido” que compoem a curva ROC	89
Tabela 31 -Resultados das dosagens de IgE especifica pelo método de ImmunoCAP para tropomiosina de camarão, camarão, <i>D.pteronyssinus</i> , <i>B.tropicalis</i> e <i>P. americana</i>	90
Tabela 32 – Valores de sensibilidade e especificidade para “IgE tropomiosina” que compoem a curva ROC	91
Tabela 33 – Valores de sensibilidade e especificidade para “IgE camarão” que compoem a curva ROC	92
Tabela 34 - Características gerais dos estudos mais relevantes em alergia a camarão	93
Tabela 35 - Resultados dos testes séricos e cutâneos dos pacientes pertencentes ao pool 1 de alérgicos	94

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

%	Porcentagem
°	Grau
®	Marca registrada
+	Positivo ou adição
<	Menor
=	Igual a
>	Maior
–	Negativo ou subtração
≤	Menor ou igual a
≥	Maior ou igual a
1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
AK	<i>Arginine kinase</i>
C	Celsius
CRD	<i>Component resolved diagnostic</i>
DCPC	Duplo cego placebo controlado
DOI	<i>Digital Object Identifier</i>
EAACI	<i>European Academy of Allergy and Clinical Immunology</i>
ECL	<i>Enhanced Chemiluminescence</i>
EUA	Estados Unidos da América
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
FOXp3	<i>Forkhead box P3</i>
g	Grama
GINA	<i>Global Initiative for Asthma</i>
h	Hora
HC	Hospital das clínicas
HRP	<i>Horseradish peroxidase</i>
IgE	Imunoglobulina E
IL	Interleucina
IUIS	<i>International Union of Immunological Societies</i>

kDa	Kilodalton
kUA/l	<i>Kilounits of antibody per liter</i>
l	Litro
LIM	Laboratório de investigação médica
mA	Miliampére
Max	Máximo
mg	Miligrama
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>
Min	Mínimo
min	Minuto
ml	Mililitro
MLC	Cadeia leve da miosina
mm	Milímetros
MW	<i>Molecular weight marker</i>
n	Número
PAGE	<i>Polyacrylamide gel electrophoresis</i>
ROC	<i>Receiving operating characteristic curve</i>
SCP	Proteína sarcoplasmática ligadora de cálcio
SDS	<i>Sodium dodecyl sulfate</i>
SPINK	<i>Serine protease inhibitor Kazal</i>
STAT	<i>Signal transducer and activator of transcription</i>
TBS	<i>Tris-buffered saline</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TCLI	Teste cutâneo de leitura imediata
TH	<i>T helper</i>
TPO	Teste de provocação oral
v	Volume
VEF1	Volume expiratório forçado de primeiro segundo
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo
WB	<i>Western blotting</i>
α	Alfa
β	Beta

ε

Épsilon

μg

Micrograma

RESUMO

Dias PRM. *Valor da determinação de IgE específica para tropomiosina no diagnóstico da alergia a camarão* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

INTRODUÇÃO: A alergia a camarão é causa comum e potencialmente grave de alergia alimentar IgE mediada, incluindo anafilaxia. Ao contrário de outras alergias alimentares, a alergia a camarão afeta predominantemente adultos e geralmente é vitalícia. Até o momento, não existe terapia específica para a alergia a camarão. Os pacientes necessitam excluir o crustáceo de sua dieta e portar adrenalina auto-injetável, para uso em reações por exposição acidental. A complexidade do perfil alergênico do camarão tem sido cada vez mais reconhecida nos últimos dez anos. A proteína muscular tropomiosina foi o primeiro alérgeno do camarão identificado e é considerada o seu principal alérgeno. Alguns estudos indicam que a tropomiosina apresenta alta especificidade na alergia a camarão, sendo apontada como uma possível e importante ferramenta diagnóstica. **OBJETIVO:** O objetivo deste estudo foi avaliar sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo da tropomiosina em pacientes brasileiros em restrição alimentar por suspeita de alergia a camarão. **MÉTODOS:** Selecionou-se 32 indivíduos com suspeita de alergia a camarão, os quais foram submetidos a testes cutâneos de leitura imediata para camarão (extrato) e “*in natura*” (cru e cozido), ácaros e barata. Também foram realizadas dosagens séricas de IgE específica para camarão, tropomiosina de camarão, ácaros e barata americana. Avaliou-se reatividade clínica a camarão através de testes de provocação oral. O camarão utilizado nos testes cutâneos e nos testes de provocação oral foi o *Xiphopenaeus kroyeri* (sete barbas). Foi realizado *Western Blot* 1 D dos pacientes alérgicos. Foram realizados cálculos de valor de corte para teste cutâneo de leitura imediata e IgE sérica específica através da utilização da curva ROC. **RESULTADOS:** Alergia a camarão foi confirmada em 17 pacientes. A IgE sérica específica para tropomiosina de camarão neste estudo apresentou sensibilidade de 58,8%, especificidade de 60%, valor preditivo positivo de 62,5% e valor preditivo negativo 56%. Em comparação com a IgE específica para camarão e os testes cutâneos para camarão com extrato e “*in natura*”, a IgE específica para tropomiosina apresentou a menor sensibilidade e menor valor preditivo positivo. Em sete pacientes alérgicos, a tropomiosina não foi detectada, apontando a importância de outros alérgenos do camarão, avaliados no *Western blot*. Os testes cutâneos apresentaram diferença estatística significativa entre alérgicos e não alérgicos e foi possível definir um ponto de corte, útil na distinção entre ambos. Os resultados dos valores de corte do teste cutâneo (média) para extrato comercial foram 5,75 mm, para camarão cru 6,75 mm e para camarão cozido 5,00 mm. Todos os pacientes são atópicos. **CONCLUSÃO:** A IgE específica para tropomiosina neste estudo não apresentou superioridade diagnóstica quando comparada aos testes cutâneos com camarão “*in natura*” e extrato, e a IgE específica para o camarão. Outros alérgenos, além da tropomiosina, devem ser considerados na avaliação diagnóstica para a alergia a camarão.

Descritores: 1.Hipersensibilidade alimentar; 2.Hipersensibilidade a frutos do mar; 3.Tropomiosina; 4. Reatividade cruzada; 5. Teste de provocação oral; 6.Diagnóstico; 7. Teste cutâneo de leitura imediata.

ABSTRACT

Dias PRM. *Value of the determination of specific IgE for tropomyosin in the diagnosis of shrimp allergy* [dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2018.

INTRODUCTION: Shrimp allergy is a common and potentially serious cause of food allergy-mediated IgE, including anaphylaxis. Unlike other food allergies, shrimp allergy affects predominantly adults and is usually lifelong. To date, there is no specific therapy for shrimp allergy. Patients need to exclude the crustacean from their diet and carry self-injectable adrenaline to be used if the reaction begins after accidental exposure. The complexity of the allergenic profile of shrimp has been increasingly recognized in the last ten years. The tropomyosin muscle protein was the first identified shrimp allergen and is considered its main allergen. Some studies indicate that tropomyosin presents high specificity in shrimp allergy, being pointed out as a possible and important diagnostic tool. **OBJECTIVE:** The objective of this study was to evaluate sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of tropomyosin in Brazilian patients under food restriction due to the suspicion of allergy to shrimp. **METHODS:** Thirty-two individuals with suspected allergy to shrimp were selected, who underwent immediate skin tests for shrimp (extract) and "in natura" (raw and cooked), mites and cockroaches. Serum dosages of IgE specific for shrimp, shrimp tropomyosin, mites and American cockroach were also performed. Clinical reactivity to shrimp was assessed by oral challenge tests. Shrimp used in skin tests and oral challenge tests was *Litopenaeus setiferus* (seabob). Western Blot 1 D of the allergic patients was performed. Cut-off calculations were performed for immediate-reading skin test and specific serum IgE using the ROC curve. **RESULTS:** Shrimp allergy was confirmed in 17 patients. Serum IgE specific for shrimp tropomyosin in this study showed sensitivity of 58.8%, specificity of 60%, positive predictive value of 62.5% and negative predictive value of 56%. Compared to shrimp-specific IgE and cutaneous shrimp skin tests with extract and “in natura”, tropomyosin was not detected, indicating the importance of other shrimp allergens evaluated in the Western blot. The skin tests presented a statistically significant difference between allergic and non-allergic and it was possible to define a cutoff point, useful in distinguishing between both. The results of the cutoff values of the skin test (average) for commercial extract were 5.75 mm, for raw shrimp 6.75 mm and for cooked shrimp 5.00 mm. All patients are atopic. **CONCLUSION:** The tropomyosin-specific IgE in this study did not present diagnostic superiority when compared to cutaneous tests with in natura shrimp and extract, and shrimp specific IgE. Other allergens, in addition to tropomyosin, should be considered in the diagnostic evaluation for shrimp allergy.

Key-words: 1.Food hypersensitivity; 2.Shellfish hypersensitivity; 3.Tropomyosin; 4.Cross-reactivity; 5.Oral food challenges; 6.Diagnostic; 7.Skin prick test.

1. Introdução

1.1. Alergia alimentar

A alergia alimentar é um problema de saúde pública que acomete milhões de pessoas no mundo todo, afetando todos os aspectos da vida do paciente. É definida como uma doença consequente a uma resposta imunológica anômala, que ocorre após a ingestão e/ou contato com determinado alimento (1).

A alergia alimentar representa um capítulo à parte entre as reações adversas a alimentos. De acordo com os mecanismos fisiopatológicos envolvidos, as reações adversas a alimentos podem ser classificadas em imunológicas e não-imunológicas (1).

As reações não-imunológicas dependem principalmente da substância ingerida (por exemplo as toxinas bacterianas presentes em alimentos contaminados) ou das propriedades farmacológicas de determinadas substâncias presentes em alimentos (por exemplo a cafeína no café e a tiramina em queijos maturados). As reações adversas não imunológicas podem ser desencadeadas também pela fermentação e efeito osmótico de carboidratos ingeridos e não absorvidos (1).

As reações imunológicas dependem de susceptibilidade individual e podem ser classificadas segundo o mecanismo imunológico envolvido. “Alergia alimentar” é um termo utilizado para descrever as reações adversas a alimentos dependentes de mecanismos imunológicos, mediados por anticorpos IgE ou não. As reações de hipersensibilidade aos alimentos podem ser classificadas em três tipos de acordo com o mecanismo imunológico envolvido: IgE mediadas, mistas e não-IgE mediadas (1).

Os dados sobre a prevalência de alergia alimentar ao redor do mundo, são conflitantes e variáveis a depender de idade e características da população avaliada (cultura, hábitos alimentares, clima), mecanismo imunológico envolvido, método de diagnóstico (autorreferido, questionário escrito, testes cutâneos, determinação de IgE sérica específica ou testes de provocação oral), tipo de alimento, regiões geográficas, entre outros (1). A prevalência global de alergia alimentar foi estimada entre 4% e 7% para crianças e entre 3% e 6% para adultos em países economicamente desenvolvidos porém nos Estados Unidos, a alergia alimentar afeta 15 milhões de americanos, incluindo 5,9 milhões de crianças com menos de 18 anos (2). O rápido aumento da

prevalência de alergia alimentar em todo o mundo agora é chamado de “segunda onda da epidemia de alergia” (3).

A prevalência e os padrões de alergia alimentar são altamente variáveis em diferentes partes do mundo. Diferenças na epidemiologia da alergia alimentar podem ser atribuídas a uma interação complexa de fatores genéticos, epigenéticos e ambientais, sugerindo que os mecanismos de alergia alimentar podem diferir em várias populações globais. Polimorfismos genéticos, migração, clima e práticas de alimentação infantil modulam o risco de alergia alimentar, e possivelmente também a eficácia de intervenções direcionadas à prevenção primária do desenvolvimento de alergia alimentar (3).

No Brasil, os dados sobre a prevalência de alergia alimentar são escassos e limitados a grupos populacionais, o que dificulta uma avaliação mais próxima da realidade. Em um estudo realizado por gastroenterologistas pediátricos foi apontado que a incidência de alergia as proteínas do leite de vaca era de 2,2%, e a prevalência de 5,4% em crianças entre os serviços avaliados (1).

Mais de 170 alimentos têm sido associados a alergias alimentares, sendo os mais comuns o leite, o ovo, o trigo, o peixe, os moluscos, o amendoim, a soja e as nozes, embora ocorram variações regionais (4).

A alergia alimentar por leite de vaca, ovo, trigo e soja podem desaparecer geralmente na infância, ao contrário da alergia a amendoim, nozes e frutos do mar que tendem a ser por toda a vida. As reações graves e fatais podem ocorrer em qualquer idade, mas os indivíduos mais susceptíveis são adolescentes e adultos jovens com asma e alergia previamente conhecida a amendoim, nozes ou frutos do mar (1).

Predisposições genéticas foram encontradas como sendo associadas com alergia alimentar e atopia nos genes que codificam as seguintes proteínas: filagrina, FOX P3, STAT 6, SPINK 5, IL -10 e IL-13 (4).

A alergia alimentar resulta de uma quebra da tolerância oral, atraso no desenvolvimento da tolerância oral, ou ambos em indivíduos geneticamente e ambientalmente predispostos à doença atópica (5).

A sensibilização a antígenos alimentares pode ocorrer no trato gastrointestinal, na cavidade oral, na pele e ocasionalmente no trato respiratório. De uma forma geral, após a ingestão, as proteínas são quebradas em grande parte pelo ácido gástrico e enzimas digestivas no estômago e no intestino. Subsequentemente, as proteínas e os

peptídeos alimentares intactos remanescentes são transportados do lúmen para a mucosa através das células epiteliais do intestino e por células epiteliais especializadas chamadas de células M, localizadas acima das placas de Peyer (6).

Além disso, a apresentação direta de antígenos / alérgenos ingeridos pode ocorrer quando as células dendríticas da mucosa estendem seus dendritos para o lúmen intestinal capturando estes alérgenos. Na mucosa, as células dendríticas internalizam e processam essas proteínas e se movem para áreas de células T dos linfonodos, onde as células dendríticas podem interagir com células T virgens e apresentar o antígeno nas moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) de classe II (6).

Diferentes subtipos de células dendríticas e a expressão de moléculas co-estimulatórias são importantes na determinação da resposta imune subsequente. Diversos fatores desempenham um papel no desenvolvimento da polarização TH2. A IL-4 secretada pelas células linfóides inatas, basófilos e células T *natural killer* são os principais agentes no desenvolvimento de respostas imunes. Recentemente, Wambre e colaboradores identificaram um subtipo único de células TH2 antígeno-específicas (Células TH2A) em pacientes alérgicos que dirigem a troca de classe IgE e expansão de células efectoras (7). Além disso, a ativação de células dendríticas mediada pelo ligante OX40 (OX40L) parece ser importante na indução de sensibilização a alérgenos alimentares. Produtos finais de glicação avançada em alimentos (gerados pelo alto calor ou na presença de alta concentração de açúcares nos alimentos) podem inadvertidamente ativar células dendríticas e linfócitos, resultando em um “falso alarme”, levando à sensibilização e alergia alimentar (8).

O equilíbrio entre a tolerância imunológica e a inflamação é regulado em parte pela relação entre as células imunes (inatas e adaptativas) e a microbiota intestinal. Muitos estudos fornecem associações claras e fortes entre a composição e a atividade metabólica da microbiota bacteriana e o desenvolvimento de doença alérgica por um desbalanço nas vias tolerogênicas (9). As bactérias da microbiota intestinal secretam histamina, que influencia respostas inflamatórias através do receptor de histamina 2. Foi demonstrado recentemente que há um aumento no número de microrganismos secretores de histamina no intestino de pacientes asmáticos (10). No entanto, ainda não se sabe se a histamina derivada de bactérias pode influenciar a resposta alérgica a alérgenos alimentares no intestino.

Alguns fatores podem influenciar as respostas teciduais e a resposta imune a antígenos alimentares (6):

- Fatores relacionados aos alimentos:
 - Fatores que prejudicam à barreira epitelial: álcool, toxinas, ingredientes desconhecidos, detergentes;
 - Tipo de adjuvantes no alérgeno e sua dose, microbiota produtos e contaminação de microrganismo;
 - Via de exposição;
 - Efeitos da matriz alimentar, como proteínas agregadas ou repetitivas, lipídeos e açúcares;
 - Temperatura de cozimento;
- Fatores relacionados ao indivíduo:
 - Idade e estado imune;
 - Microbioma;
 - Defeitos de barreira (mutação da filagrina entre outros);
 - Drogas (antiácidos);
 - Doença de base (atopia, imunodeficiências).

O tipo de manifestação clínica que ocorre na alergia alimentar depende do mecanismo envolvido e frequentemente ocorrem anafilaxias. Nas reações IgE mediadas os sintomas cutâneos como urticária e prurido são os mais comuns, ocorrendo em mais de 80% das reações. Podem ocorrer ainda sintomas respiratórios como broncoespasmo, gastrointestinais como vômitos e dor abdominal, e cardiovasculares como síncope e parada cardiorrespiratória. Deve-se atentar a possibilidade de reações bifásicas, que podem ocorrer em até 20% das reações causadas por alimentos (1).

A anamnese é ponto fundamental no diagnóstico da alergia alimentar. Através da história clínica do paciente é possível coletar dados como o potencial alimento envolvido, a reprodutibilidade de sintomas, as manifestações clínicas, o tempo entre a ingestão e as reações, fatores estes que são imprescindíveis para uma hipótese diagnóstica correta. Complementando a investigação, os métodos diagnósticos convencionais baseiam-se na detecção de IgE específicas no sangue ou na pele do paciente através da análise de reatividade aos extratos alergênicos comerciais ou especificamente na alergia alimentar, aos alimentos “in natura” com a técnica *prick to*

prick. Esta técnica que possibilita, em muitas situações, testar alimentos cujos extratos comerciais não estejam disponíveis.

O progresso na biologia molecular ao longo das últimas três décadas nos permitiu identificar e caracterizar alérgenos isolados em detalhes. Atualmente, em junho de 2015, mais de 3000 alérgenos diferentes (aproximadamente 1400 isoformas) foram descritos (www.allergome.org), dos quais quase 1500 foram expressos como proteínas recombinantes. Alguns destes alérgenos, muitos alimentares, encontram-se disponíveis para testes *in vitro*, quer como proteínas purificadas ou recombinantes (11).

O uso de moléculas alergênicas únicas (ao invés de extratos) introduziu uma nova área de alta resolução em diagnósticos de alergia molecular, também designados “diagnósticos resolvidos por componentes” (CRD, do inglês *component resolved diagnostic*) e mudou nossa compreensão sobre perfis de sensibilização e reatividade cruzada. Os testes são executados como ensaios simples contendo um alérgeno (singleplex) ou múltiplos, com mais de 100 alérgenos específicos (multiplex) (11). Estudos com testes de ativação de basófilos como possível biomarcador na alergia alimentar estão sendo realizados principalmente com amendoim (4).

Apesar dos avanços recentes, até o momento nenhum teste diagnóstico apresentou-se superior ao teste de provocação oral. Em pacientes com suspeita de alergia alimentar pela história clínica, cujos exames complementares não reforçam o diagnóstico de alergia, a única opção para confirmar o diagnóstico ainda são os testes de provocação oral.

O padrão atual de tratamento para alergia alimentar é evitar estritamente o alimento ofensivo. Uma quantidade significativa de pesquisas foram direcionadas a várias formas de imunoterapia incluindo as imunoterapias por via oral, sublingual e epicutânea (5,12). Embora a imunoterapia oral tenha mostrado a maior promessa de eficácia em termos da quantidade de proteína a ser ingerida, também demonstrou menor tolerabilidade e um perfil de segurança menos favorável quando comparado à imunoterapia sublingual e imunoterapia epicutânea, que oferece a menor proteção, mas tem melhor perfil de segurança e tolerabilidade. Estudos foram realizados com a adição de adjuvantes e anti-IgE para aumentar a eficácia ou a segurança da imunoterapia alimentar (5).

As perspectivas para pacientes alérgicos parecem melhores nos anos que virão. A imunoterapia por diversas vias de administração, os alérgenos modificados, os

imunobiológicos e os biomarcadores, são alguns recursos que poderão modificar a história do tratamento da alergia alimentar (13).

1.2. Alergia a frutos do mar

Frutos do mar ou mariscos são classificados em duas classes principais: crustáceos e moluscos. A prevalência de alergia a frutos do mar varia de 0,1 % a 5,5% no mundo, predominantemente em adolescentes e adultos (3).

Nos Estados Unidos, afeta aproximadamente 6,5 milhões de pessoas, sendo mais de duas vezes comum que a alergia ao amendoim (14).

A alergia aos frutos do mar apresenta importância singular na idade adulta. Inserido neste grupo, a alergia a camarão, apresenta uma das maiores taxas de anafilaxia induzida por alimentos, sendo responsável por até 42% das anafilaxias alimentares entre adultos e 12% entre as crianças (11). Dados espanhóis apontam que 85% das reações são causadas por crustáceos (15). Em ordem decrescente os mais envolvidos são: camarão, caranguejo, lagosta, moluscos, ostras e mexilhões (16).

Além da alta prevalência de reações, estudar a alergia aos frutos do mar também tem relevância pelo seu importante e crescente papel nutricional. Existem mais de 50.000 espécies de crustáceos e 100.000 espécies de moluscos. Destes, mais de 300 espécies são comestíveis, sendo uma rica fonte de proteínas e ácidos graxos ômega 3 (11). Nos últimos anos, houve um crescimento constante na produção e consumo de frutos do mar e especificamente, de crustáceos. O consumo de crustáceos no Brasil em 2013 segundo dados da Organização das Nações unidas para Agricultura e alimentação foi de mais de 125 mil toneladas (www.fao.org/brasil/pt/). As principais espécies consumidas são *Litopenaeus vannamei*, *Penaeus brasiliensis* e o *Xiphopenaeus kroyeri* (camarão sete barbas).

Esta maior conscientização do valor nutricional resultou no aumento do consumo de crustáceos e moluscos, aumentando também os relatos de reações alérgicas (17). A prevalência de reações alérgicas a frutos do mar é geralmente maior quando o consumo desempenha um papel importante na dieta da comunidade observada. Em 2004 um estudo onde foram realizados telefonemas para 14.948 participantes conduzido nos Estados Unidos revelou que 2% das pessoas reportaram alergia a quaisquer frutos

do mar (14). Já na Espanha, estudo semelhante identificou sensibilização em 6,8% das crianças (18).

Proteínas alergênicas são encontradas em altas concentrações nas regiões musculares comestíveis dos frutos do mar. Nos crustáceos, é encontrada na carne abdominal, caudal e das patas. Os métodos de processamento de alimentos, como tratamento térmico ou de pressão, não parecem alterar a maioria dos alérgenos, mas podem aumentar sua atividade alergênica (19).

Reações adversas a frutos do mar podem ser mediadas por mecanismos imunológicos e não imunológicos, pela exposição ao próprio fruto do mar ou a outro componente presente a ingestão. Reações podem ser elicitadas por diversas substâncias, como parasitas (*Anisakis simplex*), protocordados (Hoya), bactérias (*Vibrio*, *Klebsiella*, e *Pseudomonas*), vírus (hepatite A), toxinas (saxitoxina e ciguatera), aminas biogênicas, preservativos, flavorizantes e corantes (benzoato de sódio ou metabissulfitos) (15).

Os sintomas desenvolvidos por pacientes alérgicos após a ingestão de crustáceos são similares aos de outros alimentos. Reações imediatas geralmente ocorrem nas primeiras duas horas. Alguns casos de reação tardia em até 8 horas foram descritos. Sintomas podem ocorrer em alguns casos após contato inalatório. Esta via geralmente provoca sintomas respiratórios e cutâneos e raramente acometimento dos demais sistemas. A apresentação clínica da alergia a crustáceos, segundo dados Espanhóis recentes, inclui sintomas cutâneos (82%), síndrome da alergia oral (28%), sintomas gastrointestinais (18%), anafilaxia (20%), asma (5%), rinite e asma induzida por exercício (<5%) (15).

Apenas alguns estudos avaliaram a história natural da alergia aos frutos do mar e parecem indicar que é duradoura. Em um estudo com 11 indivíduos com hipersensibilidade a camarão foi visto que os níveis de IgE específicos para camarão em todos os indivíduos foram relativamente constantes durante os 24 meses do estudo e não foram alterados pelo teste de provocação oral (20).

Outro estudo no entanto, revelou que crianças com alergia a camarão têm níveis mais altos de anticorpos IgE específicos, apresentam ligação mais intensa a peptídeos de camarão e maior diversidade de epítomos do que adultos, sugerindo que a sensibilização a camarão pode diminuir com a idade (21).

O principal alérgeno do camarão é a tropomiosina (*Pen a 1*), mas muitos outros alérgenos foram caracterizados e seus epítomos identificados, mas a relevância clínica desta sensibilização não é clara (22).

O diagnóstico de alergia aos crustáceos continua a ser um desafio para os médicos incluindo os especialistas. Apesar da gravidade e prevalência das reações, não há até o momento cura para a alergia aos frutos do mar e a restrição total é a recomendação aos alérgicos.

1.3. Camarão *Xiphopenaeus kroyeri*

A espécie de camarão *Xiphopenaeus kroyeri* foi descrita em 1862 por Heller. Apresenta distribuição mundial, desde a Carolina do Norte (Estados Unidos) até o Rio Grande do Sul (Brasil), sendo a única espécie do gênero *Xiphopenaeus* que ocorre no Atlântico Ocidental (23).

Nos estados Unidos é conhecido como *seabob* e no Brasil como camarão sete barbas ou camarão chifrudo (24).

Sua pesca artesanal é denominada "pesca de sol a sol" e realizada em grande escala no litoral brasileiro, apresentando uma significativa importância econômica, histórica, social e cultural. Atualmente, a pesca desta espécie é considerada a de maior interesse econômico e o segundo recurso pesqueiro nas regiões Sudeste-Sul do Brasil (25).

Segundo dados do *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), nos Estados Unidos é a espécie mais importante comercialmente da Flórida ao Texas. A captura por espécies nos Estados Unidos vem aumentando em larga escala. Em 1970, os relatos de captura global do camarão sete barbas foram de 10 mil toneladas. Em 2000, aumentou para 40.000 toneladas, chegando em 2014 (último dado disponível) em mais de 50.000 toneladas capturadas.

Nas Guianas é o camarão comercial mais comum na pesca local. É vendido fresco, seco ou congelado e é exportado.

No Brasil a espécie é objeto de uma pescaria importante especialmente no norte do país, mas também até o sul de Santa Catarina onde é utilizado na sua maioria localmente. A captura total reportada para esta espécie à FAO no Brasil em 1999 foi de 28 mil toneladas.

No Brasil, o camarão sete barbas esta entre as três espécies mais consumidas pela população (26).

Apesar do crescente estudo dos alérgenos do camarão nas duas últimas décadas, o *X. kroyeri* não foi estudado em relação a alergia alimentar em nenhuma publicação até o momento. Também não apresenta alérgenos identificados. Assim, é de fundamental importância o conhecimento e a utilização desta espécie em estudos para a melhor compreensão da alergia a camarão no Brasil e em todo o mundo.

1.4. Tropomiosina e reatividade cruzada

O principal alérgeno encontrado no camarão é a proteína muscular tropomiosina, que foi descrita como um alérgeno de crustáceos em 1981. Em 1993, observou-se a presença de tropomiosina como um alérgeno solúvel na fração termoestável que determinava a alergenicidade do extrato. Suas características estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 – Características básicas da proteína *Pen a 1*

Fonte alergênica	Camarão
Família de proteínas	Tropomiosina
Número de acesso no UniProtKB	Q3Y8M6
Estrutura tridimensional disponível	Não
Estrutura molecular	Alfa-hélice
Peso molecular teórico	32,8 kDa
Comprimento	284 aminoácidos
Ligantes	Sim
Dimerização	Homodímero
Glicosilação	Não
Pontes dissulfeto	Não
Ponto isoelétrico	4,72
Síntese	Várias isoformas
Distribuição	Células musculares e não-musculares

FONTE: 1: Matricardi PM, et. al, EAACI Molecular Allergy User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016 May;27 Suppl. 23:330. doi: 10.1111/pai.12563 (11).

A molécula de tropomiosina está associada aos filamentos delgados do músculo e a microfilamentos de muitas células em diferentes órgãos e atua na contração muscular. A função desta proteína em células diferentes dos miócitos é desconhecida.

Acredita-se que participe na regulação da morfologia celular e na motilidade dos organismos.

Desde os primeiros estudos realizados identificando a tropomiosina como o principal alérgeno na alergia a camarão, admitiu-se que pelo menos 80% dos pacientes alérgicos a camarão reagem a tropomiosina (27).

Atualmente, os estudos apontam que entre 60 a 80% dos pacientes possuem IgE que reconhecem a tropomiosina, sendo isoladamente encontrada como alérgeno em 12% dos pacientes (22,28).

A tropomiosina pertence a uma família de proteínas consideradas pan alergenos (11,29).

A sequência de aminoácidos da tropomiosina é altamente conservada entre os frutos do mar e outros invertebrados, onde compartilham mais de 70% de identidade; sua comparação com tropomiosinas de vertebrados revela 51 a 57% de identidade (30). Dentre os diferentes tipos de tropomiosinas, algumas são clinicamente relevantes (Tabela 2).

Tabela 2 – Lista de tropomiosinas clinicamente relevantes

Família	Fonte alergênica	Alérgeno
<i>Penaeoidea</i>	<i>Penaeus aztecus</i>	<i>Pen a 1</i>
	<i>Pandalus borealis</i>	<i>Pan b 1</i>
	<i>Penaeus monodon</i>	<i>Pen m 1</i>
	<i>Litopenaeus vannamei</i>	<i>Lit v 1</i>
	<i>Crangon crangon</i>	<i>Cra c 1</i>
<i>Palinuridae</i>	<i>Panulirus stimpsoni</i>	<i>Pan s 1</i>
<i>Cancridae</i>	<i>Charybdis feriatus</i>	<i>Cha f 1</i>
<i>Hellixidae</i>	<i>Helix aspersa</i>	<i>Hel as 1</i>
<i>Mytilidae</i>	<i>Perna viridis</i>	<i>Per v 1</i>
<i>Octopodidae</i>	<i>Octopus vulgaris</i>	<i>Oct v1</i>
<i>Ommastrephidae</i>	<i>Todarodes pacificus</i>	<i>Tod p 1</i>
<i>Osteidae</i>	<i>Crassostrea gigas</i>	<i>Cra g 1</i>
<i>Haliotidea</i>	<i>Haliotis diversicolor</i>	<i>Hal d 1</i>
<i>Pyroglyphidae</i>	<i>Dermatophagoides farinae</i>	<i>Der f 10</i>
	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	<i>Der p 10</i>
<i>Echymiopodidae</i>	<i>Blomia tropicalis</i>	<i>Blo t 10</i>
<i>Blattidae</i>	<i>Periplaneta americana</i>	<i>Per a 7</i>
<i>Blattellidae</i>	<i>Blattella germanica</i>	<i>Bla g 7</i>
<i>Anisakidae</i>	<i>Anisakis simplex</i>	<i>Ani s 3</i>
<i>Ascaridae</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Asc l 3</i>

FONTE: 1: Matricardi PM, et. al, EAACI Molecular Allergology User's Guide. Pediatr Allergy Immunol. 2016 May;27 Suppl. 23:330. doi: 10.1111/pai.12563 (11).

A sensibilização a tropomiosina pode ocorrer por ingestão do alérgeno (frutos do mar), inalação do alérgeno (ácaros, baratas) ou infecção por parasita (ascaridíase, anisakiase) (11).

É considerada responsável pela reatividade cruzada entre os membros da classe artrópoda, incluindo camarão (*Pen 1*) e ácaros (*Der p 1*, *Der p 10*, *Der f 10*). A prevalência de alergia a camarão é maior em regiões com alta prevalência de alergia aos ácaros. De fato, quase todos os pacientes sensibilizados a camarão apresentaram teste cutâneo positivo para ácaros com ou sem relevância clínica e 20-29% dos pacientes alérgicos aos ácaros mostraram sensibilização ao *Der p 10*, tropomiosina do ácaro *Dermatophagoides pteronyssinus* (13). Frequentemente, pacientes alérgicos a ácaros são sensibilizados para camarão com tolerância alimentar. Acredita-se que as tropomiosinas inaladas dos ácaros sejam o principal sensibilizador para a alergia a camarão em climas tropicais, quentes e úmidos (31).

Baratas produzem várias proteínas que induzem respostas de anticorpos IgE. Em 1999 a brasileira Karla Arruda e colaboradores estudaram a frequência de alergia a baratas em pacientes com asma, rinite ou ambos no Brasil e identificaram alérgenos de baratas americanas (32). Em crianças e adultos jovens, a alergia a baratas foi encontrada em 55% e 79% dos pacientes, sensibilização determinada por teste cutâneo de leitura imediata (TCLI). A tropomiosina da *P. americana* mostrou 80%, 81% e 82% de identidade de sequência com tropomiosinas de *D pteronyssinus*, *D farinae* e camarão, respectivamente. A identificação da tropomiosina da *P. americana* como um alérgeno importante permitiu novos estudos a investigarem a reatividade cruzada entre baratas, ácaros e alimentos derivados de invertebrados (32).

A reatividade cruzada imunológica não traduz, necessariamente, a existência de reatividade clínica. As sensibilizações assintomáticas a alimentos são relativamente frequentes (33).

Vários epítomos de ligação a IgE de tropomiosinas de camarão têm sido relatados. Ayuso e colaboradores identificaram os principais locais de ligação da IgE na *Pen a 1* que eram epítomos de reação cruzada entre camarão, lagosta, ácaro da poeira doméstica e barata (27,34). Os locais incluem oito epítomos de ligação a IgE: epítomo 1 (resíduos 43 - 55) na região 1; epítomo 2 (resíduos 87 - 101) na região 2; epítomos 3a (resíduos 137 - 141) e 3b (resíduos 144 - 151) na região 3; epítomo 4 (resíduos 187 - 197) na região 4; e epítomos 5a (resíduos 249 - 259), 5b (resíduos 266 - 273) e 5c

(resíduos 273 - 281) na região 5 (11). Análises adicionais desses epítomos e comparando-as com outras sequências relacionadas sugeriram que elas podem ser classificadas em três tipos (35):

- Tipo 1 - Epítomo 5a que é altamente conservado entre crustáceos, moluscos, insetos e ácaros;
- Tipo 2 - Epítomos 2, 3 e 4, que representam todos os artrópodes, mas não os moluscos;
- Tipo 3 - epítomos 1, 5b e 5c, que são específicos para crustáceos.

Além disso, epítomos de células T foram descritos. Ravkov e colaboradores identificaram e validaram epítomos de células Th17 restritos a múltiplos alelos de MHC de classe II. Essa descoberta é potencialmente útil para projetar imunoterapia baseada em peptídeos na alergia a camarão. O desafio de novos estudos é analisar quais epítomos das tropomiosinas são marcadores específicos da espécie (36).

Há uma hipótese que a realização de imunoterapia subcutânea para ácaros em pacientes sensibilizados a camarão pode aumentar os sintomas de alergia na ingestão desses alimentos. A sensibilização à tropomiosina de camarão em judeus ortodoxos foi demonstrada em pacientes alérgicos a ácaros, mesmo sem a ingestão do camarão (37).

Embora as tropomiosinas de reação cruzada sejam boas candidatas para explicar essas observações, outros alérgenos podem estar envolvidos. Além disso, outros autores obtiveram resultados opostos em relação à imunoterapia, sugerindo que os efeitos colaterais adversos não são universais e podem ser influenciados pelo tipo de imunoterapia e pelos fatores genéticos que determinam a suscetibilidade de serem sensibilizados por outros alérgenos (11).

1.5. Outros alérgenos do camarão descritos

A tropomiosina foi o primeiro alérgeno identificado nos crustáceos, mas na última década outros alérgenos foram caracterizados e atualmente 9 espécies de camarão apresentam alérgenos descritos, porém muitos ainda não foram reconhecidos pela IUIS (tabela 3).

Tabela 3- Alérgenos identificados em diferentes espécies de camarão

Espécie	Alérgeno	Proteína	Peso molecular	Resistent e ao calor	IUIS
<i>Artemia franciscana</i> (Camarão salmoura)	Art fr 5	Cadeia leve de Miosina 1	~ 17.5 kDa	Sim	Sim
<i>Crangon crangon</i> (Camarão do mar do norte)	Crac c 1	Tropomiosina	~ 38 kDa	Sim	Sim
	Crac c 2	Arginina quinase	~ 45 kDa	Não	Sim
	Crac c 4	Proteína de ligação ao cálcio sarcoplasmático	~ 25 kDa	Sim	Sim
	Crac c 5	Cadeia leve de Miosina 1	~ 17.5 kDa	Sim	Sim
	Crac c 6	Troponina C	~ 21 kDa	Sim	Sim
	Crac c 8	Triosefosfato isomerase	~ 28 kDa	Não	Sim
<i>Litopenaeus vannamei</i> (Camarão branco)	Lit v 1	Tropomiosina	36 kDa	Sim	Sim
	Lit v 2	Arginina quinase	~ 40 kDa	Não	Sim
	Lit v 3	Cadeia Leve de Miosina 2	20 kDa	Sim	Sim
	Lit v 4	Proteína de ligação ao cálcio sarcoplasmático	20 kDa	Sim	Sim
	Lit v PK	Piruvato quinase	64 kDa	_____	Não
	Lit v Trx	Tioredoxina	12 kDa	_____	Não
<i>Metapenaeus sensis</i>	Met e 1	Tropomiosina	_____	Sim	Sim
<i>Pandalus borealis</i> (Camarão do norte)	Pan b 1	Tropomiosina	37 kDa	Sim	Sim
	Pan b Myosin	Cadeia Pesada de Miosina	200-225 kDa	_____	Não
<i>Penaeus aztecus</i> (Camarão marrom)	Pen a 1	Tropomiosina	36 kDa	Sim	Sim
<i>Penaeus indicus</i>	Pen I 1	Tropomiosina	34 kDa	Sim	Sim
<i>Penaeus monodon</i> (Camarão tigre negro)	Pen m 1	Tropomiosina	38 kDa	Sim	Sim
	Pen m 2	Arginina quinase	40 kDa	Não	Sim
	Pen m 3	Cadeia Leve de Miosina 2	19 kDa	Sim	Sim
	Pen m 4	Proteína de ligação ao cálcio sarcoplasmático	22 kDa	Sim	Sim
	Pen m 6	Troponina C	17 kDa	Sim	Sim
	Pen m Enolase	Enolase	47 kDa	_____	Não
<i>Solenocera melanthero</i>	Sol me Actinin	Actinina	94 kDa	_____	Não
	Sol me FPA	Aldolase	43 kDa	_____	Não
	Sol me alpha actin	Alfa actina	46 kDa	_____	Não
<i>Sergia lucens</i>	Ser lu1	Tropomiosina	_____	Sim	Não
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Mac r Hemocyanin	Hemocianina	90 kDa	Sim	Não

FONTE: Faber MA, et. Al, Shellfish allergens: tropomyosin and beyond. Allergy 2017; 72: 842–848 (38); <http://www.allergome.org/>. 2017; <http://www.iuisonline.org/>. 2017.

Legenda: kDa – kilodalton; ____ - Não disponível.

Outros alérgenos menores (reconhecidos por menos de 50% da população alérgica) foram identificados e caracterizados no camarão. A arginina quinase é um alérgeno muscular de 40 kDa (*Pen m 2*) e foi reconhecido em 27% de um grupo de indivíduos alérgicos a camarão (39).

Em 2008, Ayuso e colaboradores identificaram no *L. vannamei* uma cadeia leve da miosina (*Lit v 3*), de 20 kDa, com alta semelhança com *Blag g 8*, cadeia leve da miosina de barata (40).

Um ano depois, o mesmo grupo de investigadores identificou uma proteína de ligação sarcoplasmática (*Lit v 4*) em *L. vannamei* (41).

Além disso, α -actinina, β -actina, frutose-bifosfato-aldolase e ubiquitina foram identificados como alérgenos no *Solenocera melanthera*. Outros autores identificaram a hemocianina subunidade C em pacientes alérgicos (42).

Paramiosina, uma proteína miofibrilar específica de invertebrados, é um alérgeno termolábil de 100 kDa recentemente identificado como um alérgeno em vários crustáceos (31).

Atualmente, o papel dos alérgenos diferentes da tropomiosina na alergia a camarão ainda não está bem definido. Asero e colaboradores mostraram que os indivíduos italianos alérgicos a camarão reagem a uma ampla variedade de alérgenos e que a tropomiosina é o alérgeno relevante apenas em uma minoria de pacientes. Também foi observado que uma grande proporção de indivíduos reage a proteínas alergênicas de alto peso molecular não identificadas até o momento (43).

Um importante estudo recente avaliou o diagnóstico molecular da alergia a camarão e concluiu que a associação de sensibilização a tropomiosina e proteína sarcoplasmática ligadora de cálcio está relacionada a reatividade clínica a camarão. A presença de cadeia leve da miosina pode auxiliar também no diagnóstico de reatividade clínica. Já a arginina quinase e a hemocianina parecem ser alérgenos de reatividade cruzada entre camarão e artrópodes (22).

1.6. Ferramentas atuais para o diagnóstico da alergia a camarão

Na avaliação diagnóstica das reações adversas a alimentos, a história clínica tem papel fundamental. O seu valor depende muito da capacidade recordatória dos sintomas pelos pacientes e da expertise do médico em diferenciar as manifestações causadas por

hipersensibilidade alimentar daquelas relacionadas a outras condições. Além disso, com base nas informações obtidas pela anamnese, a investigação laboratorial poderá ser implementada ou não, e muitas vezes, lançando-se mão de exames complementares para confirmação e/ou elucidação diagnóstica. A avaliação crítica do mecanismo provável da alergia alimentar irá dirigir a solicitação dos exames complementares, quando necessários (13).

A história clínica, TCLI e a IgE específica sérica auxiliam no diagnóstico da alergia a camarão. O teste cutâneo e a IgE específica sérica identificam sensibilização, mas não estabelecem reatividade clínica.

O TCLI é um método seguro e rápido para triagem de pacientes com suspeita de alergia a camarão. Um estudo incluiu 68 pacientes que foram submetidos a testes de provocação oral (TPO) com o objetivo de comparar diferentes extratos para teste cutâneo de camarão e *prick to prick*. O *prick to prick* destacou-se como melhor método em concordância com o diagnóstico de alergia a camarão, com valor preditivo positivo de 95% (21).

Outro estudo mostrou que proteínas contidas em extratos crus e cozidos de camarão e duas espécies de lagosta são ligeiramente diferentes. TCLI foram realizados com estes extratos em 78 pacientes. Extratos com proteínas cozidas mostraram melhor performance diagnóstica, detectando 4% mais pacientes sensibilizados a camarão e 18% mais pacientes sensibilizados a lagosta (44).

Já a detecção da IgE sérica específica *in vitro* pode ser realizada por vários métodos, porém o mais empregado na atualidade é o Sistema ImmunoCAP® (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suécia). Atualmente existem 14 alérgenos de frutos do mar e 1 tropomiosina de camarão (*rPen a 1*) disponíveis para investigação pelo ImmunoCAP®.

A detecção de IgE para camarão nem sempre se correlaciona com os sintomas clínicos. Pacientes atópicos tendem a ter níveis de IgE mais elevados quando comparados a não atópicos e podem apresentar resultados falso positivos. Até o momento, nenhum estudo definiu pontos de corte de IgE para camarão sendo um ponto dificultador a reatividade cruzada *in vitro* sem expressão clínica (45).

No ano de 2010, Yang e colaboradores observaram que a IgE específica para tropomiosina de camarão apresentou maior especificidade (92,8%) e maior valor preditivo negativo quando comparados a o TCLI para camarão e também IgE específica

para camarão (26). De acordo com estes resultados, outro estudo mostrou que a determinação de IgE para tropomiosina (*rPen a 1*) apresentou valor preditivo positivo (VPP) de 0,72 e valor preditivo negativo (VPN) de 0,91 em 45 pacientes com suspeita de alergia a camarão, sendo 18 deles confirmados por TPO (26).

Além da tropomiosina (*nPen m 1*), outros alérgenos do camarão como arginina quinase (*nPen m 2*) e proteína sarcoplasmática ligadora de cálcio (*nPen m 4*) podem ser estudados através do ImmunoCAP ISAC[®], extraídos da espécie *Penaeus monodon*.

O padrão ouro para o diagnóstico da alergia alimentar, incluindo o camarão, continua sendo os testes de provocação oral duplo cego placebo controlado (DCPC). É o teste de escolha quando sintomas subjetivos estão presentes (11).

Os testes de provocação oral são indicados para confirmação diagnóstica ou para determinar o desenvolvimento de tolerância. Consistem na administração fracionada do alimento suspeito, em doses crescentes, sob supervisão médica. São considerados positivos quando reproduzem os sintomas relatados na anamnese. Representam procedimentos de risco, em razão da possibilidade de manifestações clínicas graves (46).

Existem três formas de realizar a provocação oral:

- Aberta: o alimento é oferecido sem disfarce. É o método mais prático e adequado para triagem de reatividade clínica. Quando negativa afasta o diagnóstico de alergia alimentar, mas a positividade pode necessitar confirmação pelo duplo cego;
- Simples cego: o alimento é mascarado (em cápsulas ou em veículo), e somente o médico sabe o que está sendo oferecido. Consomem menos tempo que o duplo cego e são úteis quando múltiplos alimentos serão testados;
- Duplo-Cego placebo controlado (DCPC): Nesta forma de teste, paciente e médico não sabem se o que está sendo oferecido. Contém o alimento suspeito ou o placebo, reduzindo a chance de interferências psicológicas.

As doses que elicitam sintomas em testes de provocação oral dependem dos estudos. Wu e Williams reportaram um caso de anafilaxia fatal após a ingestão de 3 caracóis (47). Dois estudos que avaliaram adultos submetidos a DCPC reportaram reações com 14 e 16g de camarão. Recentemente, três pacientes submetidos a TPO com camarão, desenvolveram anafilaxia com doses entre 2 e 7,5g. (50,51).

2. Justificativa

O diagnóstico de alergia a camarão ainda é um grande desafio na prática clínica e frequentemente exige a realização dos testes de provocação oral.

Na busca por ferramentas que poderiam definir o diagnóstico destes pacientes e embasados por estudos como o de Yang e colaboradores 2010 (26) que apontaram uma elevada especificidade e valor preditivo negativo da tropomiosina na alergia a camarão, nasceu a motivação para a realização deste estudo.

As publicações prévias, em sua grande maioria abordam uma população de atópicos, mas os estudos da tropomiosina no diagnóstico da alergia a camarão numa população com suspeita real de alergia alimentar são escassos. Na prática clínica, ao se avaliar casos que estão em restrição alimentar devido a suspeita de alergia a camarão, defronta-se com o dilema da necessidade de se realizar o TPO, um procedimento trabalhoso e de risco clínico. A suspeita de alergia que leva à restrição deveria ser decorrente de história de sintomas imediatos após consumo do crustáceo, entretanto, na prática do especialista, muitos pacientes chegam para avaliação após longos períodos de restrição alimentar decorrente unicamente da positividade em testes de sensibilização IgE específica, os quais, nessa condição de restrição prolongada, demandam TPO supervisionado. Diante da suspeita de alergia a camarão, seria desejável, o estudo de métodos diagnósticos mais específicos e com melhor potencial discriminatório entre alérgicos e não alérgicos. Aliado a este fato, observamos que não existem estudos publicados sobre alergia usando o camarão sete barbas, bem como ainda não foi descrito nenhum alérgeno desta espécie.

Diante de tantos fatores, acreditamos que este estudo nos auxilie a entender o papel da tropomiosina nos pacientes brasileiros alérgicos a camarão.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Determinar sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo da IgE específica para tropomiosina na alergia a camarão.

3.2. Objetivos específicos

- Comparar sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo da pesquisa de IgE específica para tropomiosina de camarão com os resultados dos métodos diagnósticos convencionais de teste cutâneo e IgE sérica específica para camarão;
- Conhecer o perfil de sensibilização dos pacientes aos alérgenos que apresentam reatividade cruzada devido à tropomiosina. Especificamente: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Periplaneta americana*;
- Determinar valores de corte para IgE específica para camarão, tropomiosina de camarão, bem como para testes cutâneos de leitura imediata para camarão com extrato comercial e camarão “in natura”;
- Verificar a presença de reatividade de IgE a diferentes proteínas do extrato de camarão *X. kroyeri* em indivíduos com diagnóstico confirmado de alergia a camarão, reativos ou não à tropomiosina.

4. MÉTODOS

4.1. Aprovação ética

O projeto foi aprovado, em sessão do dia 06 de julho de 2011, pela Comissão de Ética para análise de projetos de pesquisa - CAPPesq da diretoria clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, protocolo de pesquisa no 0351/10 (Apêndice 2), e os participantes ou responsáveis, que optaram por participar do estudo, assinaram o termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 3).

4.2. Modelo do estudo

O estudo caracteriza-se como uma coorte prospectiva e os pacientes incluídos, de acordo com os critérios de seleção previamente estabelecidos, foram avaliados através de anamnese, exame físico, testes cutâneos de leitura imediata, coleta sanguínea e então, submetidos a testes de provocação oral com camarão.

4.3. Seleção dos pacientes

Os pacientes foram recrutados no ambulatório de Alergia alimentar e Dermatite atópica do Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo de março de 2012 a julho de 2016.

4.4. Casuística

Os 42 pacientes incluídos no estudo estavam em acompanhamento ou foram encaminhados para triagem no Ambulatório de Alergia Alimentar e Dermatite Atópica do Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, onde foram conduzidas as avaliações. Todos os pacientes incluídos apresentavam suspeita de alergia a camarão, apresentando história clínica prévia compatível com alergia e/ou teste cutâneo de leitura imediata ou IgE sérica específica positivas para o crustáceo.

Todos os pacientes, após anamnese e assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido, realizaram teste cutâneo de leitura imediata em duplicata para *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Periplaneta americana*, extrato de camarão, camarão cru e cozido, histamina e solução salina. Em seguida, realizada coleta sanguínea para análise de IgE específica para *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Periplaneta americana*, camarão e tropomiosina de camarão.

4.5. Critérios de inclusão

- Idade: ≥ 12 e ≤ 65 anos
- Suspeita de alergia a camarão definida por:
 - Perfil 1: Pacientes em exclusão alimentar para camarão com história clínica compatível com reação IgE mediada, incluindo reações anafiláticas que ocorreram há um ano ou mais. Sensibilizados ou não a camarão;
 - Perfil 2: Pacientes em exclusão alimentar para camarão com história de anafilaxia há menos de um ano, com TCLI para extrato comercial ou camarão “in natura” positivo
 - Perfil 3: Pacientes em exclusão alimentar para camarão devido sensibilização prévia positiva para camarão (teste cutâneo e/ou IgE sérica específica).

4.6. Critérios de exclusão

1. Gravidez;
2. Analfabetos;
3. Doença psiquiátrica;
4. Uso contínuo de betabloqueadores;
5. Asma grave não controlada (GINA, 2002);
6. Imunoterapia específica prévia para ácaro.

4.7. Teste cutâneo de leitura imediata

Os testes cutâneos de leitura imediata (TCLI) foram realizados com extratos comerciais (IPI-ASAC, Brasil) de aeroalérgenos disponíveis no local do estudo, incluindo: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis* e *Periplaneta americana*, além dos controles histamina e solução salina. Para os testes com camarão foram usados: extrato de camarão (Stallergenes Greer, Estados Unidos), camarão cru e cozido (dez segundos em potência média de microondas em água).

Os TCLI foram realizados na superfície volar do antebraço, usando lanceta apropriada posicionada a um ângulo de 90°, fazendo pequena pressão através da gota na epiderme, durante 5 segundos. A leitura do teste foi feita após 20 minutos medindo-se os diâmetros das pápulas com régua transparente. Para a interpretação dos resultados calculou-se a média aritmética entre o maior diâmetro e seu respectivo diâmetro ortogonal, sendo consideradas positivas as pápulas iguais ou maiores que 3 milímetros, subtraindo-se o tamanho da pápula do controle negativo, caso houvesse. Controles, positivo (histamina) e negativo (solução salina), foram aplicados em todos os testes. Visando a consistência dos resultados, apenas o pesquisador realizou todos os testes, e registrou a média dos dois diâmetros de cada pápula. Os testes cutâneos foram realizados em duplicata nos dois antebraços e como resultado final para análise dos dados considerou-se a maior média obtida.

Os resultados foram documentados com cópia do contorno das pápulas em fita transparente, e transferidas para a folha de papel e anexada ao prontuário de cada paciente. Para a realização do teste cutâneo foi orientado suspender o uso de anti-histamínicos por pelo menos 07 dias antes de sua realização.

4.8. Dosagem de IgE sérica específica

As dosagens de anticorpos IgE específicos para *D. pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Periplaneta americana*, camarão e tropomiosina de camarão no soro foram realizadas no Laboratório de Investigação Médica – 60 (LIM-60), onde já são dosados de rotina valores de IgE total e específicas provenientes dos pacientes atendidos no ambulatório de Imunologia Clínica e Alergia do HC-FMUSP, utilizando o sistema ImmunoCAP 100® (Phadia, Brasil). Os resultados são quantitativos e medidos de 0 a

100 kUA/l. Para este estudo, foram considerados positivos valores igual ou superior a 0,35 kUA/l.

4.9. Testes de provocação oral

Provocações orais, duplo cego, controladas por placebo (DCPC) foram realizadas inicialmente nos indivíduos com história de reação a camarão há mais de um ano, e foram consideradas positivas mediante desencadeamento de sinais objetivos de alergia. No caso de DCPC negativa ou inconclusiva o paciente foi submetido a um teste de provocação aberta. Sintomas subjetivos como irritação ou desconforto em lábios, boca ou garganta, foram definidos como inconclusivos e somente foram valorizados como positivos se houvesse uma história sugestiva recente com evidência de reatividade IgE para camarão (pelo teste cutâneo ou IgE sérica).

O DCPC foi realizado em duas etapas com no mínimo sete dias de intervalo. O mascaramento do camarão foi realizado por uma mistura de 1 colher de chá de aveia em flocos, uma colher de chá de creme de avelã, uma colher de chá de chocolate em pó, 1 medida da tampa do próprio frasco de extrato de baunilha, 1 colher de chá de sorvete de flocos. Esta era a base para o placebo e também com o adicional de camarão, quando o alérgeno era oferecido.

Ao total foram oferecidos 9,200 g de camarão em cada teste, em 4 etapas com intervalo de 30 minutos (200mg, 2g, 3g e 4g). Todos os pacientes foram observados por no mínimo 2 horas após o término do desencadeamento oral. Não havendo reação, o paciente era indicado ao desencadeamento aberto.

Os pacientes sem história clínica porém sensibilizados a camarão foram submetidos diretamente a provocação oral aberta.

Os camarões foram adquiridos no litoral de São Paulo (Guarujá), e imediatamente após a pesca foram imersos em gelo, limpos e congelados. No barco não houve a adição de sulfitos ou qualquer outro conservante com o objetivo de não apresentar qualquer dúvida ou interferência nos testes de provocação oral. Usamos para o TCLI e também para o desencadeamento oral o camarão *Xiphopenaeus kroyeri* (sete barbas).

Aqueles indivíduos que não apresentaram manifestações objetivas no DCPC receberam 12 camarões inteiros cozidos (equivalente a 30g) em um teste de provocação

aberto, realizada com o intervalo mínimo de sete dias. O procedimento de desencadeamento era interrompido se reação objetiva fosse observada.

Durante todo o procedimento de provocação os pacientes foram acompanhados com uma ficha de observação onde foram anotados todos os sintomas referidos e sinais clínicos observados. Os registros eram feitos antes da administração de cada dose, incluindo medida de pico de fluxo expiratório, frequência respiratória, frequência cardíaca, oximetria e pressão arterial. A provocação era interrompida mediante desencadeamento de sintomas sugestivos de reação alérgica: prurido oral, *rash*, urticária, angioedema, sintomas gastrointestinais, sinais e sintomas respiratórios e comprometimento cardiovascular. As reações leves, com comprometimento apenas cutâneo, foram tratadas com anti-histamínico. As reações mais graves receberam tratamento com oxigenioterapia inalatória, adrenalina solução 1:1000, 0,5 ml, intramuscular; anti-histamínico; e corticosteroide por via endovenosa e se necessário expansão volêmica.

4.10. *Western blotting* 1D

A separação inicial das proteínas do extrato bruto foi realizada por eletroforese 1D em gel de poliacrilamida 15%. Cerca de 30µg de proteínas do extrato total de camarão foram previamente aquecidas a 95°C na presença de Dodecil sulfato de sódio e de um reagente tiol (2-mercaptoetanol), para desnaturação e quebra das pontes dissulfeto e consequente desnaturação das proteínas.

A amperagem aplicada para a eletroforese foi de 10 mA/gel durante 20 minutos ou até a entrada da amostra no gel de resolução e de 30 mA/gel até o fim da corrida. Os géis foram corados com Commassie Blue Coloidal (48). As imagens dos géis foram capturadas utilizando-se o fotodocumentador LAS 4000 (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Suécia).

As proteínas separadas em SDS-PAGE foram eletrotransferidas do gel para membranas de nitrocelulose em um sistema de eletrotransferência *Trans-Blot Turbo Transfer System* (Bio-rad Califórnia, EUA).

Nos ensaios de *Western Blotting* para detecção de IgE específicas à proteínas da carne do camarão, foram utilizados soros de indivíduos com alergia a camarão com diagnóstico confirmado. O anticorpo utilizado foi Anti-IgE humano produzido em

camundongos (ϵ - específica) e conjugado à *Horseradish Peroxidase* (HRP) (Invitrogen-Califórnia, EUA).

A membrana de nitrocelulose foi bloqueada com TBS-Tween 20 a 0,1% (v/v) e leite em pó desnatado 5% (m/v) por 1 hora, em temperatura ambiente. Os soros dos indivíduos foram solubilizados em TBS-Tween 20 a 0,1% (v/v) e leite em pó desnatado 5% (m/v), diluídos na proporção 1:5. A membrana foi incubada com o soro dos indivíduos a 4°C durante a noite sob leve agitação. Após essa etapa, a membrana foi lavada com TBS-Tween 20 A 0,1% (v/v) por 3 vezes, durante 10 minutos cada lavagem em temperatura ambiente. Em seguida, a membrana foi incubada com o anticorpo secundário (anti-IgE) diluído em TBS-Tween 20 a 0,1 % (v/v) na proporção 1:5000 por 1 hora em temperatura ambiente. A membrana foi lavada por 3 vezes com TBS-Tween 20 a 0,1% (v/v) durante 10 minutos em temperatura ambiente. Para detecção por quimiluminescência foi utilizado o *Kit* de Imunofluorescência Aumentada “*Enhanced Chemi Luminescence*” (ECL) (GE Healthcare Biosciences, Uppsala, Suécia), segundo recomendações do fabricante. As membranas foram reveladas utilizando o fotodocumentador LAS 4000 (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Suécia).

4.11. Análise estatística

O valor dos testes para diagnóstico de alergia a camarão foram analisados através dos conceitos de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. Tabelas 2x2 foram usadas para calcular sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo como demonstrado na tabela 4.

Sensibilidade foi definida como a proporção de testes verdadeiros positivos em relação ao total de alérgicos a camarão, especificidade foi definida como proporção de testes verdadeiros negativos em relação ao total de não alérgicos a camarão. O valor preditivo positivo (VPP) refere-se à probabilidade do indivíduo ser alérgico a camarão, dado que o teste é positivo, assim calculou-se o VPP como a proporção de alérgicos com teste positivo em relação ao total de testes positivos para camarão. O valor preditivo negativo (VPN) refere-se à probabilidade do indivíduo não ser alérgico a camarão, dado que o teste é negativo, assim calculou-se o VPN como a proporção de não alérgicos com teste negativo em relação ao total de testes negativos para camarão.

Tabela 4 – Demonstração de cálculo de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo

Teste	Padrão Ouro		Total
	Doente	Não doente	
Positivo	A	B	A+B
Negativo	C	D	C+D
Total	A+C	B+D	A+B+C+D

- Sensibilidade = porcentagem de doentes designados como positivos com o teste de triagem $A/(A + C)$;
- Especificidade = porcentagem de não-doentes designados como negativos com o teste de triagem $D/(B + D)$;
- Valor Preditivo Positivo = $A/(A + B)$;
- Valor Preditivo Negativo = $D/(C + D)$.

Foi elaborada uma Curva ROC (do inglês, *receiving operating characteristic curve*) para determinação da concentração de IgE específica para camarão e tropomiosina de camarão, e para testes cutâneos de leitura imediata para extrato comercial de camarão e camarão “in natura” cru e cozido. Também calculadas as frações que conferissem adequados valores de sensibilidade e especificidade. O melhor ponto de corte dos testes para diagnosticar uma pessoa alérgica é aquele que otimiza os valores de sensibilidade e especificidade.

Nesta análise estatística foram utilizados os softwares: SPSS V20, Minitab 16 e Excel Office 2010.

5. RESULTADOS

5.1. Valor diagnóstico da IgE sérica específica para tropomiosina de camarão, camarão e dos testes cutâneos de leitura imediata

A IgE sérica específica para tropomiosina neste estudo apresentou sensibilidade de 58,8%, especificidade de 60%, VPP 62,5% e VPN 56%. Em comparação com a IgE sérica específica para camarão e TCLI “in natura” e com extrato comercial, apresentou a menor sensibilidade, o menor VPP e o menor VPN (tabela 5).

O TCLI com extrato comercial apresentou a maior sensibilidade (94%). Todos os métodos avaliados apresentaram baixa especificidade, sendo o TCLI com camarão “in natura” cozido o mais específico.

Tabela 5 - Valor diagnóstico da IgE sérica específica para tropomiosina de camarão, camarão e dos testes cutâneos de leitura imediata

Teste	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
IgE Tropomiosina	58,8%	60%	62,5%	56%
IgE camarão	70%	53%	63%	61%
TCLI extrato	94%	46%	66%	87,5%
TCLI cru	82%	60%	70%	75%
TCLI cozido	82%	66%	73%	76,9%

5.2. Caracterização da casuística

Foram avaliados inicialmente 42 pacientes e posteriormente excluídos 10 pacientes por não completarem uma ou mais de uma das etapas propostas pelo estudo devido aos seguintes motivos: três pacientes não realizaram teste cutâneo de leitura imediata e dois pacientes não realizaram a coleta sanguínea para análise de IgE sérica específica; quatro pacientes interromperam o teste de provocação oral em alguma etapa (segunda etapa do DCPC ou desencadeamento aberto) e um paciente não compareceu para iniciar o teste de provocação oral. Para a análise dos dados estatísticos consideramos um total de 32 pacientes.

Vinte e seis (81,25%) pacientes são do gênero feminino e 6 (18,75%) pacientes do gênero masculino. A média de idades foi de 34,6 anos.

As características dos 32 pacientes analisados podem ser divididas em 3 perfis de acordo com a definição dos critérios de inclusão e exclusão:

- Perfil 1: Pacientes em exclusão alimentar a camarão com história clínica compatível com reação IgE mediada, incluindo reações anafiláticas que ocorreram há um ano ou mais. Sensibilizados ou não a camarão;
- Perfil 2: Pacientes em exclusão alimentar a camarão com história de anafilaxia há menos de um ano, com TCLI para extrato comercial ou camarão “in natura” positivo
- Perfil 3: Pacientes em exclusão alimentar a camarão devido sensibilização prévia positiva para camarão (teste cutâneo e/ou IgE sérica específica).

A figura 1 mostra a distribuição dos pacientes nos três perfis avaliados.

Figura 1 – Distribuição dos 32 pacientes com suspeita de alergia a camarão em três perfis distintos de acordo com os critérios de inclusão

Houve predomínio dos pacientes pertencentes ao perfil 1, onde todos (18/32), foram submetidos a desencadeamentos DCPC. Os nove pacientes (9/32) do perfil 2 foram dispensados do TPO e diagnosticados como alérgicos, considerando anafilaxia há menos de 1 ano imediata para camarão e sensibilização comprovada por testes cutâneos realizados no estudo. Os cinco pacientes (05/32) do perfil 3, foram submetidos diretamente ao desencadeamento aberto (Figura 2).

Figura 2 – Caracterização do total de indivíduos avaliados em relação a história clínica de alergia a camarão e indicação de testes de provocação oral

5.3. Desfecho dos testes de provocação oral

Os desfechos dos TPO estão listados abaixo conforme perfil avaliado bem como mostrados na figura 3:

- Perfil 1: Realizados dezoito testes duplo cego placebo controlados, resultando em 8 pacientes alérgicos (44,5%) e 10 pacientes não alérgicos (55,5%);
- Perfil 2: Nove pacientes que não foram submetidos ao TPO;
- Perfil 3: Os cinco pacientes que foram submetidos diretamente ao TPO aberto, resultaram em testes negativos, sendo diagnosticados como não alérgicos.

Figura 3 – Caracterização do total de indivíduos avaliados em relação a forma de teste de provocação oral e seus resultados

Entre os 8 alérgicos, dois pacientes reagiram no DCPC. Dois pacientes apresentaram DCPC inconclusivo por sintomas subjetivos apontados na tabela 6 e quando realizado TPO aberto apresentaram sintomas objetivos.

Quatro pacientes (50% dos alérgicos), apresentaram DCPC negativo, seguido de TPO aberto positivo (Figura 4).

Figura 4 - Desfechos dos testes duplo cego placebo controlados

Na tabela 6 observamos as características dos DCPC realizados nos 8 pacientes que reagiram ao teste. Neste estudo o DCPC é constituído por 4 etapas (200 mg, 2g, 3g, 4g). Já no TPO aberto oferecemos 1 camarão, e após 30 minutos mais 11 camarões totalizando 12 camarões ao final (dose cumulativa de 30g de camarão sete barbas).

Tabela 6 - Características dos testes duplo cego placebo controlados realizados em pacientes alérgicos, bem como doses atingidas e tempo entre doses e sintomas

Paciente número	4	5	14	16	17	29	34	36
1 etapa DCPC	Negativo	Negativo (placebo)	Negativo	Negativo	Inconclusivo (placebo) Prurido ocular	Negativo (placebo)	Negativo (placebo)	Negativo
2 etapa DCPC	Negativo	Positivo (camarão)	Negativo	Negativo	Inconclusivo (camarão) Prurido em orofaringe	Inconclusivo (camarão) Prurido em língua, palato e narinas	Positivo (camarão)	Negativo
TPO aberto	Positivo	Não realizado	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Não realizado	Positivo
Dose atingida	12 camarões	5,200 g	1 camarão	12 camarões	1 camarão	12 camarões	9,200g	12 camarões
Tempo entre ingestão da última dose e sintomas	5 h (tardio)	21 min	11 min	4 min	15 min	5 min	15 min	61 min
Atingiu dose total proposta no TPO?	Sim	Não	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim

Entre os pacientes que apresentaram reação no DCPC (n.2), um atingiu dose de 5,200 g e apresentou reação 21 minutos após a dose de 3 g ser oferecida. Outro, atingiu dose total oferecida (9,200 g) e apresentou sintomas 15 minutos após a última dose (4 g).

Observando os pacientes que apresentaram DCPC inconclusivo (n:2), observamos que um paciente apresentou sintomas tanto na etapa com placebo quanto com camarão. No TPO aberto, apresentou sintomas objetivos 15 minutos após a ingestão de 1 camarão, não ingerindo a dose total proposta. O outro paciente com DCPC inconclusivo realmente relatou sintomas na etapa do camarão (confirmados após abertura dos resultados se placebo ou alimento), porém com queixas de sintomas

subjetivos. Ao ser submetido ao TPO aberto, apresentou reação após 5 minutos da dose total oferecida.

Entre os 4 pacientes que apresentaram DCPC negativo seguidos de TPO aberto positivo, três realizaram ingestão total dos 12 camarões propostos. O tempo entre a última dose ingerida e o início dos sintomas foram 5 horas, 4 minutos e 61 minutos.

Um paciente com DCPC negativo e TPO aberto positivo apresentou sintomas 4 minutos após a ingestão de um camarão.

A tabela 7 identifica as características dos 4 pacientes que apresentaram DCPC negativo e TPO aberto positivo.

Tabela 7 – Dados referentes aos testes de provocação oral realizados em pacientes alérgicos com duplo cego placebo controlado negativo seguido por teste de provocação oral aberto positivo

Número/Iniciais	Idade	Gênero	Tempo exclusão do camarão	Sintomas no TPO aberto
4 – JFS	43	Masculino	10 anos	Edema pés bilateral, prurido ocular e urticas, broncoespasmo.
14 – RBO	38	Feminino	6 anos	Prurido em língua e urticas em face e epigastralgia.
16 – CLO	54	Feminino	2 anos	Espirros, obstrução nasal, hiperemia conjuntival com lacrimejamento importante e edema pálpebras bilateral e em palato. Queda de pico de fluxo.
36 - CFA	49	Feminino	4 anos	Urtica em punho a direita, prurido em olhos e orofaringe.

A tabela 8 apresenta os resultados dos TCLI e IgE sérica específica realizados nestes quatro pacientes

Tabela 8 – Teste cutâneo de leitura imediata e IgE sérica específica dos pacientes com dos testes duplo cego placebo controlado negativo e aberta positiva

Número / Iniciais	IgE para camarão (kUA/l)	IgE para tropomiosina (kUA/l)	TCLI extrato (mm)	TCLI cru (mm)	TCLI cozido (mm)	IgE Dpt (kUA/l)	TCLI Dpt (mm)
4 – JFS	25,6	25,8	12 x 5	11 x 6	15 x 6	14,1	10 x 5
14 – RBO	0,69	0,56	11 x 6	34 x 7	7 x 4	5,43	7 x 4
16 – CLO	0,26	0	8 x 7	6 x 4	10 x 7	0,06	4 x 4
36 - CFA	0,08	0,02	Negativo	Negativo	Negativo	0,26	Negativo

A tabela 25 (anexo) mostra todas as etapas bem como os resultados dos TPO realizados.

A amostra final com 32 pacientes é composta por 17 pacientes alérgicos e 15 não alérgicos a camarão.

5.4. Teste cutâneo de leitura imediata para camarão *X. kroyeri* “in natura” (cru e cozido) e extrato de *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis* e *Periplaneta americana*

Foram realizados TCLI em duplicata, considerando positivos valores maiores ou iguais a 3 x 3 mm. Os testes foram realizados para camarão em extrato comercial da Greer, camarão “in natura” *X. kroyeri* cozido e cru utilizando a técnica *prick to prick*.

O extrato comercial da marca Greer foi importado e utilizado pois os extratos comercializados no Brasil na época da realização dos testes não encontravam se disponíveis para a venda. Segundo informações obtidas no site da empresa, Stallergenes Greer, o extrato de camarão é composto por três espécies: *Litopenaeus setiferus*, *Farfantepenaeus aztecus*, *Farfantepenaeus dourarum*. Não há informação da proporção de cada espécie. Os extratos são realizados com camarões previamente congelados e crus. A tabela 26 (anexo) apresenta os resultados dos TCLI realizados com camarão.

Também realizados TCLI para aeroalérgenos que apresentam reatividade cruzada com a tropomiosina, como *D. pteronyssinus*, *B. tropicalis* e *P. americana*. Os três extratos da marca IPI ASAC pharma, de origem espanhola.

A tabela 27 (anexo) apresenta os resultados dos TCLI realizados para os aeroalérgenos.

Avaliando os resultados para os TCLI realizados com extrato comercial de camarão, 16 entre os 17 pacientes alérgicos apresentaram testes positivos. Oito pacientes apresentaram testes falso positivos (tabela 9).

Tabela 9 – Distribuição dos resultados de teste cutâneo de leitura imediata para extrato comercial de camarão segundo desfecho nos testes de provocação oral

			Alergia a camarão*		Total
			Não	Sim	
			n	n	
TCLI extrato camarão	Negativo		7	1	8
	Positivo		8	16	24
Total			15	17	32

* TPO positivo ou dispensado por anafilaxia $\leq$ 1 ano.

Avaliando os TCLI realizados com camarão “in natura” cru, quatorze pacientes alérgicos apresentaram valores positivos, e seis pacientes apresentaram testes falso positivos (tabela 10).

Tabela 10 – Distribuição dos resultados de teste cutâneo de leitura imediata para camarão cru segundo desfecho nos testes de provocação oral

			Alergia a camarão*		Total
			Não	Sim	
			n	n	
TCLI camarão cru	Negativo		9	3	12
	Positivo		6	14	20
Total			15	17	32

* TPO positivo ou dispensado por anafilaxia $\leq$ 1 ano.

Usando o camarão “in natura” cozido no TCLI, três pacientes alérgicos obtiveram teste negativos, enquanto cinco pacientes não alérgicos obtiveram testes positivos (tabela 11).

Tabela 11– Distribuição dos resultados de teste cutâneo de leitura imediata para camarão cozido segundo desfecho nos testes de provocação oral

			Alergia a camarão*		Total
			Não	Sim	
			n	n	
TCLI camarão cozido		Negativo	10	3	13
		Positivo	5	14	19
Total			15	17	32

* TPO positivo ou dispensado por anafilaxia ≤ 1 ano.

Para os testes cutâneos com camarão cru, cozido e com extrato comercial, existe diferença média estatisticamente significativa entre os grupos. Nota-se que a média dos alérgicos foi sempre maior, provavelmente devido a alta variabilidade dos resultados. Os resultados de TCLI para os aeroalérgenos estudados não apresentaram valores estatisticamente significativos (tabela 12).

Tabela 12 - Análise dos resultados obtidos nos TCLI para camarão extrato e “in natura”, *D.pteronyssinus*, *B.tropicalis* e *P.americana*

Teste cutâneo		Média	Mediana	Desvio Padrão	Min	Max	n	IC	P-valor
Extrato	Alérgico	7,35	8,0	2,60	0,0	11,0	17	1,23	0,002
	Não alérgico	3,47	4,0	3,70	0,0	10,5	15	1,87	
Cru	Alérgico	8,24	8,0	5,82	0,0	20,5	17	2,77	0,029
	Não alérgico	3,57	0,0	5,66	0,0	20,0	15	2,86	
Cozido	Alérgico	7,44	8,5	4,23	0,0	13,5	17	2,01	0,014
	Não alérgico	3,03	0,0	5,30	0,0	18,5	15	2,68	
<i>D.pteronyssinus</i>	Alérgico	4,62	5,0	3,03	0,0	9,0	17	1,44	0,644
	Não alérgico	5,23	5,0	4,39	0,0	16,0	15	2,22	
<i>B.tropicalis</i>	Alérgico	5,12	5,0	3,76	0,0	12,0	17	1,79	0,969
	Não alérgico	5,07	5,0	3,62	0,0	14,5	15	1,83	
<i>P.americana</i>	Alérgico	3,35	4,0	2,42	0,0	7,5	17	1,15	0,115
	Não alérgico	1,87	0,0	2,76	0,0	6,5	15	1,40	

Diante dos valores estatisticamente significativos de TCLI para camarão entre os pacientes alérgicos e não alérgicos, utilizamos a técnica da Curva ROC para determinar um ponto de corte dos valores para as três modalidades de TCLI: extrato, camarão cru e cozido (tabela 13).

Tabela 13 - Área da Curva ROC para teste cutâneo de leitura imediata com camarão

Amostra	Área	P-valor	Lim. Inferior	Lim. Superior
Extrato	0,804	0,003	0,642	0,966
Cru	0,753	0,015	0,578	0,928
Cozido	0,775	0,008	0,602	0,947

Temos que a área abaixo da Curva ROC foi significativa em todos os três testes analisados, sendo o maior valor de área para a amostra “Extrato” com 0,804. Os demais valores para cada ponto de corte destas variáveis estão nas tabelas 28, 29 e 30 (anexo).

O ponto de corte ideal é aquele que otimiza sensibilidade e especificidade. Assim obtivemos os seguintes pontos de corte (média em mm) observados nas curvas ROC abaixo:

- Extrato: 5,75 mm. Sensibilidade 82,4% e especificidade 73,3% (figura 5);
- Camarão cru: 6,75 mm. Sensibilidade 64,7% e especificidade 80% (figura 6);
- Camarão cozido: 5,00 mm. Sensibilidade 82,4% e especificidade 73,3% (figura 7).

Figura 5 - Curva ROC para teste cutâneo de leitura imediata – Extrato

Figura 6 - Curva ROC para teste cutâneo de leitura imediata – Cru

Figura 7 - Curva ROC para teste cutâneo de leitura imediata – Cozido

5.5. Dosagens de IgE específica para camarão, tropomiosina de camarão, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis* e *Periplaneta americana*

Os resultados obtidos com a dosagem de IgE específica pelo método ImmunoCAP estão na tabela 31 (anexo). Para este estudo, consideramos positivos valores $\geq 0,35$ kUA/l.

Avaliando a IgE específica para camarão, doze dos 17 alérgicos apresentam valores positivos. Cinco não alérgicos são sensibilizados a camarão (tabela 14).

Tabela 14 - Distribuição dos resultados de IgE específica para camarão segundo desfecho nos testes de provocação oral

			Alergia a Camarão*		Total
			Não	Sim	
			n	n	
IgE para camarão		Negativo	8	5	13
		Positivo	7	12	19
Total			15	17	32

* TPO positivo ou dispensado por anafilaxia $\leq$ 1 ano.

Quando avaliamos a tropomiosina de camarão, dez (10/17) pacientes alérgicos são sensibilizados. Porém seis pacientes não alérgicos (6/15) também são sensibilizados a tropomiosina (tabela 15).

Tabela 15 - Distribuição dos resultados de IgE específica para tropomiosina de camarão segundo desfecho nos testes de provocação oral

			Alergia a camarão*		Total
			Não	Sim	
			n	n	
IgE para tropomiosina	Negativo	9	7	16	
	Positivo	6	10	16	
Total			15	17	32

* TPO positivo ou dispensado por anafilaxia $\leq$ 1 ano.

A média dos valores de IgE específica sérica para tropomiosina de camarão entre os alérgicos foi 8,12 kUA/l enquanto no grupo dos não alérgicos a camarão, a média foi de 1,60 kUA/l. Avaliando a IgE específica para camarão, a média dos valores entre os alérgicos foi de 9,74 kUA/l. Observamos que os valores de média para IgE para camarão são maiores quando comparados a IgE para tropomiosina neste estudo. Após

avaliação da média dos valores, não houve diferença média estatisticamente significativa entre os grupos muito provavelmente devido a alta variabilidade em ambos os grupos (tabela 16).

Tabela 16 - Análise dos resultados obtidos com as dosagens de IgE específica para tropomiosina, camarão, *D.pteronyssinus*, *B.tropicalis* e *P.americana*

Grupos		Média	Mediana	Desvio Padrão	Min	Max	n	IC	P-valor
IgE tropomiosina	Alérgico	8,12	1,13	12,15	0,000	37,2	17	5,78	0,056
	Não alérgico	1,60	0,03	3,74	0,000	13,6	15	1,89	
IgE camarão	Alérgico	9,74	1,77	14,97	0,020	52,7	17	7,11	0,062
	Não alérgico	1,99	0,28	4,01	0,004	13,7	15	2,03	
IgE <i>D.pteronyssinus</i>	Alérgico	19,42	5,43	28,73	0,040	100,0	17	13,66	0,668
	Não alérgico	15,09	1,21	27,52	0,020	100,0	15	13,92	
IgE <i>B.tropicalis</i>	Alérgico	20,08	14,80	27,21	0,050	100,0	17	12,94	0,054
	Não alérgico	5,59	1,83	6,99	0,010	18,7	15	3,54	
IgE <i>P.americana</i>	Alérgico	3,67	1,23	5,12	0,010	14,6	17	2,43	0,053
	Não alérgico	0,88	0,30	1,64	0,010	5,5	15	0,83	

Avaliando os 17 pacientes alérgicos a camarão, 10 (58,8%) apresentam IgE específica para tropomiosina positiva ($\geq 0,35$ kUA/l), e 7 (41,2%) alérgicos a camarão, apresentaram IgE específica para tropomiosina negativa.

Ao avaliar os 15 pacientes do grupo dos não alérgicos a camarão, 6 (40%) apresentam IgE específica para tropomiosina positiva ($\geq 0,35$ kUA/l), enquanto 9 pacientes (60%) apresentam resultado negativo (figura 8).

Figura 8 - Número de pacientes alérgicos e não alérgicos a camarão, com IgE específica positiva ou negativa para tropomiosina de camarão

No presente estudo, 70,5% dos pacientes alérgicos apresentaram IgE específica para camarão positiva. Mais de 58% apresentaram IgE específica positiva para tropomiosina. Porém 83% dos pacientes alérgicos apresentou positividade para os dois testes (figura 9).

Figura 9 – Porcentagem de IgE positiva para camarão e tropomiosina em alérgicos

A partir dos valores obtidos, utilizamos a técnica de Curva ROC para determinar um ponto de corte de “IgE tropomiosina” e “IgE camarão” entre alérgicos e não alérgicos (tabela 17).

Tabela 17 - Área da Curva ROC para “IgE tropomiosina” e “IgE camarão”

IgE	Área	P-valor	Limite Inferior	Limite Superior
Tropomiosina	0,657	0,131	0,466	0,847
Camarão	0,722	0,033	0,546	0,897

Temos que a área abaixo da Curva ROC foi significativa (diferente de 0,50) somente para “IgE para camarão” com valor de 0,722 (p-valor = 0,033). Os pontos de corte dessas duas variáveis e os valores de sensibilidade/especificidade estão nas tabelas 32 e 33 do anexo, respectivamente.

Como a análise de “IgE camarão” foi a única significativa, temos que o melhor ponto de corte para diagnosticar uma pessoa alérgica é de 0,075 com sensibilidade de 94,1% e especificidade de 40,0%. Porém o valor de corte obtido para IgE específica para camarão, 0,075 kUA/l não é viável para uso na prática clínica, pois não apresenta valor maior ou igual a 0,10 kUA/l (figura 10 e 11).

Figura 10 - Curva ROC para “IgE tropomiosina” no diagnóstico de alérgico

Figura 11 - Curva ROC para “IgE camarão” no diagnóstico de alérgico

Com a finalidade de conhecer o perfil de sensibilização dos pacientes inseridos neste estudo com suspeita de alergia a camarão, foram realizados TCLI com extrato comercial IPI ASAC dos aeroalérgenos *D.pteronyssinus*, *Blomia tropicalis* e *P.americana*. Também realizadas dosagens séricas de IgE específica pelo ImmunoCAP dos mesmos aeroalérgenos. Sensibilização foi considerada se pelo menos um dos TCLI realizados ou dosagem de IgE sérica específica para os aeroalérgenos foi positiva.

Obtivemos assim os 32 pacientes sensibilizados a pelo menos um aeroalérgeno em pelo menos um método avaliado e 13 dos 17 pacientes alérgicos a camarão com dosagem de IgE específica positiva para *D.pteronyssinus* (tabela 18).

Tabela 18 - Distribuição dos resultados de IgE específica para *D.pteronyssinus* segundo desfecho nos testes de provocação oral

			Alergia a camarão*		Total
			Não	Sim	
			n	n	
IgE <i>D.pteronyssinus</i>	para	Negativo	4	4	8
		Positivo	11	13	24
Total			15	17	32

* TPO positivo ou dispensado por anafilaxia $\leq$ 1 ano.

Os 4 pacientes alérgicos a camarão que apresentaram IgE específica sérica negativa apresentaram TCLI com extrato para *D.ptermonyssinus* positivo.

Os valores de TCLI para os aeroalérgenos estão na tabela 27 (anexo) e não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre alérgicos e não alérgicos a camarão (tabela 12).

O valor médio das pápulas obtidas para *D.pteronyssinus* em alérgicos foi 4,62 mm. Os não alérgicos a camarão apresentaram média de pápulas maiores quando comparadas aos alérgicos (5,23 mm).

Observamos que 13 dos 17 pacientes alérgicos a camarão apresentam IgE específica positiva para *B. tropicalis*. Mas 10 dos 15 pacientes não alérgicos também apresentam valores positivos (tabela 19).

Tabela 19 - Distribuição dos resultados de IgE específica para *B.tropicalis* segundo desfecho nos testes de provocação oral

			Alergia a camarão*		Total
			Não	Sim	
			n	n	
IgE para <i>B.tropicalis</i>		Negativo	5	4	9
		Positivo	10	13	23
Total			15	17	32

* TPO positivo ou dispensado por anafilaxia $\leq$ 1 ano.

A medida de pápulas em TCLI para *Blomia tropicalis* entre os alérgicos a camarão foi 5,12 e para os não alérgicos 5,07 mm (tabela 12).

Doze (12/17) pacientes alérgicos a camarão apresentaram valores de IgE específica sérica positiva para *P.americana* e sete (7/15) não alérgicos também são sensibilizados (tabela 20).

Tabela 20 - Distribuição dos resultados de IgE específica para *P.americana* segundo desfecho nos testes de provocação oral

			Alergia a camarão*		Total
			Não	Sim	
			n	n	
IgE para <i>P.americana</i>		Negativo	8	5	13
		Positivo	7	12	19
Total			15	17	32

* TPO positivo ou dispensado por anafilaxia $\leq$ 1 ano.

Já para *P.americana* os alérgicos apresentam média de pápula de 3,35 e os não alérgicos 1,87 mm, não apresentando diferença estatisticamente significativa (tabela 12).

5.6. Manifestações clínicas

Os sintomas relatados pelos 17 pacientes alérgicos em reações prévias estão listados na tabela 21. Observamos que os sintomas cutâneos, principalmente urticária e angioedema são os mais prevalentes, seguidos por “sensação de sufocamento”, dispnéia e broncoespasmo.

Tabela 21 - Sintomas relatados pelos pacientes em reações prévias (n:17)

Sintomas	(n)
Rash, prurido	4
Lacrimejamento, hiperemia conjuntival	7
Urticária, angioedema	16
Obstrução nasal, espirros em salva	3
Prurido orofaríngeo, " sufocamento"	11
Tosse	3
Rouquidão, disfonia	4
Dispnéia, broncoespasmo	9
Disartria	2
Náusea, vômito	4
Diarréia	1
Dor abdominal, cólica	1
Epigastria	1
Cianose	1
Liberação esfíncter	1
Síncope, hipotensão	3

Ao avaliar a gravidade das reações prévias reportadas pelos 17 pacientes alérgicos, seguimos a classificação de Mueller (49), proposta para reações a *Hymenopteras*:

- Grau 1: Sintomas cutâneos (urticária, prurido), mal-estar, ansiedade;
- Grau 2: Sintomas do Grau 1 e pelo menos dois ou mais dos seguintes: angioedema, opressão torácica, náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal e tonturas;
- Grau 3: Sintomas do Grau 2 e pelo menos dois ou mais dos seguintes: dispnéia, sibilância, estridor, disartria, disfonia, astenia, confusão, sensação de morte eminente

- Grau 4: Sintomas do Grau 3 e pelo menos dois ou mais dos seguintes: hipotensão, choque, cianose, incontinência de esfínteres e perda de consciência.

Os resultados estão apresentados na tabela 22.

Tabela 22 – Classificação de gravidade das reações prévias reportadas por alérgicos segundo os critérios de Mueller (n:17)

Grau	n de pacientes
I	0
II	8
III	6
IV	3
	Total 17

Com a finalidade de verificar reprodutibilidade dos sintomas, comparamos os sintomas relatados e os observados durante os testes de provocação oral realizados no estudo nos pacientes submetidos ao DCPC (N:8). Observamos que os sintomas cutâneos como urticária e prurido foram os de maior ocorrência (tabela 23).

Tabela 23 - Reprodutibilidade dos sintomas relatados pelos pacientes que reagiram ao duplo cego placebo controlado (n:8)

Sintomas (n)	História reportada (n)	Observados no TPO (n)	Reprodutibilidade de sintomas (%)
Prurido	3	8	37,5%
Urticária	4	5	80,0%
Angioedema	6	3	50,0%
Pulmonar	3	3	100,0%
Gastrointestinal	1	1	100,0%
Cardiovascular	0	0	0,0%

Analisando a história clínica dos pacientes alérgicos, 13/17 (76,5%) apresentaram múltiplas reações (≥ 2 reações). Somente 4 pacientes relataram uma única exposição.

A tabela 24 resume as características clínicas e laboratoriais dos 32 pacientes participantes do estudo.

Tabela 24 - Características dos sujeitos recrutados para o estudo

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
n	18	9	5
Gênero : feminino, %	15 (83,3%)	8 (88,8%)	3 (60%)
Idade : média	39,4	32,2	21,6
Taxa de sensibilização por TCLI			
Camarão extrato comercial	61% (11/18)	100% (9/9)	80% (4/5)
Camarão cru	55,5% (10/18)	88,9% (8/9)	40% (2/5)
Camarão cozido	50% (9/18)	88,9% (8/9)	40% (2/5)
<i>D.pteronyssinus</i>	77,7% (14/18)	77,7% (7/9)	60% (3/5)
<i>B.tropicalis</i>	83,3% (15/18)	77,7% (7/9)	60% (3/5)
<i>P.americana</i>	44,4% (8/18)	77,7% (7/9)	40% (2/5)
Sensibilização por IgE específica (kUA/l): média			
Tropomiosina de camarão	2,58	11,74	1,98
Camarão	2,66	14,7	3
<i>D.pteronyssinus</i>	6,84	31,16	30,59
<i>B.tropicalis</i>	5,75	30,7	9,07
<i>P. americana</i>	0,77	6,09	1,39
ImmunoCAP negativo para tropomiosina	12/18	3/9	1/5
ImmunoCAP negativo para camarão	11/18	2/9	0/5
História de reação a camarão	+	+	-
DCPC	+	-	-
"+", positivo; "-", negativo; DCPC, duplo-cego placebo-controlado; TCLI teste cutâneo de leitura imediata			

Com a finalidade de conhecer o perfil de sensibilização dos alérgicos, principalmente em pacientes com dosagem de IgE sérica específica negativa para tropomiosina, realizamos o *Western blotting* (WB) com soro dos pacientes (Figura 12).

Figura 12 – Perfil de sensibilização dos pacientes alérgicos a camarão

Legenda: Alinhamento do gel 2D com *Western Blotting* 1D para determinação individual de reconhecimento IgE específico para as diferentes proteínas homólogas às identificadas por Ventura, A. et. al, 2018 em preparação. *Western Blotting* 1D dos soros individuais. As cruzes indicam onde a proteína foi reconhecida. A região destacada em verde contém diversas proteínas incluindo a tropomiosina, dificultando a análise.

Também realizamos o WB do pool de pacientes alérgicos a camarão que apresentaram IgE específica negativa para tropomiosina e camarão no ImmunoCAP (pool 1). O pool 2 é o WB dos 5 pacientes que apresentaram DCPC negativo e TPO aberto positivo. Realizamos ainda o WB com o soro do paciente 36, alérgico a camarão sem nenhuma comprovação de sensibilização, nem em TCLI com extrato e camarão “in natura”, bem como valores de IgE específica negativos para camarão e tropomiosina. Avaliamos o soro deste paciente em gel contendo o extrato do camarão *X. kroyeri* “in natura” e também do extrato comercial (Stallergenes Greer, Estados Unidos) utilizado nos testes cutâneos (figura 13).

Figura 13 – Gel e WB com pool de soros de pacientes alérgicos

Legenda: MW – do inglês *molecular weight marker*; P1 – Pool de pacientes com IgE específica negativa para camarão e tropomiosina no ImmunoCap; P2 – Pool negativos no DCPC e positivos TPO aberto; 36 – paciente 36 negativa em todos os testes (TCLI e séricos), positivo somente no TPO.

Os resultados dos testes séricos e cutâneos dos pacientes pertencentes ao pool 1 estão apresentados na tabela 35 do anexo.

Resultados apresentados em uma dissertação de mestrado do mesmo grupo de pesquisa (Ventura, A. et. al, 2018 em preparação) que teve como objetivo verificar a presença de proteínas IgE-reativas para camarão *X. kroyeri* em indivíduos com diagnóstico confirmado de alergia a camarão e identificar alérgenos presentes no camarão *X. kroyeri*, contribuíram com a análise do WB realizado neste trabalho.

Observamos que diversas proteínas do extrato de camarão são IgE reativas, portanto possíveis alérgenos, e que cada paciente possui um perfil de sensibilização diferente porém algumas proteínas ainda não identificadas são frequentemente reconhecidas pelos pacientes.

Ao analisar o WB do pool 1 e do paciente 36 observamos reatividade a IgE na região de 37 kDa. Estes pacientes não apresentam sensibilização a tropomiosina, portanto outros alérgenos são reconhecidos nesta região. A paciente numero 36 quando analisado WB com extrato comercial, ainda apresenta reatividade a IgE na região de 50 e 75 kDa.

6. DISCUSSÃO

Embora numerosos alérgenos do camarão tenham sido relatados, pouco se conhece sobre os padrões de sensibilização em pacientes brasileiros. Este é o primeiro estudo que seleciona pacientes com suspeita de alergia a camarão para avaliação da IgE específica para tropomiosina desencadeados com *Xiphopenaeus kroyeri*, cuja importância se destaca por ser largamente consumido pela nossa população, além de estar entre as dez principais espécies mais capturadas mundialmente, e entre as três espécies mais consumidas no país. Mesmo apresentando inquestionável importância econômica e alimentar, está presente na composição de apenas um teste comercial brasileiro e não apresenta nenhum alérgeno descrito até o momento.

O camarão é um dos alimentos de maior suspeita popular como causa de alergia alimentar. Esta crença popular se traduz muitas vezes em restrição alimentar desnecessária. Por outro lado, é um dos alimentos mais implicados como causa de anafilaxia na idade adulta (11,50).

Torna-se indispensável ao especialista reconhecer, diagnosticar corretamente e orientar seu paciente frente a uma suspeita de alergia a camarão. Porém, na rotina do alergista a confirmação diagnóstica da alergia a camarão na maioria dos casos é um desafio. Mesmo na era dos diagnósticos moleculares, a história clínica permanece como ferramenta chave na alergia alimentar e especificamente em relação a alergia a camarão não é diferente. A reprodutibilidade de sintomas relatados frente a ingestão da proteína conhecida, levando a manifestações principalmente na primeira hora, em sua grande maioria sintomas cutâneos, suporta a hipótese de alergia IgE mediada. A maior parte dos pacientes alérgicos apresentaram múltiplas reações a camarão. Estes dados confirmam a importância da história clínica e apontam para atentarmos aos pacientes com história clínica positiva com relato de múltiplas reações, para a forte possibilidade de alergia.

Os 42 sujeitos que assinaram o TCLE são uma amostra real da nossa prática clínica. A proposta de agrupar os pacientes em três perfis retrata as principais queixas dos pacientes com suspeita de alergia a camarão nos consultórios médicos. No primeiro grupo, os pacientes relatam reações possíveis de alergia a camarão e estão em exclusão alimentar. O segundo grupo é composto por pacientes que relatam reações anafiláticas, com sensibilização comprovada e estão em exclusão desde a reação. O terceiro grupo é

composto por pacientes que apresentam sensibilização ao crustáceo, mesmo sem apresentar história de reações, e interrompem o consumo do camarão por medo ou por não serem adequadamente orientados sobre o resultado dos testes, que na grande parte foram realizados para investigação de outras patologias como asma, rinite, urticária crônica. Diante de resultados positivos de sensibilização é frequente a incorreta orientação de exclusão alimentar definitiva, sem a devida investigação diagnóstica. Neste estudo, todos os 5 casos que faziam restrição de crustáceos apenas por sensibilização positiva, puderam liberar a dieta após adequada e cautelosa avaliação diagnóstica, através da realização do TPO. O grupo 1 apresenta mais da metade dos pacientes da amostra com suspeita de alergia a camarão (18 pacientes – 56,3%), o grupo 2 nove pacientes (28,1%) e o grupo 3 composto por 5 pacientes (15,6%). Por tratar-se de um estudo com idade de inclusão acima dos 12 anos, a média de idade dos pacientes 34,6 anos é compatível com dados da literatura que apontam a reação aos crustáceos como uma das principais na idade adulta. Esta prevalência é variável de acordo com os hábitos de ingestão de cada região. No Brasil não temos dados de incidência específica de alergia a camarão. Os dados sobre prevalência de alergia alimentar no Brasil são escassos e em muitos estudos observados a grupos populacionais e alérgenos específicos como o leite de vaca (1).

Chama atenção que mais de 80% dos pacientes avaliados no presente estudo são do gênero feminino. Observando a tabela de características gerais dos estudos mais relevantes em alergia a camarão (Tabela 34, Anexo), a maior parte realmente apresenta maior prevalência entre mulheres. Uma razão para esta ocorrência, pode ser a procura mais frequente das mulheres pelos serviços de saúde e diagnóstico. Os dois estudos que, como o presente, apresentam maiores porcentagens do gênero feminino são Yang e colaboradores, 2010 (26), com 71,4% de mulheres em sua amostra e Pascal e colaboradores, 2015 (51) que apesar de multicêntrico possui 34% de pacientes brasileiros, apresentando 65,1% mulheres.

Diante da suspeita de alergia a camarão, muitas vezes a análise da história clínica não é suficiente para o diagnóstico e precisamos fazer uso de ferramentas diagnósticas que nos auxiliem a definir o diagnóstico, sem expor o paciente ao risco. Infelizmente não são todos os especialistas que realizam testes de provocação oral (52) Desta forma, almejamos na prática clínica uma ferramenta diagnóstica que nos

aproxime do diagnóstico correto, onde possamos dispensar o TPO reduzindo os riscos, custos e tempo para confirmação diagnóstica.

Na rotina do alergista, quando decidimos pela indicação do TPO e explicamos ao paciente como deve ser realizado, todos os riscos e vantagens, muitas vezes os pacientes e/ou responsáveis optam por não realizar. Por diversos fatores como medo, disponibilidade, custo do procedimento. Quando o alimento implicado não faz parte da rotina alimentar diária, como o camarão, a exclusão muitas vezes é a opção. Durante a etapa de desencadeamentos deste estudo não foi diferente. Dez pacientes que assinaram o TCLE não deram continuidade as etapas do estudo. Cinco pacientes não realizaram todas as etapas do TPO. Dois pacientes não compareceram a segunda etapa do DCPC, mesmo sendo a primeira etapa sem alterações e/ou reações. Outros dois pacientes realizaram as duas etapas do DCPC mas não compareceram ao teste aberto, mesmo faltando somente uma etapa para a elucidação diagnóstica. Um paciente apesar do agendamento não iniciou o DCPC.

Quanto ao desfecho dos DCPC realizados, oito pacientes (55,5%) foram confirmados alérgicos pelo DCPC, e dez (44,5%) foram liberados para consumo. Estes dados estão de acordo com a literatura que aponta que aproximadamente 50% dos desencadeamentos realizados em pacientes com suspeita real de alergia alimentar são positivos (46).

Interessante observar que 50% (4/8) dos desencadeamentos positivos, foram negativos nas etapas de DCPC, ocorrendo reações na etapa aberta. Ou seja, os pacientes alérgicos a camarão ingeriram 9,200 g de camarão sete barbas, envolvidos com os ingredientes utilizados para mascarar seu sabor, sem apresentarem sintomas. A literatura descreve esta ocorrência entre 1 a 3% dos DCPC, chegando a alguns autores reportarem 13% (46).

Algumas razões para TPO aberto positivo após DCPC negativo incluem:

- Pacientes não realizarem jejum prévio ao DCPC;
- Composição da matriz alimentar;
- Porcentagem de gordura presente na preparação para mascarar o alimento;
- Presença de trigo na matriz alimentar;
- Intervalo entre doses no DCPC;
- Número de doses no DCPC;
- Uso de alguns medicamentos concomitantes ao DCPC.

A literatura orienta a realização de desencadeamentos preferencialmente realizados em jejum de 2 a 3 horas, ou se necessário com permissão de líquidos, lanches leves e não gordurosos (46).

O ambulatório de alergia alimentar ocorre uma vez na semana no período da tarde. Portanto a quase totalidade dos testes e desencadeamentos foi realizado após as 13 horas. Para os procedimentos os pacientes eram orientados a realizar uma alimentação leve até o início do ambulatório, porém nenhum paciente foi desencadeado em jejum.

Os alimentos consistem em uma mistura complexa de nutrientes e não nutrientes e suas interações moleculares. Esta “mistura” é conhecida como a matriz alimentar. Componentes individuais da matriz, ou a matriz como um todo, podem interagir com um alérgeno alimentar e podem influenciar a resposta clínica a esse alérgeno. Estabelecer a influência da matriz alimentar é importante pois os alérgenos não são ingeridos puros. As principais influências da matriz alimentar sobre uma reação alérgica são consideradas causadas por alterações na biodisponibilidade e liberação de alérgenos, digestibilidade e consequente interação com o sistema imunológico (53).

Assim, a matriz alimentar poderia influenciar a captação de alérgenos dos alimentos e, como consequência, alterar a relação entre a exposição a esses alérgenos e a reação clínica resultante. A gordura contida na matriz foi apontada como tendo importante impacto na biodisponibilidade do alérgeno *in vitro* em estudo com amendoim em crianças (53,54).

As crianças que ingeriram amendoim em misturas contendo alta (23,9%) versus baixa (5,9%) taxa de gordura nos DCPC apresentaram reações mais graves (53).

No presente estudo, o camarão foi aquecido e misturado em chocolate em pó, aveia em flocos, coco ralado, creme de avelã, extrato de baunilha e sorvete de flocos, sendo posteriormente triturados em processador. A porcentagem de gordura na mistura obtida para o mascarar o camarão foi de 20,2%. Uma etapa completa do DCPC (com suas 4 fases), apresentou 55,8 g de gordura, cada fase contendo 13,95 g. Este cálculo foi realizado por nutricionista.

Observamos que nosso DCPC apresentou alta taxa de gordura, sendo possível a interferência deste fato no resultado dos desencadeamentos bem como na gravidade de algumas reações. Questionamos se a alta % de gordura tenha alterado a ligação de IgE resultando em DCPC negativo seguida de TPO aberta positiva.

Nenhum paciente apresentava suspeita e/ou diagnóstico de outras alergias alimentares a componentes da mistura para o mascaramento como avelã, aveia entre outros. Interrogamos se algum alimento utilizado para mascarar o camarão, seria também capaz de alterar o tempo de esvaziamento gástrico, reduzindo o reconhecimento de epítomos alergênicos. Como os pacientes não realizaram jejum, interrogamos se algum alimento ingerido previamente ao teste, tenha as mesmas interferências sobre a IgE. Não temos as informações dos componentes das refeições realizadas pelos pacientes. Talvez seja importante para novos estudos, padronizar a dieta do paciente no dia dos testes, inclusive com alimentos que não possuam trigo e que tenham baixa taxa de gordura em sua composição numa tentativa de evitar este viés.

Na literatura existem várias receitas de como mascarar o alimento suspeito, bem como as indicações de alguns alimentos que disfarçam os sabores com mais eficiência. Para o camarão e peixes, são frequentes os trabalhos que usam chocolate em sua composição. Na tabela 34 (anexo) há a descrição de como os camarões foram mascarados nos principais estudos sobre alergia a camarão na última década.

Recentemente um estudo avaliou o efeito do aquecimento nas proteínas do leite e do ovo e mostrou que presença de trigo resultou numa diminuição da ligação de IgE a estas proteínas (37).

Nenhum dos 4 pacientes fazia uso rotineiro de inibidor de bomba de prótons. Não há relato de uso de anti-inflamatórios não esteroidais e realização de exercício físico no dia do teste.

Outro ponto passível de discussão é a alergia a espécies de camarão. Até 2008, nenhum estudo havia sido conduzido para com testes de provocação oral para avaliar reações a espécies diferentes de camarão. Jirapongsananuruk e colaboradores (45) realizaram um estudo em população pediátrica onde 68 crianças com história de alergia a camarão, sensibilizadas, foram submetidas ao TPO com duas espécies de camarão *P.monodon* e *M.rosenbergii*. Estas espécies foram escolhidas por representarem espécies de água do mar (*P.monodon*) e de água doce (*M.rosenbergii*). Quase 18% dos pacientes desencadeados reagiram isoladamente ao *P.monodon* e 23.53% reagiram isoladamente ao *M.rosenbergii*.

Testes de provocação oral positivo para as duas espécies ocorreram em 47,06 % dos pacientes. Testes negativos para as duas espécies ocorreram em 11,76% dos

pacientes, liberados para consumo. Diante deste estudo confirmamos haver alergia a diferentes espécies de camarão.

Este estudo nos permite vários questionamentos, muitos ainda não estudados: Pode haver diferença entre o perfil de proteínas alergênicas entre camarões de água doce ou salgada? Estes resultados podem ser extrapolados para a população adulta? As espécies presentes na dieta dos pacientes alérgicos influem nestes resultados? No presente estudo optamos pelo *X.kroyeri* por ser um camarão de água do mar, bastante consumido no Brasil principalmente na região do litoral Paulistano, procedência da grande parte dos nossos pacientes.

Alguns autores questionam a possibilidade de ocorrer uma indução de tolerância a curto prazo nos TPO que são realizados com múltiplas doses (55). Na literatura há atualmente uma tendência à redução do número de doses. Revisão atual aponta o TPO com dose única como opção (56).

Em geral, o tempo de início dos sintomas imediatos é de 2h; entretanto, em alguns casos, os sintomas se desenvolvem após 2 horas e se tornam graves, e uma dose única no TPO permite um tempo maior para monitoramento dos sintomas (56).

Entre os quatro estudos mais importantes com camarão (tabela 34, Anexo), dois realizaram um total de 6 doses no DCPC. As doses iniciais variaram de 5 mg a 500 mg, sendo o total de 8 g o mais utilizado nos DCPC com camarão. Todavia, um estudo italiano realizado em 2017 (57) chega a 30 gramas no DCPC. No presente estudo conseguimos mascarar 9,200 g de camarão sete barbas, o que corresponde a aproximadamente 4 camarões no DCPC. Não há na literatura consenso sobre qual a dose total a ser atingida para o TPO com camarão, porém para alérgenos alimentares comuns como leite de vaca, ovos, amendoim e nozes, 3 g de proteína alimentar são considerados suficientes para causar uma reação alérgica (56,58).

Em estudo sobre TPO com dose única, o tempo mediano para o início dos sintomas foi de 20 minutos com leite e 50 minutos com ovos (59) sugerindo que o tempo necessário para o desenvolvimento dos sintomas difere entre os alimentos, e intervalos adequados de ingestão são desejáveis especialmente para ovos. No presente estudo observamos reações iniciadas 4 minutos após a dose oferecida, mas também reações que iniciaram 61 minutos e até 5 horas após a ingestão.

Há relatos que intervalos mais curtos nos TPO podem aumentar a incidência de sintomas graves. A incidência de sintomas cardiovasculares (6 vs. 0%) e uso de

adrenalina (14 vs. 3%) foi significativamente baixa quando o intervalo de dose foi mudado de 15 a 30 minutos para TPO com trigo (60).

Testes de provocação oral com intervalos entre doses de 1 hora foram relatados para serem realizados com segurança mesmo em pacientes de alto risco (56).

Quanto ao intervalo entre as etapas dos testes de provocação oral, a grande maioria dos estudos mantem um intervalo mínimo de uma semana entre as duas etapas do DCPC. Há discussão sobre o intervalo máximo entre as formas de TPO pois pode haver alteração na sensibilização, tanto dos alérgenos suspeitos, bem como os de reatividade cruzada que em alguns casos, podem originar reatividade clínica. No presente estudo, os TPO foram realizados com uma ou duas semanas de intervalo.

Anna Nowak e outros importantes autores em abril deste ano publicaram considerações sobre os testes de provocação oral (61), sugerindo que uma abordagem mais individualizada deve ser realizada, começando com uma dose inicial muito baixa, mas chegando mais rapidamente a uma dose maior do alimento oferecido, visando um montante seguro e adequado para a idade. E afirmam que embora segurança seja primordial, começar com quantidades em miligramas e inserir acesso venoso, não é necessário para a maioria dos testes de provocação oral(61).

Uma publicação recente (62) suporta a utilização de vários protocolos de TPO na prática, incluindo aqueles estabelecidos por Anna Nowak e pelo PRACTALL. (48) Apesar da variabilidade na abordagem, 98% dos desafios relatados não resultaram em anafilaxia (61).

Entre 20% e 40% dos pacientes desafiados em algumas séries apresentaram reações graves, com frequência para uma das doses mais baixas. Além disso, certos alimentos parecem causar reações mais severas ao desafio do que outros (46).

Juntamente com a história clínica, o teste cutâneo de leitura imediata e as IgE específicas séricas são valiosos para o diagnóstico da alergia alimentar. Mas as correlações com a gravidade da reação ou a predição de anafilaxia apresentam resultados mistos. Alguns estudos mostram correlação entre níveis de IgE e tamanho de pápulas em TCLI com gravidade das reações, e outros não (46).

Desde a coorte histórica de Sampson em 1997 (63) que avaliou valores de IgE específica que poderiam predizer reatividade clínica para ovo, leite, amendoim, soja, trigo e peixe, muitos estudos tentaram inferir o diagnóstico de alergia através do nível de IgE sérica específica, na tentativa de dispensar portanto os testes de provocação oral.

A grande maioria destes estudos foram realizados na população pediátrica. Entretanto, para a alergia a camarão, somente um estudo mostrou tentativa de correlacionar valor de IgE específica com reatividade clínica (57). No presente estudo, a tropomiosina não apresentou boa sensibilidade e especificidade, porem os testes cutâneos de leitura imediata para camarão em extrato comercial e “in natura” (cru, cozido), apresentaram resultados estatisticamente significativos, o que permitiu cálculo de valores de corte que podem auxiliar os especialistas na sua prática clínica. Portanto, neste estudo os pacientes com suspeita de alergia a camarão que apresentam TCLI com extrato comercial acima de 5,75 mm apresentam alta probabilidade de serem alérgicos. Se a técnica do *prick to prick* for utilizada, os TCLI com camarão cru e cozido devem resultar em pápulas acima de 6,75 e 5 mm respectivamente.

Jirapongsananuruk e colaboradores estudaram a diferença entre as médias de pápulas de TCLI com extratos de camarão das espécies *Macrobrachium rosenbergii* e *Penaeus monodon* crus e cozidos (45). As medias das pápulas dos testes realizados com o extrato de *P.monodon* cru foram maiores quando comparados com o extrato de *P. monodon* cozido. Já na espécie *M.rosenbergii* não houve diferença significativa entre as médias das pápulas entre os TCLI com extratos com o camarão cru ou cozido. Em ambos, TCLI acima de 10 mm de média estão associados a alergia a camarão (44).

Observamos que existem diferenças de resultados de acordo com a espécie de camarão utilizada, bem como com o aquecimento ou não do extrato.

O PRACTALL comenta sobre valores de médias de pápulas de TCLI que resultam em alta probabilidade de DCPC positivo para diversos alimentos, porem não menciona os camarões (46).

Já o estudo italiano de 2017 (57) mostrou que *prick to prick* com camarão cru apresentou o melhor valor de corte para alérgicos, com diâmetro médio de pápula de 6 mm (presente estudo = 6,75 mm). Porem não foi possível calcular um valor para o camarão cozido.

Este estudo é o primeiro a calcular os valores de corte para testes cutâneos em todas as suas formas.

A literatura relata que 80% dos alérgicos a camarão geralmente reagem a tropomiosina (presente estudo 58,8%), e que mais de 75% dos pacientes alérgicos a camarão com IgE específica para camarão positiva, reconhecem a tropomiosina (presente estudo = 83%) (26,29).

Porém neste estudo os valores de IgE específica para tropomiosina e camarão não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre alérgicos e não alérgicos.

Na tentativa de definir um valor de corte de IgE específica para camarão e tropomiosina neste estudo, usamos a técnica da curva ROC. Os valores calculados para IgE específica para tropomiosina não foram estatisticamente significativos, portanto não foi possível estabelecer um valor de corte. Já os valores para IgE específica de camarão foram significativos e obtivemos através da curva ROC (conforme resultados) um valor de corte de 0,075. Porém, este valor quando avaliado em kUA/l não permite o uso na prática clínica.

Em 2015, um importante estudo multicêntrico avaliou 58 alérgicos sendo 38 comprovados por DCPC, cuja média dos valores de IgE específica para camarão foi 38,14 kUA/l (51). Ao analisar individualmente os resultados de IgE específica, percebemos que os valores de IgE para camarão dos brasileiros são menores quando comparados aos de outros países. A média de IgE específica para camarão entre os 13 pacientes americanos foi de 71,7% (8 -100). Entre os 11 pacientes espanhóis a média foi 21,2 (2,47 – 96,7). Dos 14/38 com DCPC brasileiros, seis deles apresentaram IgE específica para camarão com valores menores que 1,0 kUA/l, e um paciente apresentou IgE específica para camarão negativa (menor 0,35 kUA/l), o que não ocorre nos demais pacientes dos outros países. A média da IgE específica para camarão nos brasileiros foi 20,3 kUA/l mas devemos atentar que um paciente apresentou um valor de 100, e dois aproximados a 50 kUA /L, todos os demais com valores mais baixos.

No presente estudo, a média da IgE específica para camarão foi 9,7 kUA/l. E observamos 5 pacientes alérgicos (5/17) com IgE específica negativa para camarão. Seria uma característica dos alérgicos brasileiros?

Em 2010, Yang e colaboradores comentaram em seu estudo a heterogeneidade dos extratos comerciais disponíveis para camarão (26). Os extratos comerciais podem ser compostos de várias espécies de camarão, e podem apresentar os mesmos “in natura” ou congelados, crus, cozidos ou ambos. Avaliando a tabela 34 (anexo) observamos a diversidade na composição dos extratos utilizados nos estudos. Muitas vezes é necessário o uso de um extrato comercial que não apresenta a espécie de camarão da região a ser estudada. E também não apresenta a mesma espécie de camarão utilizado no *prick to prick* nem nos testes de provocação oral. Outra dificuldade é a falta de padronização dos extratos.

Atualmente no Brasil existem duas empresas que comercializam extrato para TCLI de camarão. A IPI ASAC pharma, que não dispõe das informações sobre a composição do extrato de camarão, porém informa que o extrato é produzido na Espanha. A outra empresa, FDA Allergenic, informou que o extrato de camarão é composto por três espécies: *Litopenaeus schmitti*, *Farfantepenaeus paulensis*, *Xiphopenaeus kroyeri*. Informa ainda que os extratos são produzidos em partes iguais das três espécies, “*in natura*”, frescos e crus. Também informa que o extrato apresenta esta composição desde a obtenção do registro dos extratos de alimentos em 2011. De acordo com a literatura e dados disponíveis, este é o único extrato que apresenta a espécie *X. kroyeri*. Infelizmente, os extratos brasileiros estiveram indisponíveis por mais de um ano, período este que coincidiu com o início da realização dos TCLI nos pacientes deste estudo. Por isso não usamos o extrato nacional e sim o importado.

Importante estudo multicêntrico recente com o objetivo de analisar a utilidade clínica de extratos comerciais para camarão disponíveis na Itália, incluiu 157 pacientes alérgicos a camarão, que foram submetidos a TCLI com 5 extratos comerciais (64). Os extratos foram analisados usando WB e comparados com extrato fresco de camarão contendo as espécies consumidas localmente *Aristeus antennatus*, *Parapenaeus longirostris*, *Parapeneopsis cornuta*, e *Melicertus kerathurus*. Concluíram que os resultados de TCLI com os extratos foram extremamente heterogêneos, resultando em 32 perfis com diferenças marcantes no conteúdo proteico e ausência de proteínas nos pesos moleculares correspondentes aos dos principais alérgenos do camarão. Observaram também que a reatividade a IgE foi comum em pesos moleculares elevados (> 50 kDa).

Realizamos o *Western Blotting* dos pacientes alérgicos para conhecermos o perfil de sensibilização.

Também realizamos o WB de dois grupos de pacientes:

Pool 1: (n:4): pacientes alérgicos a camarão que apresentaram IgE sérica específica negativa para camarão e tropomiosina de camarão, porém TCLI positivo pelo menos a um dos três realizados (extrato comercial, camarão cru e cozido);

Pool 2: (n:3) Pacientes que apresentaram DCPC negativo, seguido de TPO aberto positivo;

Também realizamos isoladamente o WB do paciente número 36, por não apresentar sensibilização a nenhum método realizado.

Observamos que o pool de pacientes 1, apresentam a região próxima a 37 kDa com identificação de proteína, mas sabemos pelo ImmunoCAP negativo não ser a tropomiosina. Pelo WB 1D que foi realizado, não podemos afirmar quais seriam estas proteínas, somente inferimos pelo peso molecular.

Já o pool 2, apresenta uma amostra de pacientes sensibilizados e não sensibilizados, porem com desfecho de TPO semelhantes. Ao observar este grupo, também observamos a região entre 30 e 40 kDa identificada, mas também outras bandas acima de 50 kDa. Acreditamos que os DCPC foram negativos pelas questões discutidas anteriormente como a presença de gordura, trigo ou outras alterações na apresentação do alérgeno e não por proteínas específicas identificadas.

Interessante analisar o WB do paciente número 36, que foi avaliado isoladamente com seu soro incubado em extrato comercial e “in natura” do camarão estudado. Este paciente não apresenta nenhum teste cutâneo ou sérico positivo. Novamente a região próxima a tropomiosina foi identificada porem sabemos não se tratar da proteína. Comparando os dois WB há notável diferença na identificação de proteínas de peso molecular na banda de 50 kDa, próximo a região de 75 e somente no extrato comercial na região acima de 150 kDa. Importante atentar que mesmo com reconhecimento importante no extrato comercial os testes cutâneos foram negativos em duplicata.

Na última década, vários alérgenos do camarão foram identificados, e alguns com importante relação com reatividade clínica. Mesmo em estudos em que a tropomiosina parece ser mais eficiente que outros métodos diagnósticos (26) há a observação de que a mesma não deve ser o único método utilizado, pela possibilidade da existência de outros alérgenos. Pascal e colaboradores foram os primeiros a avaliar a alergia molecular na alergia a camarão (51). Foram avaliados dez proteínas recombinantes em 86 pacientes, sendo 58 alérgicos obtidos em três países, Estados unidos, Espanha e Brasil. A tropomiosina foi identificada em mais de 80% dos pacientes alérgicos. Pelos dados do estudo não há informações dos valores individuais de tropomiosina para cada paciente para análise dos dados dos pacientes brasileiros. Também não podemos comparar seus valores com os demais alérgicos de outros países (EUA, Espanha). Mas observamos uma sensibilidade de 82,8% e especificidade de

56,3% para tropomiosina de camarão. Ainda no estudo de Pascal, em três (5,2%) pacientes alérgicos, não foi identificado nenhum alérgeno do camarão. O que nos faz atentar para o contínuo estudo de novos alérgenos e também para o cuidado no uso dos componentes como ferramenta diagnóstica. Nenhum componente atual é capaz de afirmar se um paciente é alérgico ou não a camarão. O único método ainda considerado padrão ouro é o teste de provocação oral.

Este estudo, além de identificar e analisar 10 proteínas recombinantes, concluiu que a identificação de proteína sarcoplasmática ligadora de cálcio (SCP) aumenta a probabilidade de TPO positivo, embora a frequência de reconhecimento seja baixa (neste estudo sensibilidade de 34,5% e especificidade de 93,8%). Outra colaboração importante, foi identificar arginina quinase (AK) e hemocianina como possíveis marcadores de reatividade cruzada com outros artrópodes, e /ou invertebrados como ácaros e baratas (51). Ainda discutem se a identificação do alérgeno cadeia leve da miosina (MLC) pode prever a alergia a camarão. Segundo o estudo, a MLC pode ser importante na avaliação de pacientes sensibilizados a camarão. Este estudo propõe um diagrama de fluxo para o diagnóstico da alergia a camarão usando estes componentes, onde pacientes que apresentam TCLI para camarão positivo, IgE específica positiva, tropomiosina, SCP, e MLC positivas, teriam alta chance de TPO positivo.

Atualmente, em alguns casos podemos solicitar a realização do ImmunoCAP ISAC. Além do camarão (*nPen m1*), encontramos disponíveis os componentes tropomiosina, arginina quinase (*nPen m 2*), e proteína sarcoplasmática ligadora de cálcio (*nPen m 4*). Todos os componentes de uma única espécie *Penaeus monodon*.

Importante atentar que para a realização do ImmunoCAP, são utilizadas quatro espécies de camarão; *Pandalus borealis*, *Penaeus monodon*, *Metapenaeopsis barbata*, *Metapenaeus joyneri*. Nenhum teste sérico apresenta o *X.Kroyeri* em sua composição.

Entre os testes de provocação oral realizados, a paciente número 16, CLO, 54 anos, apresentou a reação mais intensa entre as observadas sendo necessário uso de duas doses de adrenalina e todo suporte para recuperação. Esta paciente apresentava história de reação única prévia, imediata após ingestão de paella contendo camarões. Referiu broncoespasmo, angioedema de face e urticária generalizada, com necessidade de ida ao pronto socorro onde foi tratada e mantida em observação. Realizou restrição posterior de frutos do mar. Este episódio único ocorreu dois anos antes do TPO deste estudo.

Foi realizado DCPC em duas etapas com duas semanas de intervalo entre elas, ambas as etapas negativas. Prosseguimos para o desencadeamento aberto, onde foi oferecido 1 camarão, e após 30 minutos onze camarões (totalizando 12 camarões *X. kroyeri*, aproximadamente 30 g). Quatro minutos após a dose completa, a paciente iniciou com espirros, queixa de obstrução nasal, hiperemia conjuntival bilateral importante evoluindo para lacrimejamento e edema palpebral bilateral. Ainda evoluiu com edema em palato e queda do pico de fluxo expiratório. Recebeu todo suporte e tratamento, sendo necessárias duas doses de adrenalina, anti histamínico, corticosteroide e beta dois de curta ação para sua melhora.

Esta paciente não apresentou sensibilização para tropomiosina nem para camarão. Porém apresentou TCLI com extrato comercial positivo, bem como *prick to prick* com o mesmo camarão do seu desencadeamento positivo. Os valores obtidos nos TCLI apresentam valores maiores do que os valores de corte calculados neste presente estudo. Portanto, nesta paciente se os valores de corte fossem aplicados, o desencadeamento poderia ser dispensado, com redução importante do risco.

Exclusivamente para esta paciente foi realizado o ImmunoCAP ISAC (apêndice 1). Todos os alérgenos pesquisados obtiveram resultados negativos, incluindo os três componentes do camarão disponíveis, bem como *Anisakis* e aeroalérgenos. A paciente apresentou no ISAC resultado positivo para látex, sendo realizada investigação inclusive com provocação, que resultou negativa.

Um relato de caso importante e atual, reporta uma reação anafilática grave e imediata em um homem de 33 anos, após consumo de camarão na Espanha (65). Pela gravidade da reação, o TPO foi dispensado e foram realizados testes diagnósticos. O TCLI (*prick to prick*) realizado com a espécie *Penaeus notalis* foi o único teste positivo, com o valor de 5x5 mm. Teste cutâneo de leitura imediata para tropomiosina, IgE específica para tropomiosina, camarão e *D. pteronyssinus* foram negativos. Realizado extrato com camarão *Penaeus aztecus* cru e cozido e observada ligação a IgE em banda com peso de 38 kDa. A banda de ligação a IgE foi extraída do gel e a proteína frutose-1,6-bifosfato-aldolase de *Penaeus aztecus* foi identificada. A aldolase é considerada um alérgeno menor, que provavelmente não está presente ou presente em pequena quantidade em extratos comerciais, justificando os TCLI negativos com extratos. Neste caso a aldolase foi a única proteína identificada. Questionamos se esta proteína está presente nos pacientes com TCLI negativo e também com tropomiosina negativa.

Estaria a aldolase também associada a quadros graves? Outra questão relevante a ser discutida sobre os estudos que inferem a possível identificação da tropomiosina pelo peso molecular no *Western blotting*, é a proximidade do peso molecular da tropomiosina e da aldolase. Poderia a aldolase ser a responsável pela ligação a IgE no WB e não a tropomiosina? Ou até mesmo outros alérgenos de peso molecular aproximados ainda não reconhecidos?

Em 2017 um estudo Italiano, foi o primeiro a utilizar o ISAC em todos os pacientes com suspeita de alergia a camarão (57). Este estudo apresentou 13 pacientes alérgicos a camarão, todos com IgE específica positiva para camarão, porém três pacientes alérgicos apresentaram valores de IgE específica para tropomiosina negativos ($<0,10$ kUA/l). Avaliando especificamente estes três pacientes, dois deles também apresentaram exames negativos para os componentes disponíveis no ISAC (SCP e AK). Este estudo italiano também foi o primeiro estudo abordando alergia a camarão, a considerar valores de IgE específica $\geq 0,10$ kUA/l positivos. No presente estudo optamos por definir valores maiores ou iguais a $0,35$ kUA/l como positivos, para facilitar a comparação dos resultados obtidos com os estudos já realizados. Se o valor fosse alterado para $0,10$ kUA/l no presente estudo, os valores de especificidade, sensibilidade, VPP, VPN para tropomiosina de camarão não sofreriam interferência. Já os valores obtidos para IgE específica para camarão sim.

No estudo de Yang e colaboradores, entre os 7 pacientes atópicos, que apresentaram DCPC positivo para camarão, dois apresentaram TCLI com extrato negativo (26). Neste estudo uma paciente alérgica apresentou TCLI negativo para extrato e camarão “in natura” cru e cozido. Diante destes dados, torna-se importante incluir pacientes com TCLI negativos para camarão em estudos, desde que apresentem uma história clínica consistente com alergia alimentar. Até o presente momento, grande parte dos estudos coloca o TCLI positivo como critério de inclusão, deixando de analisar alguns pacientes que apresentam TCLI negativos, mesmo sendo alérgicos.

Foi avaliado o perfil de sensibilização dos pacientes com suspeita de alergia a camarão para os aeroalérgenos estudados (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis* e *Periplaneta americana*). Todos os 32 pacientes apresentaram sensibilização a pelo menos um aeroalérgeno pelo TCLI ou IgE sérica específica.

A busca por testes diagnósticos com alta sensibilidade e especificidade, de fácil realização e acesso são uma constante na Medicina. Na literatura, a tropomiosina é

considerada ferramenta útil na avaliação do paciente com alergia a camarão. Contudo, isoladamente, se mostrou uma ferramenta diagnóstica insuficiente para definir alergia a camarão *X. kroyeri*.

7. CONCLUSÕES

- A dosagem da IgE sérica específica para tropomiosina no diagnóstico da alergia a camarão neste estudo, apresentou baixa sensibilidade e baixo valor preditivo positivo;
- A dosagem de IgE sérica específica para tropomiosina neste estudo, apresentou menor sensibilidade e VPP quando comparada a IgE sérica específica para camarão bem como testes cutâneos de leitura imediata com extrato comercial e camarão “in natura”;
- O teste cutâneo de leitura imediata com extrato comercial de camarão, apresentou a maior sensibilidade e maior VPN quando comparado aos demais métodos neste estudo;
- Todos os pacientes deste estudo são atópicos;
- O TCLI tanto com extrato comercial quanto com técnica do *prick to prick* foi capaz de identificar com significância estatística os alérgicos e não alérgicos a camarão;
- Foi possível estabelecer um valor de corte para TCLI para camarão “in natura” cru e cozido e para extrato comercial, que distingue alérgicos de não alérgicos a camarão;
- Nenhum teste diagnóstico atual para alergia a camarão substitui o teste de provocação oral.

8. ANEXOS

Tabela 25 – Desfecho dos testes de provocação oral (n: 32)

NOME	1 ETAPA DCPC	2 ETAPA DCPC	ABERTO	RESULTADO
1 AS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICA
3 LMS	X	X	X	ALÉRGICA/DISPENSADA
4 JFS	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ALÉRGICO
5 KC	NEGATIVO	POSITIVO	X	ALÉRGICA
6 VHAD	X	X	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICO
7 DRF	X	X	X	ALÉRGICA/DISPENSADA
8 LCMN	X	X	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICA
9 MISP	X	X	X	ALÉRGICA/DISPENSADA
12 MPR	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICA
13 MSQ	X	X	X	ALÉRGICA/DISPENSADA
14 RBO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVA	ALÉRGICA
15 SRRB	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICA
16 CLO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVA	ALÉRGICA
17 ERSF	INCONCLUSIVO	INCONCLUSIVO	POSITIVA	ALÉRGICA
19 MACO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICA
21 FCDC	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICA
22 FNCF	X	X	X	DISPENSADA/ALÉRGICA
23 FAVS	X	X	X	DISPENSADO/ALÉRGICO
24 ARAS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICA
26 EAM	X	X	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICA
28 LOMD	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICA
29 DSC	NEGATIVO	INCONCL.	POSITIVA	ALÉRGICO
30 JF	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVA	NÃO ALÉRGICA
31 AA	X	X	NEGATIVA	NÃO ALÉRGICA
32 TBOL	X	X	X	ALÉRGICA /DISPENSADA
33 AHS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICA
34 DAC	NEGATIVO	POSITIVA	X	ALÉRGICA
36 CFA	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVA	ALÉRGICA
38 RGS	X	X	X	DISPENSADA /ALÉRGICA
39 FDF	X	X	NEGATIVA	NÃO ALÉRGICO
40 MCS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NÃO ALÉRGICO
42 LVP	X	X	X	DISPENSADA/ALÉRGICA

Legenda: X= dispensado.

Tabela 26 – Teste cutâneo para camarão com extrato (Greer) , camarão cru e cozido (*X. Kroyeri*) em mm (n: 42)

Paciente	Histamina	Extrato	Cru	Cozido
1 AS	12 X 7	5X4	4X5	NEG
2 AC	----	-----	-----	-----
3 LMS	5X5	6X6	7X7	7X5
4 JFS	12X10	12X5	11X6	15X6
5KC	16X6	10X7	11X5	7X6
6 VHAD	11X9	9X6	11X8	NEG
7 DRF	8X8	9X6	20X10	16X11
8 LCMN	7X4	6X5	NEG	9X6
9 MISP	7x8	10x4	NEG	8X9
10 LMSN	-----	-----	-----	-----
11 MVBL	10X5	NEG	NEG	NEG
12 MPR	6X7	NEG	NEG	5X4
13 MSQ	9X5	7X5	15X9	20X5
14 RBO	7X8	11X6	34X7	7X4
15 SRRB	9X9	4X4	NEG	NEG
16 CLO	10X5	8X7	6X4	10X7
17 ERSF	10X6	17X5	10X6	17X7
18 RABG	7X3	NEG	9X3	8X4
19 MACO	12X8	NEG	NEG	NEG
20 CIR	10X9	5X3	4X2	4X3
21 FCDC	14X8	NEG	7X4	NEG
22 FNCF	11X5	6X5	3X3	NEG
23 FAVS	9X11	9X7	18X11	14X8
24 ARAS	9X6	7X4	NEG	NEG
25 CHU	11X8	6X6	NEG	5X4
26 EAM	15 X12	NEG	NEG	NEG
27BBSA	-----	-----	-----	-----
28 LOMD	5X5	NEG	NEG	NEG
29 DSC	6X6	11X8	15X6	11X6
30 JF	7X6	NEG	6X7	12X4
31 AA	5X5	8X4	10X5	11X3
32 TBOL	14X9	9X7	7X6	11X4
33 AHS	8X9	NEG	NEG	NEG
34 DAC	8X8	4X4	NEG	NEG
35 AVM	12X9	NEG	NEG	NEG
36 CFA	8X9	NEG	NEG	NEG
37 DLJ	4X4	NEG	NEG	NEG
38 RGS	11X10	12X6	8X6	7X6
39 FDF	7X6	8X9	NEG	NEG
40 MCS	13x9	14x7	27x13	24x13
41 FSM	8X6	15X5	16X6	14X4
42 LVP	9X7	14X7	14X15	9X10

NOTA: Pacientes números 2, 10 e 27: não realizado

Tabela 27 - Teste cutâneo para *D.pteronyssinus*, *B. tropicalis*, *P. americana* (n: 32)

PACIENTES	SALINA	D.pteronyssinus	B.tropicalis	P.americana
1 AS	NEG	5X5	5X4	NEG
3 LMS	NEG	5X4	4X4	5X4
4JFS	NEG	10X5	12X12	10X5
5 KC	NEG	6X4	7X4	5X3
6 VHAD	NEG	12X7	6X5	NEG
7DRF	NEG	7X5	5X5	7X4
8 LCMN	NEG	NEG	5X4	NEG
9 MISP	NEG	7X5	11X8	6X5
12 MPR	NEG	NEG	4X5	NEG
13 MSQI	NEG	5X7	4X4	5X4
14RBO	NEG	7X4	NEG	NEG
15 SRRB	NEG	4X4	5X4	5X4
16 CLO	NEG	4X4	4X4	5X4
17 ERSF	NEG	5X4	10X7	3X3
19 MACO	NEG	4X3	7X4	NEG
21 FCDC	NEG	11X5	8X4	6X5
22 FNCF	NEG	NEG	NEG	4X4
23 FAVS	NEG	10X8	12X5	NEG
24 ARAS	NEG	7X6	6X4	6X5
26 EAM	8X6	NEG	NEG	NEG
28LOMD	NEG	NEG	NEG	NEG
29 DSC	NEG	NEG	10X7	NEG
30 JF	NEG	5X4	10X6	NEG
31 AA	NEG	11X4	7X5	9X3
32 TBOL	NEG	NEG	10X7	NEG
33 AHS	NEG	9X5	10X5	NEG
34 DAC	NEG	5X3	3X3	5X5
36 CFA	5X5	NEG	NEG	NEG
38 RGS	NEG	12X5	NEG	6X4
39 FDF	NEG	8X6	NEG	8X5
40 MCS	NEG	20 X 12	19X10	NEG
42LVP	NEG	10X6	8X4	5X3

Tabela 28 – Valores de sensibilidade e especificidade para “teste cutâneo de leitura imediata - Extrato” que compoem a curva ROC

Extrato	Sensibilidade	Especificidade
-1,00	100,0%	0,0%
2,00	94,1%	46,7%
4,25	88,2%	53,3%
5,00	88,2%	60,0%
5,75	82,4%	73,3%
6,50	70,6%	80,0%
7,25	64,7%	80,0%
7,75	52,9%	86,7%
8,25	41,2%	86,7%
8,75	23,5%	93,3%
9,25	17,6%	93,3%
10,00	11,8%	93,3%
10,75	5,9%	100,0%
12,00	0,0%	100,0%

Tabela 29 – Valores de sensibilidade e especificidade para “teste cutâneo de leitura imediata - Cru” que compoem a curva ROC

Cru	Sensibilidade	Especificidade
-1,00	100,0%	0,0%
1,50	82,4%	60,0%
3,75	76,5%	60,0%
4,75	76,5%	66,7%
5,25	70,6%	66,7%
6,00	70,6%	73,3%
6,75	64,7%	80,0%
7,25	52,9%	80,0%
7,75	52,9%	86,7%
8,25	41,2%	86,7%
9,00	35,3%	86,7%
10,00	35,3%	93,3%
11,25	29,4%	93,3%
13,25	23,5%	93,3%
14,75	11,8%	93,3%
17,50	5,9%	93,3%
20,25	5,9%	100,0%
21,50	0,0%	100,0%

Tabela 30 – Valores de sensibilidade e especificidade para “teste cutâneo de leitura imediata - Cozido” que compoem a curva ROC

Cozido	Sensibilidade	Especificidade
-1,00	100,0%	0,0%
2,25	82,4%	66,7%
5,00	82,4%	73,3%
5,75	76,5%	73,3%
6,25	70,6%	73,3%
6,75	58,8%	73,3%
7,25	58,8%	80,0%
7,75	52,9%	86,7%
8,25	52,9%	93,3%
9,00	35,3%	93,3%
10,00	29,4%	93,3%
10,75	23,5%	93,3%
11,50	17,6%	93,3%
12,25	11,8%	93,3%
13,00	5,9%	93,3%
16,00	0,0%	93,3%
19,50	0,0%	100,0%

Tabela 31 -Resultados das dosagens de IgE específica pelo método de ImmunoCAP para tropomiosina de camarão, camarão, *D.pteronyssinus*, *B.tropicalis* e *P.americana*

N/ Nome	Alérgico a camarão?	IgE tropomiosina (F351)	IgE camarão (F24)	IgE <i>D.pteronyssinus</i> (D01)	IgE <i>B.tropicalis</i> (Rd201)	IgE <i>P.americana</i> (i206)
1 AS	Não	0,04	0,15	1,88	1,83	0,05
3 LMS	Sim	0,04	1,77	2,68	24,2	1,70
4 JFS	Sim	25,8	25,6	14,1	25,4	3,14
5 KC	Sim	4,72	4,78	3,98	1,60	2,81
6VHAD	Não	2,32	2,81	28,2	7,96	1,06
7DRF	SIM	6,27	6,02	3,92	1,61	3,56
8 LCMN	Não	0,38	1,03	1,21	6,23	0,57
9 MISP	Sim	37,2	52,7	79,6	70,4	14,6
12 MPR	Nao	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01
13 MSQL	Sim	19,1	21,6	>100	33,6	7,01
14 RBO	Sim	0,56	0,69	5,43	14,8	0,35
15 SRRB	Nao	0,03	0,07	0,02	0,04	0,02
16 CLO	sim	0,00	0,26	0,06	0,05	0,03
17 ERSF	sim	1,13	1,10	3,29	2,97	0,93
19 MACO	Não	0,001	0,004	0,03	0,01	0,02
21 FCDC	Não	0,02	0,03	0,84	0,09	0,03
22 FNCF	Sim	0,01	0,02	0,15	0,20	0,01
23 FAVS	Sim	1,76	4,12	23,8	18,5	1,23
24 ARAS	Não	0,02	0,02	0,45	0,15	0,02
26 EAM	Nao	0,001	1,21	2,53	1,90	0,62
28 LOMD	Nao	0,42	0,28	0,75	1,01	0,30
29 DSC	Sim	0,002	0,60	22,5	19,9	0,14
30 JF	Nao	0,00	0,02	0,18	0,62	0,01
31 AA	Nao	0,60	0,87	>100	16,5	0,56
32 TBOL	Sim	0,02	0,19	14,8	17,6	0,37
33 AHS	Não	0,03	0,45	21,1	16,0	0,39
34 DAC	Sim	0,03	0,08	0,04	0,05	0,02
36 CFA	Sim	0,02	0,08	0,26	0,26	0,09
38 RGS	Sim	29,3	31,9	18,4	10,2	13,9
39 FDF	Não	6,59	9,24	21	12,8	4,10
40 MCS	Nao	13,6	13,7	48,2	18,7	5,50
42 LVP	Sim	12	14,14	37,1	>100	12,5

Tabela 32 – Valores de sensibilidade e especificidade para “IgE tropomiosina” que compoem a curva ROC

IgE tropomiosina	Sensibilidade	Especificidade
-1,000	100,0%	0,0%
0,001	94,1%	6,7%
0,002	94,1%	20,0%
0,006	88,2%	20,0%
0,015	82,4%	26,7%
0,025	70,6%	40,0%
0,035	64,7%	53,3%
0,210	58,8%	60,0%
0,400	58,8%	66,7%
0,490	58,8%	73,3%
0,580	52,9%	73,3%
0,865	52,9%	80,0%
1,445	47,1%	80,0%
2,040	41,2%	80,0%
3,520	41,2%	86,7%
5,545	35,3%	86,7%
6,480	29,4%	86,7%
9,295	29,4%	93,3%
12,800	23,5%	93,3%
16,350	23,5%	100,0%
22,450	17,6%	100,0%
27,550	11,8%	100,0%
33,250	5,9%	100,0%
38,200	0,0%	100,0%

Tabela 33 – Valores de sensibilidade e especificidade para “IgE camarão” que compoem a curva ROC

IgE camarão	Sensibilidade	Especificidade
-0,996	100,0%	0,0%
0,007	100,0%	6,7%
0,015	100,0%	13,3%
0,025	94,1%	26,7%
0,050	94,1%	33,3%
0,075	94,1%	40,0%
0,115	82,4%	40,0%
0,170	82,4%	46,7%
0,225	76,5%	46,7%
0,270	70,6%	46,7%
0,365	70,6%	53,3%
0,525	70,6%	60,0%
0,645	64,7%	60,0%
0,780	58,8%	60,0%
0,950	58,8%	66,7%
1,065	58,8%	73,3%
1,155	52,9%	73,3%
1,490	52,9%	80,0%
2,290	47,1%	80,0%
3,465	47,1%	86,7%
4,450	41,2%	86,7%
5,400	35,3%	86,7%
7,630	29,4%	86,7%
11,470	29,4%	93,3%
13,920	29,4%	100,0%
17,870	23,5%	100,0%
23,600	17,6%	100,0%
28,750	11,8%	100,0%
42,300	5,9%	100,0%
53,700	0,0%	100,0%

Tabela 34 - Características gerais dos estudos mais relevantes em alergia a camarão

Estudo / ano	Idade dos pacientes	Crítérios inclusão	N	Objetivo	TCLI extrato	prick to prick	Dosagem de IgE para camarão	Dosagem de IgE para tropomiosina	valor de corte IgE específica	DCPC N / doses / esquema	Mascaramento	Espécie camarão TPO	TPO aberto	TPO e TCLI com mesma espécie
YANG et al., 2010. Brasil	□ 16 a 50 anos (mediana, 30 + ou - 11,5 anos)	Atópicos (asma e/ou rinite), sensibilizados ao <i>D.pteronissinus</i>	35	Valor da detecção de IgE à tropomiosina de camarão no diagnóstico de alergia ao camarão	Hollister stier, EUA: <i>Penaeus setiferus</i> cozido a 1:10 (camarão grande do Golfo do México) com um teor de proteína de 54.000 a 286.000 PNU / mL.	Não realizado	ImmunoCAP f24 (Phadia, São Paulo, Brasil): <i>Pandalus borealis</i> (cozido e congelado), <i>Penaeus monodon</i> , <i>Metapenaeus barbata</i> , <i>Metapenaeus joyneri</i> (crus e congelados).	Elisa quimérico (Indoor Biotechnologies, Inc, Charlottesville, VA) com Greer 1:20, em peso/volume (Penaeus aztecus e Penaeus setiferus crus)	0,7 kUA/L	6 doses, maximo 8 gramas, intervalo 20 minutos. (primeira dose, 500 mg; segunda dose, 500 mg; terceira dose, 1 g; quarta a sexta doses, 2 g; dose mima, 8 g).	Liofilizado / lactose	<i>Litopenaeus vannamei</i>	12 camarões cozidos (30 gramas) mas a espécie não foi informada	Não
GÁMEZ et al., 2011. Espanha	A idade média foi 23,9 ± 13,9 anos	36 com história positiva, 9 atópicos rinite e/ou asma tolerantes	45	Avaliar padrões de reconhecimento de diferentes tropomiosinas em pacientes alérgicos e pacientes tolerantes ao camarão	Leti, Madrid, Spain (componentes nao disponíveis)	<i>Solenocera melantho</i> cru	ImmunoCAP f24 (Phadia, São Paulo, Brasil): <i>Pandalus borealis</i> (cozido e congelado), <i>Penaeus monodon</i> , <i>Metapenaeopsis barbata</i> , <i>Metapenaeus joyneri</i> (crus e congelados).	ImmunoCAP componente rPen a 1 (Phadia, São Paulo, Brasil); Immunoblotting: nPen m 1	>0,35 kUA/L	Não mencionado	Pudim de Milkshake contendo baunilha e sorvete de chocolate	<i>Solenocera melantho</i>	12 camarões cozidos (30 gramas) mas a espécie não foi informada	SPT - não / prick-to-prick - sim
PASCAL et al., 2015. USA, Espanha e Brasil	Entre 3 e 60 anos	TCLI positivo para camarão (com história clínica ou não / atópicos com teste para camarão positivo)	86	Identificar alérgenos e epitopos associados com reatividade clínica ao camarão.	Espanha - Leti; USA - Alk Abelló (<i>Pandalus borealis</i>); Hollister Stier (Penaeus setiferus cozido)	Não realizado	ImmunoCAP f24 (Phadia, São Paulo, Brasil): <i>Pandalus borealis</i> (cozido e congelado), <i>Penaeus monodon</i> , <i>Metapenaeopsis barbata</i> , <i>Metapenaeus joyneri</i> (crus e congelados). Immunoblotting: <i>L. vannamei</i>	Dez proteínas recombinantes foram avaliadas, entre elas a tropomiosina (Lit v 1). Tropomiosina foi a mais frequentemente reconhecida, sozinha (7/58, 12,1%) e em combinação com SCPs (18 / 58, 31%) ou MLC (21/58, 36,2%). Evento raro entre os tolerantes.	>0,35 kUA/L	500 mg até máximo 8 gramas. Não menciona intervalos.	Pudim de chocolate / lactose	Não informada	12 camarões cozidos (30 gramas) mas a espécie não foi informada	Não
FARIOLI et al., 2017. Itália	A idade média foi de 41 anos (Entre 18 a 73 anos)	Suspeita de alergia ao camarão (história clínica e/ou sensibilização)	99	Avaliar o papel da IgE específica para os diferentes alérgenos de camarão e ácaros em distinguir desencadeamento para camarão positivo ou negativo (tropomiosina para distinguir entre somente sensibilizados e reativos)	Não realizado	Da família Penaeidae (cru e cozido)	ImmunoCAP f24 (Phadia, São Paulo, Brasil): <i>Pandalus borealis</i> (cozido e congelado), <i>Penaeus monodon</i> , <i>Metapenaeopsis barbata</i> , <i>Metapenaeus joyneri</i> (crus e congelados).	ImmunoCAP componente rPen a 1 (Phadia, São Paulo, Brasil);	>0,1 kUA/L	7 camarões foram fervidos por 3 min e administrados aos pacientes em doses crescentes, começando com 5 mg. Os pacientes foram orientados a mastigar e, posteriormente, engolir cada dose de camarão a 20 min intervalos até a dose final de 30 g. Refeições de camarão foram administradas em doses crescentes da seguinte forma: 100 mg, 400 mg, 1,5 g, 3,5 g, 7,0 g 17,5 g. Todas as doses foram administradas em intervalos de 20 minutos a menos que os sintomas se desenvolvessem.	A refeição ativa foi composta de camarão cozido pelados (30 g), atum enlatado (40 g), arroz cozido no vapor (20 g), água (20 mL), azeite (1 colher de sopa), sal e açafrão. A refeição placebo foi preparada sem camarão.	Não informada	Camarão cozido, espécie e quantidades não informadas.	Não informada
Presente estudo, 2018. Brasil	34,6	Suspeita de alergia ao camarão (história clínica e/ou sensibilização seguida por exclusão)	32	Avaliar o valor diagnóstico da IgE específica para tropomiosina em pacientes alérgicos ao camarão	Stallergenes Greer F34: <i>Litopenaeus setiferus</i> , <i>Farfantepenaeus aztecus</i> , <i>Farfantepenaeus duorarum</i> (crus e congelados)	<i>X. Kroyeri</i>	ImmunoCAP f24 (Phadia, São Paulo, Brasil): <i>Pandalus borealis</i> (cozido e congelado), <i>Penaeus monodon</i> , <i>Metapenaeopsis barbata</i> , <i>Metapenaeus joyneri</i> (crus e congelados).	ImmunoCAP componente rPen a 1 (Phadia, São Paulo, Brasil);	>0,35kUA/L	4 etapas tanto com o alérgeno, quanto somente a mistura (placebo). (primeira dose 200 mg; segunda dose 2g; terceira dose 3g; quarta dose 4g; totalizando 9,200 gramas de camarão na mistura. Intervalo 20 minutos	Chocolate em pó, aveia em flocos, coco ralado, creme de aveia, extrato de baunilha e sorvete de flocos.	<i>Xiphopenaeus Kroyeri</i>	12 camarões cozidos (30 gramas) espécie <i>Xiphopenaeus Kroyeri</i>	SPT - não / prick-to-prick - sim

Tabela 35 - Resultados dos testes séricos e cutâneos dos pacientes pertencentes ao pool 1 de alérgicos

Testes	Pacientes / números			
	16	22	32	34
IgE específica camarão (kUA/L)	0,26	0,02	0,19	0,08
IgE específica tropomiosina de camarão (kUA/L)	0,00	0,01	0,02	0,03
TCLI extrato comercial (mm)	8x7	6x5	9x7	4x4
TCLI camarão cru (mm)	6x4	3x3	7x6	negativo
TCLI camarão cozido (mm)	10x7	negativo	11x4	negativo

Valores de IgE específica considerada positiva : $\geq 0,35$ kUA/L

9. REFERÊNCIAS

1. Solé D, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC, et al. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2018 - Parte 1 - Etiopatogenia, clínica e diagnóstico. Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunologia. *Arq Asma, Alerg e Imunol.* 2018;2(1).
2. Flores Kim J, McCleary N, Nwaru BI, Stoddart A, Sheikh A. Diagnostic accuracy, risk assessment, and cost-effectiveness of component-resolved diagnostics for food allergy: A systematic review. *Allergy.* Wiley/Blackwell (10.1111); 2 de março de 2018;
3. Tham EH, Leung DYM. How Different Parts of the World Provide New Insights Into Food Allergy. *Allergy Asthma Immunol Res.* Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology and Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease; julho de 2018;10(4):290–9.
4. Muraro A, Lemanske RF, Castells M, Torres MJ, Khan D, Simon H-U, et al. Precision medicine in allergic disease-food allergy, drug allergy, and anaphylaxis-PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. *Allergy.* Wiley/Blackwell (10.1111); julho de 2017;72(7):1006–21.
5. Burks AW, Sampson HA, Plaut M, Lack G, Akdis CA. Treatment for food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* Elsevier; 1 de janeiro de 2018;141(1):1–9.
6. Sampson HA, O'Mahony L, Burks AW, Plaut M, Lack G, Akdis CA. Mechanisms of food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* Elsevier; 1 de janeiro de 2018;141(1):11–9.
7. Wambre E, Bajzik V, DeLong JH, O'Brien K, Nguyen Q-A, Speake C, et al. A phenotypically and functionally distinct human TH2 cell subpopulation is associated with allergic disorders. *Sci Transl Med.* NIH Public Access; 2 de agosto de 2017;9(401).
8. Smith PK, Masilamani M, Li X-M, Sampson HA. The false alarm hypothesis: Food allergy is associated with high dietary advanced glycation end-products and proglycating dietary sugars that mimic alarmins. *J Allergy Clin Immunol.* Elsevier; 1 de fevereiro de 2017;139(2):429–37.

9. Huang YJ, Marsland BJ, Bunyavanich S, O'Mahony L, Leung DYM, Muraro A, et al. The microbiome in allergic disease: Current understanding and future opportunities-2017 PRACTALL document of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. Elsevier; 1 de abril de 2017;139(4):1099–110.
10. Barcik W, Pugin B, Westermann P, Perez NR, Ferstl R, Wawrzyniak M, et al. Histamine-secreting microbes are increased in the gut of adult asthma patients. *J Allergy Clin Immunol*. Elsevier; 1 de novembro de 2016;138(5):1491–1494.e7.
11. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, et al. EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol*. 2016;27:1–250.
12. Wood, R. Oral Immunotherapy for Food Allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 19 de janeiro de 2017;27(3).
13. Solé D, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC, et al. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2018-Parte 2-Diagnóstico, tratamento e prevenção. Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunologia. *Arq Asma, Alerg e Imunol*. 2018;
14. Sicherer SH, Muñoz-Furlong A, Sampson HA. Prevalence of seafood allergy in the United States determined by a random telephone survey. *J Allergy Clin Immunol*. Elsevier; 1 de julho de 2004;114(1):159–65.
15. Pedrosa M, Boyano-Martínez T, García-Ara C, Quirce S. Shellfish Allergy: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 29 de outubro de 2015;49(2):203–16.
16. Kandyil RM, Davis CM. Shellfish allergy in children. *Pediatr Allergy Immunol*. Wiley/Blackwell (10.1111); agosto de 2009;20(5):408–14.
17. Lopata AL, Kleine-Tebbe J, Kamath SD. Allergens and molecular diagnostics of shellfish allergy. novembro de 2016;25(7).
18. Crespo JF, Pascual C, Burks AW, Helm RM, Esteban MM. Frequency of food allergy in a pediatric population from Spain. *Pediatr Allergy Immunol*. Wiley/Blackwell (10.1111); fevereiro de 1995;6(1):39–43.
19. Kamath SD, Rahman AMA, Voskamp A, Komoda T, Rolland JM, O'Hehir RE,

- et al. Effect of heat processing on antibody reactivity to allergen variants and fragments of black tiger prawn: A comprehensive allergenomic approach. *Mol Nutr Food Res*. Wiley-Blackwell; maio de 2014;58(5):1144–55.
20. Beach Daul C, E. Morgan J, B. Lehrer S. The natural history of shrimp hypersensitivity.
 21. Ayuso R, Sánchez-García S, Lin J, Fu Z, Ibáñez MD, Carrillo T, et al. Greater epitope recognition of shrimp allergens by children than by adults suggests that shrimp sensitization decreases with age. *J Allergy Clin Immunol*. junho de 2010;125(6):1286–1293.e3.
 22. Pascal M, Grishina G, Yang AC, Sánchez-García S, Lin J, Towle D, et al. Molecular Diagnosis of Shrimp Allergy: Efficiency of Several Allergens to Predict Clinical Reactivity. *J Allergy Clin Immunol Pract*. Elsevier; 1 de julho de 2015;3(4):521–529.e10.
 23. do Meio Ambiente M. Boletim Técnico-Científico do CEPENE. 2008;16(1):9–125.
 24. Holthuis LB. Shrimps and prawns of the world: an annotated catalogue of species of interest to fisheries. Food and Agriculture Organization of the United Nations; 1980. 271 p.
 25. Branco JO. Biologia e pesca do camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) (Crustacea, Penaeidae), na Armação do Itapocoroy, Penha, Santa Catarina, Brasil. *Rev Bras Zool*. dezembro de 2005;22(4):1050–62.
 26. Yang AC, Karla Arruda L, Beatriz Santos AR, R Barbosa MC, Chapman MD, vis S Galvão CE, et al. Measurement of IgE antibodies to shrimp tropomyosin is superior to skin prick testing with commercial extract and measurement of IgE to shrimp for predicting clinically relevant allergic reactions after shrimp ingestion. Food, drug, insect sting allergy, anaphylaxis Meas. Elsevier; 1 de abril de 2010;125(4).
 27. Ayuso R, Lehrer SB, Reese G. Identification of continuous, allergenic regions of the major shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin). *Int Arch Allergy Immunol*. Karger Publishers; janeiro de 2002;127(1):27–37.
 28. Lopata AL, Kleine-Tebbe J, Kamath SD. Allergens and Molecular Diagnostics of Shellfish Allergy. In: *Molecular Allergy Diagnostics*. Cham: Springer International Publishing; 2017. p. 399–414.

29. Reese G, Ayuso R, Lehrer SB. Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen. *Int Arch Allergy Immunol*. Karger Publishers; agosto de 1999;119(4):247–58.
30. Reese G, Schick Tanz S, Lauer I, Randow S, Luttkopf D, Vogel L, et al. Structural, immunological and functional properties of natural recombinant Pen a 1, the major allergen of Brown Shrimp, *Penaeus aztecus*. *Clin Exp Allergy*. Wiley/Blackwell (10.1111); abril de 2006;36(4):517–24.
31. El-Qutob D. Shrimp allergy: beyond avoidance diet. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. novembro de 2017;49(06):252.
32. Santos AB, Chapman MD, Aalberse RC, Vailes LD, Ferriani VP, Oliver C, et al. Cockroach allergens and asthma in Brazil: identification of tropomyosin as a major allergen with potential cross-reactivity with mite and shrimp allergens. *J Allergy Clin Immunol*. Elsevier; 1 de agosto de 1999;104(2 Pt 1):329–37.
33. Carrapatoso I. Cross-reactivity between foods of the same groups: review article. *Rev Port Imunoalergologia*. 2004;12:103113.
34. Ayuso R, Reese G, Leong-Kee S, Plante M, Lehrer SB. Molecular basis of arthropod cross-reactivity: IgE-binding cross-reactive epitopes of shrimp, house dust mite and cockroach tropomyosins. *Int Arch Allergy Immunol*. Karger Publishers; setembro de 2002;129(1):38–48.
35. Leung NYH, Wai CYY, Shu S, Wang J, Kenny TP, Chu KH, et al. Current Immunological and Molecular Biological Perspectives on Seafood Allergy: A Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. Springer US; 16 de junho de 2014;46(3):180–97.
36. Ravkov E V., Pavlov IY, Martins TB, Gleich GJ, Wagner LA, Hill HR, et al. Identification and validation of shrimp-tropomyosin specific CD4 T cell epitopes. *Hum Immunol*. Elsevier; 1 de dezembro de 2013;74(12):1542–9.
37. Fernandes J, Reshef A, Patton L, Ayuso R, Reese G, Lehrer SB. Immunoglobulin E antibody reactivity to the major shrimp allergen, tropomyosin, in unexposed Orthodox Jews. *Clin Exp Allergy*. julho de 2003;33(7):956–61.
38. Faber MA, Pascal M, Kharbouchi O El, Sabato V, Hagendorens MM, Decuyper II, et al. Shellfish allergens: tropomyosin and beyond. 2016;
39. Yu C-J, Lin Y-F, Chiang B-L, Chow L-P. Proteomics and immunological analysis of a novel shrimp allergen, Pen m 2. *J Immunol*. 1 de janeiro de 2003;170(1):445–53.

40. Ayuso R, Grishina G, Bardina L, Carrillo T, Blanco C, Ibáñez MD, et al. Myosin light chain is a novel shrimp allergen, Lit v 3. *J Allergy Clin Immunol.* Elsevier; 1 de outubro de 2008;122(4):795–802.
41. Ayuso R, Grishina G, Ibáñez MD, Blanco C, Carrillo T, Bencharitiwong R, et al. Sarcoplasmic calcium-binding protein is an EF-hand-type protein identified as a new shrimp allergen. *J Allergy Clin Immunol.* Elsevier; 1 de julho de 2009;124(1):114–20.
42. Giuffrida MG, Villalta D, Mistrello G, Amato S, Asero R. Shrimp allergy beyond Tropomyosin in Italy: clinical relevance of Arginine Kinase, Sarcoplasmic calcium binding protein and Hemocyanin. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* setembro de 2014;46(5):172–7.
43. Asero R, Mistrello G, Amato S, Ariano R, Colombo G, Conte ME, et al. Shrimp allergy in Italian adults: a multicenter study showing a high prevalence of sensitivity to novel high molecular weight allergens. *Int Arch Allergy Immunol.* Karger Publishers; 2012;157(1):3–10.
44. Pariyaprasert W, Piboonpocanun S, Jirapongsananuruk O, Visitsunthorn N. Stability and potency of raw and boiled shrimp extracts for skin prick test. *Asian Pacific J Allergy Immunol.* junho de 2015;33(2):136–42.
45. Jirapongsananuruk O, Sripramong C, Pacharn P, Udompunturak S, Chinratanapisit S, Piboonpocanun S, et al. Specific allergy to *Penaeus monodon* (seawater shrimp) or *Macrobrachium rosenbergii* (freshwater shrimp) in shrimp-allergic children. *Clin Exp Allergy.* Wiley/Blackwell (10.1111); junho de 2008;38(6):1038–47.
46. Sampson HA, Gerth van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Wesley Burks A, et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology-European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *Am Acad Allergy, Asthma Immunol.* 2012;130(6).
47. Wu AY, Williams GA. Clinical characteristics and pattern of skin test reactivities in shellfish allergy patients in Hong Kong. *Allergy asthma Proc.* 25(4):237–42.
48. Candiano G, Bruschi M, Musante L, Santucci L, Ghiggeri GM, Carnemolla B, et al. Blue silver: A very sensitive colloidal Coomassie G-250 staining for proteome analysis. *Electrophoresis.* maio de 2004;25(9):1327–33.

49. Mueller HL. Diagnosis and treatment of insect sensitivity. *J Asthma Res.* junho de 1966;3(4):331–3.
50. Abramovitch JB, Lopata AL, O’Hehir RE, Rolland JM. Effect of thermal processing on T cell reactivity of shellfish allergens - Discordance with IgE reactivity. *PLoS One. Public Library of Science*; 2017;12(3):e0173549.
51. Pascal M, Grishina G, Yang AC, Sánchez-García S, Lin J, Towle D, et al. Molecular Diagnosis of Shrimp Allergy: Efficiency of Several Allergens to Predict Clinical Reactivity. *J Allergy Clin Immunol Pract.* julho de 2015;3(4):521–529.e10.
52. Pongracic JA, Bock SA, Sicherer SH. Oral food challenge practices among allergists in the United States. *J Allergy Clin Immunol. Elsevier*; 1 de fevereiro de 2012;129(2):564–6.
53. Pettersson ME, Koppelman GH, Schins AMM, van Ginkel CD, Flokstra-de Blok BMJ, Kollen BJ, et al. Greater Severity of Peanut Challenge Reactions Using a High fat versus Low Fat Matrix Vehicle. *Clin Exp Allergy.* 16 de junho de 2018;
54. van Odijk J, Ahlstedt S, Bengtsson U, Borres MP, Hulthen L. Double-blind placebo-controlled challenges for peanut allergy the efficiency of blinding procedures and the allergenic activity of peanut availability in the recipes. *Allergy. Wiley/Blackwell* (10.1111); maio de 2005;60(5):602–5.
55. Gámez C, Zafra MP, Boquete M, Sanz V, Mazzeo C, Ibáñez MD, et al. New shrimp IgE-binding proteins involved in mite-seafood cross-reactivity. *Mol Nutr Food Res.* setembro de 2014;58(9):1915–25.
56. Yanagida N, Sato S, Nagakura K-I, Asaumi T, Ebisawa M. Oral food challenge using different target doses and time intervals between doses. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* junho de 2018;18(3):222–7.
57. Farioli L, Losappio LM, Giuffrida MG, Pravettoni V, Micarelli G, Nichelatti M, et al. Mite-Induced Asthma and IgE Levels to Shrimp, Mite, Tropomyosin, Arginine Kinase, and Der p 10 Are the Most Relevant Risk Factors for Challenge-Proven Shrimp Allergy. *Int Arch Allergy Immunol. Karger Publishers*; 2017;174(3–4):133–43.
58. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, et al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy. Wiley/Blackwell* (10.1111);

- agosto de 2014;69(8):1008–25.
59. Yanagida N, Minoura T, Kitaoka S. Allergic reactions to milk appear sooner than reactions to hen's eggs: a retrospective study. *World Allergy Organ J. World Allergy Organization*; 2016;9:12.
 60. Yanagida N, Imai T, Sato S, Ebisawa M. Do Longer Intervals between Challenges Reduce the Risk of Adverse Reactions in Oral Wheat Challenges? Hogan SP, organizador. *PLoS One. Public Library of Science*; 1 de dezembro de 2015;10(12):e0143717.
 61. Bird JA, Fleischer DM, Groetch M, Nowak-Węgrzyn A, Sicherer S, Young MC. Additional oral food challenge considerations. *J Allergy Clin Immunol. Elsevier*; 1 de junho de 2018;141(6):2322.
 62. Akuete K, Guffey D, Israelsen RB, Broyles JM, Higgins LJ, Green TD, et al. Multicenter prevalence of anaphylaxis in clinic-based oral food challenges. *Ann Allergy Asthma Immunol. Elsevier*; 1 de outubro de 2017;119(4):339–348.e1.
 63. Sampson HA, Ho DG. Relationship between food-specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol. outubro de 1997;100(4):444–51.*
 64. Cristofaro DM, Rizzini LF. Shrimp Allergy: Analysis of Commercially Available Extracts for In Vivo Diagnosis. *J Investig Allergol Clin Immunol. 2017;27(3):175–82.*
 65. Gamboa PM, Bartolomé B, García Lirio E, Cuesta-Herranz J, Pastor-Vargas C. Aldolase: A new Crustacea allergen. *Ann Allergy Asthma Immunol. Elsevier*; 2 de maio de 2018;0(0).

10. Apêndices

10.1. Apêndice 1 - Laudo ImmunoCAP ISAC paciente 16

Thermo SCIENTIFIC		ImmunoCAP® ISAC	
SAMPLE INFORMATION		PATIENT INFORMATION	
Sample ID:	AYE0727_2	Patient ID:	0001
Sampling date:	29.06.2016	Name:	Clívea Lopes
Approval status:	Measured	Birth date:	Age:
Print date:	29.06.2016	ID/MR#:	Gender:
Calibration curve:	CTR03 29/6/2016 AYE0727_1		
ORDERING PHYSICIAN INFORMATION			
Ordering physician:	Dra. Paula Rezende Meireles Dias		
Address:			
1. Summary of positive IgE results			
Outros componentes espécie-específicos			
Látex			
Látex	rHev b 5	Proteína ácida	1,1 ISU-E
	rHev b 6.01	Pro-heveína	0,7 ISU-E
ISAC Standardized Units (ISU-E)		Level	
< 0.3		Undetectable	
0.3 - 0.9		Low	
1 - 14.9		Moderate / High	
≥ 15		Very High	

SAMPLE INFORMATION		PATIENT INFORMATION	
Sample ID:	AYE0727_2	Patient ID:	0001
Sampling date:	29.06.2016	Name:	Clívea Lopes
Approval status:	Measured	Birth date:	Age:
Print date:	29.06.2016	ID/MR#:	Gender:
Calibration curve:	CTR03 29/6/2016 AYE0727_1		
ORDERING PHYSICIAN INFORMATION			
Ordering physician:	Dra. Paula Rezende Mellores Dias		
Address:			

2. IgE results sorted by protein group

Principais componentes alimentares (espécie-específicos)

Clara de ovo	nGal d 1	Ovomucóide	<0.3 ISU-E
	nGal d 2	Ovalbumina	<0.3 ISU-E
	nGal d 3	Conalbumina/Ovotransferrina	<0.3 ISU-E
Gema do ovo/carne de frango	nGal d 5	Livetina/Albumina sérica	<0.3 ISU-E
Leite, alfa-lactalbumina	nBos d 4	Alfa-lactalbumina	<0.3 ISU-E
Leite, beta-lactoglobulina	nBos d 5	Beta-lactoglobulina	<0.3 ISU-E
Leite, caseína	nBos d 8	Caseína	<0.3 ISU-E
Leite, lactoferrina	nBos d lactoferrin	Transferrina	<0.3 ISU-E
Bacalhau	rGad c 1	Parvalbumina	<0.3 ISU-E
Camarão	nPen m 2	Arginina quinase	<0.3 ISU-E
	nPen m 4	Proteína ligadora de cálcio sarcoplásmica	<0.3 ISU-E
Castanha de caju	rAna o 2	Globulina 11S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Castanha do Pará	rBer e 1	Albumina 2S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Avelã	nCor a 9	Globulina 11S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Nozes	rJug r 1	Albumina 2S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	nJug r 2	Globulina 7S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Gergelim	nSes i 1	Albumina 2S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Amendoim	rAra h 1	Globulina 7S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	rAra h 2	Conglutina, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	rAra h 3	Globulina 11S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	nAra h 6	Conglutinina, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Soja	nGly m 5	Beta-conglicina, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	nGly m 6	Glicinina, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Trigo negro	nFag e 2	Albumina 2S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Trigo	rTri a 19.0101	Ômega-5 gliadina	<0.3 ISU-E
	nTri a aA_TI	Alfa-amilase / Tripsina inibidor	<0.3 ISU-E
Kiwi	nAct d 1	Cisteína protease	<0.3 ISU-E
	nAct d 5	Kiwiina	<0.3 ISU-E

SAMPLE ID: **AYE0727_2**PATIENT ID: **0001**PATIENT NAME: **Clívea Lopes**

29.06.2016

Page 2 / 9

Principais componentes alimentares (espécie-específicos)

Parvalbumina é o alérgeno maior do peixe e marcador de reatividade cruzada entre as diferentes espécies.

Principais componentes aeroalérgenos (espécie-específicos)

Polens de gramíneas

Gramma rasteira	nCyn d 1	Gramíneas grupo 1	<0.3 ISU-E
Capim rabo de gato	rPhl p 1	Gramíneas grupo 1	<0.3 ISU-E
	rPhl p 2	Gramíneas grupo 2	<0.3 ISU-E
	nPhl p 4	Enzima de ligação berberina	<0.3 ISU-E
	rPhl p 5	Gramíneas grupo 5	<0.3 ISU-E
	rPhl p 6	Gramíneas grupo 6	<0.3 ISU-E
	rPhl p 11	Proteína Ole e 1 relacionada	<0.3 ISU-E

Polens de árvores

Bétula	rBet v 1	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Cedro japonês	nCry j 1	Pectase liase	<0.3 ISU-E
Cipreste	nCup a 1	Pectase liase	<0.3 ISU-E
Pólen de oliveira	rOle e 1	Oliveira comum grupo 5	<0.3 ISU-E
	rOle e 9	Beta-1,3-glucanase	<0.3 ISU-E
Plátano	rPla a 1	Inibidor putativo de invertase	<0.3 ISU-E
	nPla a 2	Poligalacturonase	<0.3 ISU-E

Ole e 1 é também um marcador para sensibilização a cinzas.

Polens de ervas daninhas

Erva de Santiago	nAmb a 1	Pectate liase	<0.3 ISU-E
Artemisia verdadeira	nArt v 1	Defensina	<0.3 ISU-E
Quenopódio	rChe a 1	Ole e 1-related protein	<0.3 ISU-E
Parietária	rPar j 2	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Plantago	rPla l 1	Proteína Ole e 1 relacionada	<0.3 ISU-E
Barrilheira	nSal k 1	Pectina metilesterase	<0.3 ISU-E

Animais

Cão	rCan f 1	Lipocalina	<0.3 ISU-E
	rCan f 2	Lipocalina	<0.3 ISU-E
	rCan f 5	Arginina esterase	<0.3 ISU-E
Cavalo	rEqu c 1	Lipocalina	<0.3 ISU-E
Gato	rFel d 1	Uteroglobina	<0.3 ISU-E
	rFel d 4	Lipocalina	<0.3 ISU-E
Camundongo	nMus m 1	Lipocalina	<0.3 ISU-E

Fungos

Alternaria alternata	rAlt a 1	Glicoproteína ácida	<0.3 ISU-E
	rAlt a 6	Enolase	<0.3 ISU-E
Aspergillus fumigatus	rAsp f 1	Família mitogilina	<0.3 ISU-E
	rAsp f 3	Proteína peroxissomal	<0.3 ISU-E
	rAsp f 6	Superóxido dismutase de magnésio	<0.3 ISU-E
Cladosporium herbarum	rCla h 8	Manitol desidrogenase	<0.3 ISU-E

Ácaros

B. tropicalis	rBlo t 5	Ácaros grupo 5	<0.3 ISU-E
D. farinae	nDer f 1	Cisteína protease	<0.3 ISU-E
	rDer f 2	Família NPC2	<0.3 ISU-E
D. pteronyssinus	nDer p 1	Cisteína protease	<0.3 ISU-E

Principais componentes aeroalérgenos (espécie-específicos)**Ácaros**

D. pteronyssinus	rDer p 2	Família NPC2	<0.3 ISU-E
L. destructor	rLep d 2	Família NPC2	<0.3 ISU-E

Baratas

Barata	rBla g 1	Barata grupo 1	<0.3 ISU-E
	rBla g 2	Protease aspártica	<0.3 ISU-E
	rBla g 5	S-transferase glutationa	<0.3 ISU-E

Outros componentes espécie-específicos**Venenos**

Veneno de abelha	rApi m 1	Fosfolipase A2	<0.3 ISU-E
	nApi m 4	Melitina	<0.3 ISU-E
Vespa do papel	rPol d 5	Antígeno 5	<0.3 ISU-E
Vespa comum européia	rVes v 5	Antígeno 5	<0.3 ISU-E

ImmunoCAP ISAC não deve ser utilizado para confirmar suspeita de alergia a veneno de insetos. Para esta finalidade, recomenda-se a utilização dos componentes de alérgenos e extrato bruto ImmunoCAP. Os componentes contendo veneno de insetos no ImmunoCAP ISAC são livres de CCD. É recomendada investigação adicional em caso de testes positivos neste perfil.

Parasitas

Anisakis	rAni s 1	Inibidor de protease serina	<0.3 ISU-E
----------	----------	-----------------------------	------------

Látex

Látex	rHev b 1	Fator de alongamento da borracha	<0.3 ISU-E
	rHev b 3	Fator de alongamento da borracha - símile	<0.3 ISU-E
	rHev b 5	Proteína ácida	1,1 ISU-E
	rHev b 6.01	Pro-heveína	0,7 ISU-E

Componentes de reação cruzada**Albumina sérica**

Leite de vaca, carne	nBos d 6	Albumina sérica	<0.3 ISU-E
Cão	nCan f 3	Albumina sérica	<0.3 ISU-E
Cavalo	nEqu c 3	Albumina sérica	<0.3 ISU-E
Gato	nFel d 2	Albumina sérica	<0.3 ISU-E

Proteína presente em grandes quantidades em tecidos animais, por ex., sangue, leite, carne (ex. vaca, galinha) e ovos. Reatividade cruzada entre albuminas de diferentes espécies animais são conhecidas, por exemplo entre o gato/cão e gato/porco.

Tropomiosina

Anisakis	rAni s 3	Tropomiosina	<0.3 ISU-E
Barata	nBla g 7	Tropomiosina	<0.3 ISU-E
D. pteronyssinus	rDer p 10	Tropomiosina	<0.3 ISU-E
Camarão	nPen m 1	Tropomiosina	<0.3 ISU-E

Proteína de ligação da actina nas fibras musculares. Marcador de reatividade cruzada entre crustáceos, ácaros e barata.

Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)

Amendoim	rAra h 9	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Avelã	rCor a 8	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Nozes	nJug r 3	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Pêssego	rPru p 3	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Trigo	rTri a 14	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Artemísia verdadeira	nArt v 3	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E

SAMPLE ID: AYE0727_2

PATIENT ID: 0001

PATIENT NAME: Clívea Lopes

29.06.2016

Page 4 / 9

Componentes de reação cruzada**Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)**

Polen de oliveira	nOle e 7	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Plátano	rPla a 3	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E

Proteína termoestável e resistente à digestão causadora de reações também a alimentos cozidos. Frequentemente associada a reações sistêmicas severas acompanhando a SAO. Muitas vezes associada a reações alérgicas a frutas e vegetais.

Proteína PR-10

Bétula	rBet v 1	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Amieiro	rAln g 1	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Pólen de avelã	rCor a 1.0101	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Avelã	rCor a 1.0401	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Maçã	rMal d 1	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Pêssego	rPru p 1	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Soja	rGly m 4	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Amendoim	rAra h 8	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Kiwi	rAct d 8	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Aipo	rApi g 1	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E

A bétula e os polens de árvores afins são considerados a principal causa de sensibilização e frequentemente responsáveis por sintomas respiratórios. A presença de proteínas PR-10, em muitos dos alimentos de origem vegetal são, devido à sua reatividade cruzada, os responsáveis por esses sintomas. Muitas destas proteínas são termolábéis e os alimentos cozidos são tolerados na sua maioria.

Proteína relacionada a taumatina

Kiwi	nAct d 2	Proteína relacionada a taumatina	<0.3 ISU-E
------	----------	----------------------------------	------------

Act d 2 é frequentemente encontrada em polens, frutas (ex: maçã e uva), fungos (*Alternaria*), ácaros e insetos. Pode causar aumento da reação cruzada entre outras proteínas taumatina relacionadas.

Profilina

Bétula	rBet v 2	Profilina	<0.3 ISU-E
Látex	rHev b 8	Profilina	<0.3 ISU-E
Dedaleira	rMer a 1	Profilina	<0.3 ISU-E
Capim rabo de gato	rPhl p 12	Profilina	<0.3 ISU-E

As profilinas possuem elevada homologia e reatividade cruzada entre plantas de espécies relacionadas. Raramente associadas a sintomas clínicos, podem causar reações severas na minoria de pacientes alérgicos a frutas cítricas, melão, banana, lichia e tomate.

CCD

CCD	nMUXF3	CCD	<0.3 ISU-E
-----	--------	-----	------------

O marcador de reatividade cruzada a determinantes de carboidratos (CCD) está raramente associado a reações alérgicas, entretanto, pode produzir resultados positivos para alérgenos que contêm CCD como polens, alimentos vegetais, insetos e seus venenos.

Polcalcina (Proteína ligadora de cálcio 2-EF hand)

Bétula	rBet v 4	Polcalcina	<0.3 ISU-E
Capim rabo de gato	rPhl p 7	Polcalcina	<0.3 ISU-E

Componentes de reação cruzada**Polcalcina (Proteína ligadora de cálcio 2-EF hand)**

Marcador de reatividade cruzada entre polens.

ISAC Standardized Units (ISU-E)

< 0.3

0.3 - 0.9

1 - 14.9

≥ 15

Level

Undetectable

Low

Moderate / High

Very High

SAMPLE INFORMATION		PATIENT INFORMATION	
Sample ID:	AYE0727_2	Patient ID:	0001
Sampling date:	29.06.2016	Name:	Clívea Lopes
Approval status:	Measured	Birth date:	Age:
Print date:	29.06.2016	ID/MR#:	Gender:
Calibration curve:	CTR03 29/6/2016 AYE0727_1		
ORDERING PHYSICIAN INFORMATION			
Ordering physician:	Dra. Paula Rezende Meireles Dias		
Address:			

3. IgE results sorted by allergen source

Alérgenos alimentares			
Clara de ovo	nGal d 1	Ovomucóide	<0.3 ISU-E
	nGal d 2	Ovalbumina	<0.3 ISU-E
	nGal d 3	Conalbumina/Ovotransferrina	<0.3 ISU-E
Gema do ovo/carne de frango	nGal d 5	Livetina/Albumina sérica	<0.3 ISU-E
Leite, alfa-lactalbumina	nBos d 4	Alfa-lactalbumina	<0.3 ISU-E
Leite, beta-lactoglobulina	nBos d 5	Beta-lactoglobulina	<0.3 ISU-E
Leite de vaca, carne	nBos d 6	Albumina sérica	<0.3 ISU-E
Leite, caseína	nBos d 8	Caseína	<0.3 ISU-E
Leite, lactoferrina	nBos d lactoferrin	Transferrina	<0.3 ISU-E
Bacalhau	rGad c 1	Parvalbumina	<0.3 ISU-E
Camarão	nPen m 1	Tropomiosina	<0.3 ISU-E
	nPen m 2	Arginina quinase	<0.3 ISU-E
	nPen m 4	Proteína ligadora de cálcio sarcoplásmica	<0.3 ISU-E
Castanha de caju	rAna o 2	Globulina 11S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Castanha do Pará	rBer e 1	Albumina 2S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Avelã	rCor a 1.0401	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
	rCor a 8	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
	nCor a 9	Globulina 11S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Nozes	rJug r 1	Albumina 2S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	nJug r 2	Globulina 7S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	nJug r 3	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Gergelim	nSes i 1	Albumina 2S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Amendoim	rAra h 1	Globulina 7S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	rAra h 2	Conglutina, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	rAra h 3	Globulina 11S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	nAra h 6	Conglutina, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	rAra h 8	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
	rAra h 9	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E

SAMPLE ID: **AYE0727_2**PATIENT ID: **0001**PATIENT NAME: **Clívea Lopes**

29.06.2016

Page 7 / 9

Alérgenos alimentares

Soja	rGly m 4	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
	nGly m 5	Beta-conglicina, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
	nGly m 6	Glicina, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Trigo negro	nFag e 2	Albumina 2S, proteína de estocagem	<0.3 ISU-E
Trigo	rTri a 14	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
	rTri a 19.0101	Ómega-5 gliadina	<0.3 ISU-E
	nTri a aA_TI	Alfa-amilase / Tripsina inibidor	<0.3 ISU-E
Kiwi	nAct d 1	Cisteína protease	<0.3 ISU-E
	nAct d 2	Proteína relacionada a taumatina	<0.3 ISU-E
	nAct d 5	Kiwilina	<0.3 ISU-E
	rAct d 8	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Maçã	rMal d 1	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Pêssego	rPru p 1	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
	rPru p 3	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Aipo	rApi g 1	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E

Aeroalérgenos

Gramma rasteira	nCyn d 1	Gramíneas grupo 1	<0.3 ISU-E
Capim rabo de gato	rPhl p 1	Gramíneas grupo 1	<0.3 ISU-E
	rPhl p 2	Gramíneas grupo 2	<0.3 ISU-E
	nPhl p 4	Enzima de ligação berberina	<0.3 ISU-E
	rPhl p 5	Gramíneas grupo 5	<0.3 ISU-E
	rPhl p 6	Gramíneas grupo 6	<0.3 ISU-E
	rPhl p 7	Polcalcina	<0.3 ISU-E
	rPhl p 11	Proteína Ole e 1 relacionada	<0.3 ISU-E
	rPhl p 12	Profilina	<0.3 ISU-E
Amieiro	rAln g 1	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Bétula	rBet v 1	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
	rBet v 2	Profilina	<0.3 ISU-E
	rBet v 4	Polcalcina	<0.3 ISU-E
Pólen de avelã	rCor a 1.0101	Proteína PR-10	<0.3 ISU-E
Cedro japonês	nCry j 1	Pectase liase	<0.3 ISU-E
Cipreste	nCup a 1	Pectase liase	<0.3 ISU-E
Pólen de oliveira	rOle e 1	Oliveira comum grupo 5	<0.3 ISU-E
	nOle e 7	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
	rOle e 9	Beta-1,3-glucanase	<0.3 ISU-E
Plátano	rPla a 1	Inibidor putativo de invertase	<0.3 ISU-E
	nPla a 2	Poligalacturonase	<0.3 ISU-E
	rPla a 3	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Erva de Santiago	nAmb a 1	Pectate liase	<0.3 ISU-E
Artemísia verdadeira	nArt v 1	Defensina	<0.3 ISU-E
	nArt v 3	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Quenopódio	rChe a 1	Ole e 1-related protein	<0.3 ISU-E
Dedaleira	rMer a 1	Profilina	<0.3 ISU-E
Parietária	rPar j 2	Proteína transportadora de lipídios (nsLTP)	<0.3 ISU-E
Plantago	rPla l 1	Proteína Ole e 1 relacionada	<0.3 ISU-E
Barrilheira	nSal k 1	Pectina metilesterase	<0.3 ISU-E

SAMPLE ID: AYE0727_2

PATIENT ID: 0001

PATIENT NAME: Clívea Lopes

29.06.2016

Page 8 / 9

Aeroalérgenos

Cão	rCan f 1	Lipocalina	<0.3 ISU-E
	rCan f 2	Lipocalina	<0.3 ISU-E
	nCan f 3	Albumina sérica	<0.3 ISU-E
	rCan f 5	Arginina esterase	<0.3 ISU-E
Cavalo	rEqu c 1	Lipocalina	<0.3 ISU-E
	nEqu c 3	Albumina sérica	<0.3 ISU-E
Gato	rFel d 1	Uteroglobina	<0.3 ISU-E
	nFel d 2	Albumina sérica	<0.3 ISU-E
	rFel d 4	Lipocalina	<0.3 ISU-E
Camundongo	nMus m 1	Lipocalina	<0.3 ISU-E
Alternaria alternata	rAlt a 1	Glicoproteína ácida	<0.3 ISU-E
	rAlt a 6	Enolase	<0.3 ISU-E
Aspergillus fumigatus	rAsp f 1	Família mitogilina	<0.3 ISU-E
	rAsp f 3	Proteína peroxissomal	<0.3 ISU-E
	rAsp f 6	Superóxido dismutase de magnésio	<0.3 ISU-E
Cladosporium herbarum	rCla h 8	Manitol desidrogenase	<0.3 ISU-E
B. tropicalis	rBlo t 5	Ácaros grupo 5	<0.3 ISU-E
D. farinae	nDer f 1	Cisteína protease	<0.3 ISU-E
	rDer f 2	Família NPC2	<0.3 ISU-E
D. pteronyssinus	nDer p 1	Cisteína protease	<0.3 ISU-E
	rDer p 2	Família NPC2	<0.3 ISU-E
	rDer p 10	Tropomiosina	<0.3 ISU-E
L. destructor	rLep d 2	Família NPC2	<0.3 ISU-E
Barata	rBla g 1	Barata grupo 1	<0.3 ISU-E
	rBla g 2	Protease aspártica	<0.3 ISU-E
	rBla g 5	S-transferase glutationa	<0.3 ISU-E
	nBla g 7	Tropomiosina	<0.3 ISU-E

Outras

Veneno de abelha	rApi m 1	Fosfolipase A2	<0.3 ISU-E
	nApi m 4	Melitina	<0.3 ISU-E
Vespa do papel	rPol d 5	Antígeno 5	<0.3 ISU-E
Vespa comum européia	rVes v 5	Antígeno 5	<0.3 ISU-E
Anisakis	rAni s 1	Inibidor de protease serina	<0.3 ISU-E
	rAni s 3	Tropomiosina	<0.3 ISU-E
Látex	rHev b 1	Fator de alongamento da borracha	<0.3 ISU-E
	rHev b 3	Fator de alongamento da borracha - símile	<0.3 ISU-E
	rHev b 5	Proteína ácida	1,1 ISU-E
	rHev b 6.01	Pro-heveína	0,7 ISU-E
	rHev b 8	Profilina	<0.3 ISU-E
CCD	nMUXF3	CCD	<0.3 ISU-E

ISAC Standardized Units (ISU-E)

< 0.3
0.3 - 0.9
1 - 14.9
≥ 15

Level

Undetectable
Low
Moderate / High
Very High

10.2. Apêndice 2 – Aprovação ética do estudo

APROVAÇÃO

O Coordenador da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0351/10**, intitulado: "**VALOR DA DETERMINAÇÃO DE IGE ESPECÍFICA PARA TROPOMIOSINA NO DIAGNÓSTICO DA ALERGIA A CAMARÃO**" apresentado pelo Departamento de **CLÍNICA MÉDICA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Fabio Fernandes Morato Castro**

Pesquisador (a) Executante: **Paula Rezende Meireles**

CAPPesq, 06 de Julho de 2011

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo - SP Fone: 011 3069 6442 Fax: 011 3069 6492
e-mail: cappesq@hcnet.usp.br

10.3. Apêndice 3 – TCLE do estudo

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE
CEP: TELEFONE: DDD (.....)
.....

2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO.:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD
(.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA : Determinação da IgE específica para tropomiosina no diagnóstico da alergia a camarão
2. PESQUISADOR : Paula Rezende Meireles
CARGO/FUNÇÃO: Médica pós-graduanda do Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 131254
UNIDADE DO HCFMUSP: Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	□	RISCO MÉDIO	x
RISCO BAIXO		RISCO MAIOR	

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : 3 anos

1 – Desenho do estudo e objetivo(s)

*A asma alérgica é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas. Os sintomas mais comuns são falta de ar, chiado, tosse e dor no peito. Os causadores mais frequente dessa doença alérgica são os ácaros. Os dois tipos mais comum de ácaros são o *Dermatophagoides pteronyssinus* e a *Blomia Tropicalis*. Grande parte dos pacientes podem ter teste de alergia positivos para os dois ácaros. Alguns têm sintomas alérgicos em contato com os dois ácaros, enquanto outros, mesmo com o teste positivo para os dois, só têm reação com um deles, Uma das maneiras de saber qual é o ácaro principal responsável pela alergia é fazer um teste pulmonar no qual o ácaro é inalado. Isso é importante para saber o responsável pela alergia e poder escolher um tratamento direcionado ao causador dos sintomas respiratórios.*

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros

Serão realizados os seguintes testes e procedimentos:

- **Teste de alergia na pele para identificar se o paciente é sensível a camarão aos ácaros e baratas**
- **Coleta de sangue (30 ml) para avaliar alergia a camarão, ácaros e baratas no laboratório**
- **Teste de provocação oral duplo cego placebo controlado**

do pulmão com ácaros, para ver qual o ácaro é responsável pela alergia. Nesse teste, que é chamado de broncoprovocação, serão realizadas inalações seguidas que são feitas com o próprio ácaro, em quantidades crescentes, seguidas de expiração forçada. Cada paciente reage com uma quantidade diferente, por isso o exame é feito em etapas, começando com uma pequena quantidade. Quando houver a reação alérgica, a força da expiração ficará diminuída. Quando tiver essa queda, o exame é finalizado, e se saberá que o exame é positivo para aquele ácaro. Para realizar esse

teste o paciente deverá ficar em observação por 24 horas no hospital, na enfermaria que será realizada a broncoprovocação, para avaliar reação na hora do teste ou mais tarde.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados

- Teste de alergia na pele: serão colocadas gotas de extrato de ácaros, baratas e camarão, e ainda camarão cru e cozido na parte interna do braço, e com uma pequena agulha perfuramos para a substância entrar em contato com a pele. Após 15 minutos, avalia-se o resultado. Se positivo, você sentirá coceira e uma elevação avermelhada aparecerá no local do teste.

- Coleta de sangue: será realizada com agulha e seringa, em veia da parte interna do braço.

-Teste de provocação oral duplo cego placebo controlado: *o paciente ficará sentado dentro de uma cabine, que fica na enfermaria do hospital, e em intervalos de tempo realizará inalações de extrato de ácaros em diluições diferentes. Depois de cada intervalo das inalações deverá realizar a medida do volume pulmonar que expira no primeiro segundo. Para realização desse teste, o técnico e o médico estarão na sala junto com o paciente.*

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3

- Teste de alergia na pele: leve desconforto e coceira no local, que geralmente é passageira.

- Coleta de sangue: desconforto do furo da agulha, e em alguns casos pode ocorrer inchaço, dor, e às vezes pequena mancha arroxeadada no local da picada.

- Teste de provocação oral duplo cego placebo controlado: Este é o teste confirmatório de alergia alimentar. Se você tiver alergia a camarão poderá desenvolver sintomas alérgicos que variam em gravidade, de uma pessoa para outra: desde coceira pelo corpo até tosse, falta de ar, vômitos e raramente choque anafilático. Como o médico estará presente supervisionando o teste, você logo será tratado de acordo com a gravidade da reação. Isso será feito através do uso de medicações e cuidados que forem necessários. Como permanecerá em observação hospitalar, se apresentar algum sintoma tardio,

será prontamente avaliado pelo médico de plantão, e medicado conforme a prescrição pela equipe de enfermagem e liberado com segurança.

5 – Benefícios para o participante

Participando do projeto, você terá a chance de confirmar o diagnóstico de alergia a camarão e receberá as orientações de como evitar o contato e como tratar reações acidentais.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar.

Não há procedimento alternativo vantajoso que permita o diagnóstico definitivo.

7 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

O principal investigador é a Dra. Paula Rezende Meireles, que pode ser encontrada no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155. 8 andar. Prédio dos Ambulatórios – Secretaria de Imunologia e Alergia Telefone 3069-6098 ou 3069-6225. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

09 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer

despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

12 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Determinação da IgE específica para tropomiosina no diagnóstico da alergia a camarão”.

Eu discuti com a Dra. Paula Rezende Meireles sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Data ____ / ____ / ____

Assinatura do paciente/representante
legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Assinatura da testemunha para casos de pacientes menores de 18 anos,
analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo **Data** / /