



**FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ
UNIVERSIDADE DE FORTALEZA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

**FATORES ASSOCIADOS AO TESTE DE PROVOCAÇÃO ORAL
EM PACIENTES PORTADORES DE ALERGIA A PROTEÍNA DO
LEITE DE VACA NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA, CEARÁ**

LIA MARIA BASTOS PEIXOTO LEITÃO

**FORTALEZA-CE
2020**

LIA MARIA BASTOS PEIXOTO LEITÃO

**FATORES ASSOCIADOS AO TESTE DE PROVOCAÇÃO
ORAL EM PACIENTES PORTADORES DE ALERGIA A
PROTEÍNA DO LEITE DE VACA NO MUNICÍPIO DE
FORTALEZA, CEARÁ**

Dissertação apresentada para
defesa da Dissertação de
Mestrado do Programa de Pós-
Graduação em Ciências
Médicas da Universidade de
Fortaleza (UNIFOR).

Orientadora: Profa. Dra. Olivia Andréa Alencar Costa Bessa

Fortaleza–CE
2020

Ficha catalográfica da obra elaborada pelo autor através do programa de geração automática da Biblioteca Central da Universidade de Fortaleza

Leitão, Lia Maria Bastos Peixoto.

Fatores associados ao teste de provocação oral em pacientes portadores de alergia a proteína do leite de vaca no município de Fortaleza, Ceará / Lia Maria Bastos Peixoto Leitão. - 2020
68 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade de Fortaleza. Programa de Mestrado Em Ciências Médicas, Fortaleza, 2020.

Orientação: Olívia Andrea Alencar Costa Bessa.

1. Hipersensibilidade ao leite. 2. Hipersensibilidade imediata. 3. Criança. I. Bessa, Olívia Andrea Alencar Costa. II. Título.

LIA MARIA BASTOS PEIXOTO LEITÃO

FATORES ASSOCIADOS AO TESTE DE PROVOCAÇÃO ORAL EM PACIENTES
PORTADORES DE ALERGIA A PROTEÍNA DO LEITE DE VACA NO MUNICÍPIO DE
FORTALEZA, CEARÁ

Área de Concentração: Ciências Médicas

Linha de Pesquisa: Estudos Clínicos em Ciências Médicas

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Olivia Andréa Alencar Costa Bessa
Orientadora – Universidade de Fortaleza

Profa. Dra. Hildênia Baltasar Ribeiro
Membro Efetivo – Universidade de Fortaleza

Profa. Dra. Clarice Maria Araújo Chagas Vergara
Membro Efetivo – Universidade Estadual do Ceará

Aprovado em 28/02/2020

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Edilia, médica e mãe devotada, por ensinar a importância do estudo, do trabalho e da perseverança.

Agradeço a minha família, em especial, Joyce, Elia e Walmir, pelo apoio nos momentos difíceis e por serem a força que me impulsionou até o final.

A meu companheiro Ito Liberato, pela sua infinita paciência, carinho e apoio, me trazendo paz no dia a dia.

Aos meus amigos, que sempre me foram pontos importantes de apoio, estímulo e solidariedade durante a minha empreitada.

Aos meus parceiros de trabalho, Paula e Manoel, pelo suporte e pela generosidade em disponibilizar o seu tempo para me ajudar durante todo o processo de coleta e processamento de dados.

Meu sincero agradecimento às preceptoras médicas alergologistas do ambulatório de Alergia do Hospital Infantil Albert Sabin, Dra. Monizi Campelo, Dra. Paula Albuquerque, Dra. Kaila Barroso, Dra. Fabiane Pimenta e Dra. Patrícia Barros do ambulatório de alergologia do Núcleo de Atenção Médica Integrada (NAMI) da Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Dra Fabiane Pomiecinski, pela disponibilidade, expertise e gentileza em partilhar seus conhecimentos valiosos para a conclusão deste trabalho.

A minha coorientadora Dra. Janáira Fernandes, por ter me sugerido este projeto, por todo conhecimento transmitido e pelo enorme entusiasmo que me contagiou e impulsionou em todos os momentos.

Especialmente, eterna gratidão a minha orientadora Prof. Dra. Olivia Bessa, pela paciência, tranquilidade, carinho, motivação e ensinamentos científicos e educacionais, elementos que levaram a conquistasse essa maestria.

“Assumir o risco de pesquisar e estudar para obter conhecimento é como ter coragem de abrir uma janela fechada sem saber que paisagem aparecerá.” Ivenio Hermes

RESUMO

Objetivos: Avaliar o perfil sociodemográfico e clínico-laboratorial de crianças com alergia a proteína do leite de vaca (APLV) submetidas ao teste de provocação oral (TPO). **Materiais e Métodos:** Estudo transversal, no ambulatório de alergia do Hospital Infantil Albert Sabin, localizado no Município de Fortaleza - Ceará. A coleta dos dados realizada no período de outubro de 2018 a setembro de 2019, via questionário. A amostra foi selecionada por conveniência, com um total de 82 crianças com o diagnóstico de APLV IgE mediada, não mediada ou mista, sendo avaliada quanto ao desfecho do TPO. **Resultados:** As comorbidades alérgicas mais citadas foi a respiratória nos três tipos de APLV. Observamos uma correlação significativa ($p=0.031$) entre o grupo de pacientes APLV TPO não tolerantes e o uso de fórmula em domicílio ($p=0.033$). Para os pacientes APLV IgE não mediada foi identificada uma correlação significativa no item "uso de fórmula com <1 mês" ($p<0.001$) e "entre 1 a 4 meses" ($p<0.001$). Entre os pacientes APLV IgE mediada, TPO não tolerante e tolerante, há predomínio de casos de pacientes com alergia familiar tipo respiratória e alimentar ($p=0.025$). No grupo dos APLV IgE mediada TPO não tolerante, observou-se menor probabilidade de valores de IgE ≤ 10 para alfa lactoalbumina ($p=0.003$); beta lactoalbumina ($p=0.003$) e caseína ($p=0.005$). O grupo de pacientes com APLV IgE mediada TPO tolerante possui maior probabilidade de ter IgE ≤ 10 para alfa lactoalbumina ($p=0.003$); beta lactoalbumina ($p=0.003$) e caseína ($p=0.005$). **Conclusões:** A APLV tem sido um problema relevante na faixa etária pediátrica nas últimas décadas. Encontramos diferentes frequências dos fatores de risco e proteção para a APLV em nossa amostra em todos os tipos clínicos, algumas semelhantes e outras discrepantes em relação à literatura atual. Pacientes APLV IgE não mediada se correlacionaram significativamente com o uso de fórmula infantil em faixas etárias abaixo de 6 meses e que o uso da fórmula no domicílio aumentou em torno de cinco vezes a chance de não tolerância à PLV. Observamos também uma maior chance de tolerância em pacientes com valores de IgE entre 0,1 e 10 KUA/L.

Palavras-chave: Hipersensibilidade a leite; 2. Hipersensibilidade imediata; 3. Criança;

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the sociodemographic and clinical-laboratory profile of children with allergy to cow's milk protein (CMA) submitted to the oral food challenge (OFC). **Materials and Methods:** Cross-sectional study, at the allergy outpatient clinic of Hospital Infantil Albert Sabin, located in the city of Fortaleza - Ceará. Data collection carried out from October 2018 to September 2019, via questionnaire. The sample was selected for convenience, with a total of 82 children diagnosed with IgE-mediated, non-IgE mediated or mixed CMA, being assessed for the outcome of the OFC. **Results:** The most cited allergic comorbidities were respiratory in the three types of CMA. We observed a significant correlation ($p = 0.031$) between the group of OFC Non-Tolerant CMA patients and the use of formula at home ($p = 0.033$). For CMA IgE non-mediated patients, a significant correlation was identified in the item "formula use with <1 month" ($p < 0.001$) and "between 1 to 4 months" ($p < 0.001$). Among IgE Mediated CMA patients, OFC non-tolerant and tolerant patients, there is a predominance of patients with familial respiratory and food allergy ($p = 0.025$). In the group of IgE mediated CMA OFC non-tolerant, a lower probability of IgE values ≤ 10 was observed for alfa-lactoalbumin ($p = 0.003$); beta-lactalbumin ($p = 0.003$) and casein ($p = 0.005$). The group of patients with IgE-mediated CMA OFC tolerant is more likely to have IgE ≤ 10 for alfa-lactoalbumin ($p = 0.003$); beta-lactalbumin ($p = 0.003$) and casein ($p = 0.005$). **Conclusions:** CMA has been a relevant problem in the pediatric age group in recent decades. We found different frequencies of risk and protective factors for CMA in our sample in all clinical types, some similar and others discrepant from the current literature. Non-mediated IgE CMA patients correlated significantly with the use of infant formula in age groups below 6 months and that the use of the formula at home increased the chance of non-tolerance to cow's milk protein by five times. We also observed a greater chance of tolerance in patients with IgE values between 0.1 and 10 KUA/L.

Keywords: Hypersensitivity to milk; 2. immediate hypersensitivity; 3. child;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma da seleção da amostra base	32
---	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Principais manifestações clínicas da APLV de acordo com o mecanismo imunológico	pag 17
Quadro 2. Fatores influenciadores da APLV.....	pag 24
Quadro 3. Indicações de TPO.....	pag 26

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Carta de aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisapág 67

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	pág 63
Apêndice 2. Termo de Assentimento (TA).....	pág 64
Apêndice 3. Questionário	pág 65

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AAAI - Academia Americana de Alergia, Asma e Imunologia

aC – antes de Cristo

APLV - proteína do leite de vaca

Breg - Células B regulatórias

CAAE - Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CD – Células dendríticas

CDC - Centers for Disease Control and Prevention

DRACMA - Diagnostic and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy

EAACI - Academia Européia de Alergia e Imunologia Clínica

ESPGHAN - European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition

EUA - Estados Unidos da América

FPIES - Síndrome da enterocolite induzida por proteína alimentar

FPIPS - Síndrome da proctocolite induzida por proteína alimentar

GALT - *Gut-associated lymphoid tissue*

HIAS - Hospital Infantil Albert Sabin

IC - Intervalo de confiança

IgE – Imunoglobulina E

IL - Interleucina

KUA/L - Kilo unidade alérgica por litro

LV - Leite de vaca

MALT - *Mucosa-associated lymphoid tissue*

Mm – Milímetro

ml – Mililitro

NIAID - National Institute of Allergy and Infectious Diseases

Nº - Número

OR - *odds ratio*

PLV - proteínas do leite de vaca

SESA - Secretaria de Saúde do Estado do Ceará

TA - Termo de Assentimento

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TGF – *Transforming growth factor*

TGI – Trato Gastrointestinal

Th – Linfócitos *T helper*

TPO - Teste de Provocação Oral

Treg – Células T regulatórias

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 ALERGIA ALIMENTAR	14
1.1.1 Epidemiologia da alergia alimentar	14
1.2 A ALERGIA À PROTEÍNA DO LEITE DE VACA	15
1.2.1 Epidemiologia da APLV	15
1.2.2 Mecanismos imunológicos e manifestações clínicas	16
1.2.2.1 Quadro Clínico.....	16
1.2.2.2 Mecanismos fisiopatológicos e a Microbiota.....	18
1.2.2.3 O processo de desenvolvimento de tolerância oral.....	19
1.2.2.4 Caracterização dos alérgenos do leite de vaca.....	20
1.2.2.5 Alergenicidade e o processamento dos alimentos.....	21
1.2.3 Fatores relacionados à APLV	22
1.2.4 O curso natural da APLV	24
1.2.5 Diagnóstico	24
1.3 O TESTE DE PROVOCAÇÃO ORAL.....	25
1.3.1 A correlação entre o desfecho do TPO e fatores clínicos e laboratoriais	27
2 JUSTIFICATIVA	28
3 OBJETIVOS.....	29
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
4 METODOLOGIA.....	30
4.1 TIPO DE ESTUDO.....	30
4.2 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO.....	30
4.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	30
4.3.1 Critérios de inclusão	31
4.3.2 Critérios de exclusão	31
4.4 COLETA DE DADOS.....	31
4.5 ANÁLISE DE DADOS.....	33
4.6 ASPECTOS ÉTICOS.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
ARTIGO 1	39
INTRODUÇÃO.....	41
MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
RESULTADOS	42

DISCUSSÃO	47
CONCLUSÃO.....	48
BIBLIOGRAFIA.....	49
ARTIGO 2	51
INTRODUÇÃO.....	53
MÉTODOS.....	54
RESULTADOS	55
DISCUSSÃO	58
CONCLUSÃO.....	59
BIBLIOGRAFIA	60
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
APÊNDICE 1.....	63
APÊNDICE 2.....	64
APÊNDICE 3.....	65
ANEXO 1.....	67

1 INTRODUÇÃO

1.1 ALERGIA ALIMENTAR

Reação adversa a alimentos é uma resposta clínica anormal após a ingestão, contato ou inalação de alimentos, seus derivados ou aditivos. Pode ser dividida em reações imunomediadas, ou seja, mediadas por imunoglobulinas (Ig) como a alergia alimentar (AA) e a doença celíaca e em reações não-imunomediadas, tendo como exemplo a intolerância alimentar, que pode ser causada por mecanismos metabólicos, tóxicos e farmacológicos (ANDREA MARIÑO, 2018; SICHERER; SAMPSON, 2014; SOLÉ et al., 2012).

A alergia alimentar (AA) é definida pelo *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (NIAID) como uma reação adversa que ocorre a partir da exposição a proteínas de um alimento, ocasionando uma resposta imune específica e reprodutível quando sob novas exposições (NIAID, 2010).

1.1.1 Epidemiologia da alergia alimentar

A prevalência e incidência da AA tem aumentado exponencialmente nos últimos anos, já sendo considerada um problema de saúde pública em vários países (ANDREA MARIÑO, 2018). Dados de uma pesquisa nacional nos Estados Unidos da América realizada em 2013 pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) apontam que a prevalência de alergia alimentar aumentou de 3,7% no período de 1997-1999 para 5,1% entre 2009 e 2011 em pacientes de 0 a 17 anos (SICHERER; SAMPSON, 2014). Entre a população adulta e pediátrica a prevalência difere a depender da população estudada, dos tipos de dados coletados, forma de coleta e critérios diagnósticos, ficando em 6% em menores de três anos e 3,5% em adultos (SOLÉ et al., 2018a).

Uma metanálise de artigos sobre AA publicados de janeiro de 1990 a dezembro de 2005, mostrou uma prevalência baseada em autorrelatos variando de 1,2% a 17%, em teste cutâneos de 0,2% a 2,5% e em dosagens de imunoglobulina (Ig) tipo E de 2% a 9%, usando os pontos de corte de diâmetro de pápula ao teste cutâneo ≥ 3 mm ou níveis de IgE $\geq 0,35$ kU/L (FLOM; SICHERER, 2019).

Observa-se uma variação natural da ocorrência da doença ao longo da vida, com mudanças na prevalência dos alérgenos alimentares mais comuns entre adultos e crianças. Em alguns estudos a prevalência da alergia confirmada por exames laboratoriais é dez vezes menor que os casos referidos por pais e pacientes, dificultando de diferenciação

entre reações adversas gerais e alergias verdadeiras (BOYCE et al., 2010; ORHAN et al., 2009; SILVA et al., 2008). Os principais alimentos envolvidos na alergia alimentar atualmente são: leite, ovo, soja, trigo, amendoim, nozes, peixes e mariscos (ANDREA MARIÑO, 2018; ROXO-JUNIOR; DEL CIAMPO, 2009).

No Brasil há poucos estudos de base populacional sobre a AA, geralmente limitados a grupos regionais (SOLÉ et al., 2018a). Em um estudo de Silva e colaboradores para avaliar a prevalência de AA entre adultos brasileiros (18 a 65 anos de idade) após a utilização de um protocolo europeu, observou-se uma grande diferença entre a taxa de sintomas referidos (10,8%) e o número de diagnósticos médicos de AA (1,0%), sendo leite de vaca e camarão os mais apontados (SILVA et al., 2017). Já entre pré-escolares (4 a 59 meses de idade), a taxa de prevalência estimada de AA foi de 0,61%, somente 4% confirmados por exame médico (GONÇALVES et al., 2016)

1.2 A ALERGIA À PROTEÍNA DO LEITE DE VACA

O leite de vaca (LV) é componente tradicional na alimentação dos seres humanos, tendo sido introduzido há cerca de 9000 anos. As primeiras reações adversas ao LV descritas, relatadas por Hipócrates, datam de antes de 370 aC. Relatos de alergia a proteína do leite de vaca (APLV), como alterações gastrointestinais, retardo de crescimento e choque anafilático, foram descritos com maior frequência no início do século XX, publicados principalmente na literatura alemã (HOCHWALLNER et al., 2014). Antes de 1950, a incidência de APLV durante o primeiro ano de vida era de aproximadamente 0,1 a 0,3% (HØST, 2002).

A APLV é a AA mais frequente na população pediátrica, com prevalência estimada em países desenvolvidos variando de 0,5% a 3% com 1 ano de idade. A primeira manifestação clínica ocorre comumente nos primeiros 6 meses de vida, provavelmente por serem os primeiros antígenos alimentares introduzidos na dieta da criança (FLOM; SICHERER, 2019; SOLÉ et al., 2018a).

1.2.1 Epidemiologia da APLV

A epidemiologia da APLV sofre forte influência das características da população que está sendo estudada, como fatores genéticos, ambientais, nutricionais e sociais. Devido a heterogeneidade dessas características, diferentes taxas de prevalência são encontradas nos estudos publicados. Segundo a *European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition* (ESPGHAN), a prevalência chega a 2-3%

para lactentes com um ano de idade e 1% para crianças até seis anos de idade. Já o *Guideline* elaborado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) denominado *Diagnostic and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy* (DRACMA), estima uma prevalência entre 1 e 17,5% para crianças na fase pré-escolar (FIOCCHI et al., 2010a; KOLETZKO et al., 2012).

No Brasil há poucos estudos explorando a prevalência da AA e seus métodos diagnósticos, em particular da APLV. Um estudo observacional transversal feito com gastroenterologistas de 20 cidades brasileiras em 2004 demonstrou uma prevalência de alergia à proteína do leite de vaca (APLV) referida de 5,4% e incidência de 2,2% entre os serviços avaliados, respectivamente (SOLÉ et al., 2018a).

No Ceará ainda não há estudos de base populacional sobre a prevalência da APLV. Cerca de 5.000 crianças são acompanhadas pelo Programa de Alergia a Proteína do Leite de Vaca da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (SESA) desde 2007. Em um estudo caso-controle, realizado no município de Fortaleza, Ceará, no período de outubro de 2017 a agosto de 2018, foi observado um aumento considerável no número de diagnósticos novos por mês, chegando a cerca de 120 casos novos mensais desde 2016. (LACERDA, 2018).

1.2.2 Mecanismos fisiopatológicos e manifestações clínicas

1.2.2.1 Quadro Clínico

Os mecanismos imunológicos envolvidos na APLV caracterizam três grupos de manifestações clínicas com diferentes prognósticos: APLV IgE mediada, não IgE mediada e de mecanismo misto, como mostra o Quadro 1.

APLV IgE Mediada: Pacientes com APLV IgE mediada tendem a ter doença de curso mais prolongado e com manifestações clínicas imediatas e graves, 15% persistindo até oito anos de idade. Apresentam, dentro das primeiras 2 horas após a exposição, desde manifestações cutâneas (prurido, urticária), gastrointestinais (vômitos, cólica, diarreia), respiratórias (espirros, tosse, broncoespasmo agudo, edema de laringe) até anafilaxia sendo esta a manifestação clínica mais grave da APLV IgE mediada (CALDEIRA; CUNHA; FERREIRA, 2011; SOLÉ et al., 2012, 2018a). É uma reação de hipersensibilidade com potencial fatal, cujo os sinais e sintomas podem ocorrer de forma imediata ou até duas horas após a ingestão do alimento com PLV. Pode apresentar variadas manifestações clínicas, acometendo um único órgão ou envolver sistemas, sendo importante sua identificação precoce para o rápido manejo da adrenalina injetável, droga

de primeira escolha para a condição (CARLOS PASTORINO et al., 2013; SOLÉ et al., 2012, 2018a).

APLV Mista: A forma mista da APLV envolve mecanismos mediados por IgE associados à participação de linfócitos T e de citocinas pró-inflamatórias na sua fisiopatologia e suas manifestações clínicas podem ter curso agudo ou crônico. São exemplos a dermatite atópica, asma e a esofagite eosinofílica (SOLÉ et al., 2018a)

APLV Não IgE Mediada: Nessa forma clínica as crianças parecem adquirir tolerância de forma mais precoce. Cursa com manifestações clínicas mais tardias envolvendo preferencialmente o trato gastrointestinal, sendo exemplos a coloproctite, proctite ou proctocolite eosinofílica ou alérgica e a enterocolite induzida por proteína. São indicadores de curso prolongado a sensibilização a caseína, persistência dos sintomas aos cinco anos de idade e presença de mais de um sistema sensibilizado (CALDEIRA; CUNHA; FERREIRA, 2011; SOLÉ et al., 2018a).

Quadro 1: Principais manifestações clínicas da APLV de acordo com o mecanismo imunológico

Mediada por IgE
Urticária, angioedema, <i>rash</i> eritematoso morbiliforme, rubor, hiperemia conjuntival, lacrimejamento Broncoespasmo agudo, coriza, espirros, congestão nasal, tosse Síndrome de alergia oral Espasmo intestinal agudo Tontura e desmaio, aumento da frequência cardíaca Cólicas e contrações uterinas Anafilaxia
Mediada por IgE e célula (misto)
Dermatite atópica Asma Esofagite eosinofílica (EoE) Gastrite eosinofílica Gastroenterite eosinofílica
Não mediada por IgE
Dermatite herpetiforme Dermatite de contato Hemossiderose induzida por alimento (Síndrome de Heiner) Síndrome da enterocolite induzida por proteína alimentar (FPIES) Síndrome da proctocolite induzida por proteína alimentar (FPIPS) Síndrome de enteropatia induzida por proteína alimentar

Fonte: Adaptado de (SOLÉ et al., 2012, 2018a; “World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow’s Milk Allergy (DRACMA) Guidelines”, 2010)

1.2.2.2 Mecanismos fisiopatológicos e a microbiota

A microbiota presente no sistema gastrointestinal possui relação íntima com o desenvolvimento, manutenção e regulação do sistema imunológico, contribuindo para o seu equilíbrio e para o controle de suas reações. O sistema imunológico deve ser capaz de diferenciar entre organismos patogênicos e manter mecanismos de tolerância para bactérias comensais e antígenos alimentares. A mucosa intestinal intacta apresenta resposta imune com linfócitos *T helper* (Th) de forma predominante, com uma barreira epitelial intestinal íntegra, secreção suficiente de IgA e atuação satisfatória dos mecanismos de defesa inata, com secreção de interleucina (IL) 10 e *transforming growth factor* (TGF) ou fator de transformação de crescimento e sem a produção de IgE específica, além de eosinófilos e mastócitos em estado de repouso (MONTALTO et al., 2008; MOUSAN; KAMAT, 2016; SOLÉ et al., 2018a).

As AA possuem mecanismos etiopatogênicos ainda não completamente esclarecidos e o seu desenvolvimento pode ser influenciado pela presença de vários fatores de risco, como alterações da mucosa intestinal (sistema imaturo, deficiência de IgA, alterações dos genes da citocina Th2 ou do receptor de IgE), introdução precoce de alimentos sólidos, aumento da permeabilidade da mucosa (por exemplo, doença celíaca, gastroenterites infecciosas, doença intestinal inflamatória) e disbiose (MONTALTO et al., 2008; MOUSAN; KAMAT, 2016; SOLÉ et al., 2018a)

As alterações da permeabilidade intestinal permitem o acesso à membrana basal e à lâmina própria pelos antígenos capazes de desencadear o processo patológico imunomediado, principalmente as reações do tipo I (reações imediatas). Essas reações cursam com uma fase de sensibilização durante o primeiro contato com alérgenos, onde não há sintomas, mas há uma ativação dos linfócitos Th CD4 pertencentes à subpopulação Th2. A partir daí há a produção de IL-4, IL-5 e IL-13, que induzem a produção de IgE e o recrutamento de eosinófilos. Durante uma segunda exposição ao mesmo alérgeno, ocorre a ligação entre o antígeno e a IgE já presente na superfície dos mastócitos, ocasionando sua degranulação e liberando vários mediadores vasoativos e inflamatórios (por exemplo, histamina, triptase, etc.); além disso, algumas horas depois, mastócitos e basófilos liberam citocinas pró-inflamatórias, causando dilatação dos vasos sanguíneos, aumento da permeabilidade capilar, hipersecreção glandular e contração da musculatura lisa. Esses eventos conjuntamente levam à função intestinal alterada, inflamação e

manifestações clínicas de alergia alimentar (MONTALTO et al., 2008; SOLÉ et al., 2018a).

Nas alergias alimentares não mediadas por IgE, outros anticorpos (IgG, IgM ou IgA), depósito de imunocomplexos e imunidade mediada por células podem desempenhar um papel fundamental. Evidências para corroborar a relação entre a ingestão de alguns alimentos em particular e reações não mediadas por IgE ainda são limitadas (MONTALTO et al., 2008; SOLÉ et al., 2018a).

1.2.2.3 O processo de desenvolvimento de tolerância oral

A tolerância consiste no reconhecimento e eliminação de antígenos não próprios (PINTO; BANI; PAIVA, 2014). O equilíbrio entre os diversos componentes do sistema imune, e o reconhecimento e processamento de antígenos por este, contribui para o desenvolvimento de tolerância imunológica. Os tecidos linfóides associados ao trato gastrointestinal (TGI) desempenham um papel importante na limitação das respostas inflamatórias a bactérias residentes e proteínas alimentares, sendo eles: a barreira epitelial intestinal; a lâmina própria; e o sistema imunológico do trato gastrintestinal (GALT - *Gut-associated lymphoid tissue*). Este último faz parte do sistema imune de mucosas (MALT - *Mucosa-associated lymphoid tissue*), que está em contato com o meio externo e é considerado o maior órgão linfóide do organismo. (SATITSUKSANOVA et al., 2018; SOLÉ et al., 2018a).

Na lâmina própria estão localizadas a maioria das células do sistema imune, como as que previamente tiveram contato com antígenos (linfócitos T e B de memória) e outras células imunológicas, como células dendríticas (CD - que representam as células apresentadoras de antígenos), macrófagos, mastócitos, eosinófilos e células linfóides inatas (PINTO; BANI; PAIVA, 2014; SOLÉ et al., 2018a).

O GALT é composto por diferentes tecidos linfóides organizados, como as placas de Peyer (PP), folículos linfóides isolados e linfonodos mesentéricos. As PP são estruturas linfóides organizadas, distribuídas no intestino delgado e que formam um centro germinativo com grande quantidade de linfócitos B, circundados de poucos linfócitos T. Os linfócitos B são direcionados principalmente para a produção de IgA. Uma particularidade das PP é a presença de células epiteliais especializadas, as chamadas células M, que não apresentam microvilosidades e camada superficial de muco, o que facilita a captação de antígenos particulados, vírus, bactérias ou parasitas intactos. (PINTO; BANI; PAIVA, 2014; SOLÉ et al., 2018a).

Para manter a tolerância oral, os tecidos MALT continuam a se identificar como não auto-antígenos e a reconhecer os patógenos que podem causar inflamação nos tecidos. Quando essa diferenciação deixa de ser realizada, ocorre a perda de tolerância oral e respostas alérgicas indesejadas (SATITSUKSANOVA et al., 2018). Os possíveis mecanismos de tolerância oral parecem envolver o reconhecimento de antígenos alimentares pelas CD e a indução de células T regulatórias (Treg) e células B regulatórias (Breg). (CALZADA et al., 2018; SATITSUKSANOVA et al., 2018)

Após a apresentação antigênica na mucosa do TGI pelas células M, ocorre a captação destes antígenos pelas CD e a apresentação às células T *helper naive* (Th0) presentes nos tecidos linfóides associados ao intestino. De acordo com a alergenicidade dos antígenos e das células presentes no local da apresentação, as células Th0 diferenciam-se em diferentes tipos de linfócitos T, classificados pelo perfil de IL que produzem. A captação de antígenos ocorre tanto através das células M, diretamente no lúmen do TGI pelos dendritos das CD, pelas das próprias células epiteliais ou células de Goblet, ou mesmo penetrando entre as *tight junction* que interligam as células epiteliais (SOLÉ et al., 2018a).

As CD também ativam células Treg e Breg, resultando no desenvolvimento de tolerância oral. As células Treg são linfócitos que controlam ou suprimem a função de outras células e que podem ser naturais ou induzidos periféricamente, principalmente no TGI. Várias células Treg CD4⁺ foram identificadas e são reconhecidas por sua ação supressora sobre outros tipos de linfócitos, seja pela produção de TGF- β e IL-10, principais inibidores da resposta Th2. As células Breg imunossupressoras regulam as respostas imunes suprimindo as células T efectoras pela produção de citocinas supressoras (IL-10, TGF- β e IL-35), predominantemente via IL-10 (CALZADA et al., 2018; SATITSUKSANOVA et al., 2018; SOLÉ et al., 2018a).

A microbiota comensal também é de suma importância para o desenvolvimento dos tecidos linfóides secundários, como as PP e os folículos linfóides isolados, mantendo a homeostasia e tolerância entre hospedeiro e microbiota, auxiliando no reconhecimento dos antígenos próprios e na aquisição de tolerância (MONTALTO et al., 2008; SOLÉ et al., 2018a).

1.2.2.4 Caracterização dos alérgenos do leite de vaca

O LV é composto por várias classes de cadeias polipeptídicas. O maior grupo é o das caseínas e suas frações alfa-(s1), alfa-(s2), beta e kappa-caseína, que representam

75-85% das proteínas lácteas. O segundo grupo de maior importância é o das proteínas solúveis do soro do leite, sendo a betalactoglobulina e a alfa-lactoalbumina as principais famílias, representando cerca de 15-22% das proteínas totais do leite. Tanto as proteínas do grupo das caseínas quanto das proteínas do soro do leite são alérgenos em potencial. (FIOCCHI et al., 2011; SOLÉ et al., 2012).

Após a exposição ao LV, crianças geneticamente predispostas desenvolvem anticorpos da classe IgE específicos contra os seus componentes, se tornando sensibilizadas. Em um segundo encontro com as PLV, esses anticorpos se ligam a epítomos (sequências de aminoácidos reconhecidas pelo sistema imune) e desencadeiam uma cascata de eventos, recrutando células como mastócitos, monócitos, eosinófilos e plaquetas, que culminam no quadro de alergia alimentar na crianças com APLV IgE mediada (EIGENMANN, 2009; SOLÉ et al., 2018a).

Os epítomos podem ser classificados em lineares ou conformacionais. A capacidade de aquisição de tolerância está relacionada tanto à diminuição na quantidade de IgE quanto à redução da capacidade de ligação de IgE a epítomos específicos nas PLV. O grupo das caseínas tem conformação primordial linear, o que determina maior tendência a persistência da alergia, pois são epítomos mais “expostos”, portanto, mais fáceis de sofrerem ligação por IgE. Já o grupo das proteínas que compõem o soro do leite de vaca (alfalactoalbumina e betalactoglobulina) possui epítomos conformacionais, permitindo que o indivíduo possa tolerar o consumo de pequenas quantidades de PLV com estrutura terciária modificada (leite cozido ou hidrólise parcial) (FIOCCHI et al., 2011; SOLÉ et al., 2012).

1.2.2.5 Alergenicidade e o processamento dos alimentos

As PLV podem ter suas propriedades alteradas por técnicas de processamento de alimentos. As características físico-químicas, resistência à digestão e estabilidade térmica podem ser alterados por esses processos, sejam térmicos (calor seco ou húmido) ou não térmicos (germinação, fermentação, proteólise, ultrafiltração, descascamento, esmagamento, pasteurização, armazenamento, dentre outros) (FIOCCHI et al., 2011; RIBEIRO; PINTO; ROSA, 2016).

Epítomos lineares são termoestáveis e mais resistentes às alterações de temperatura, conferindo um maior potencial de alergenicidade. Já a perda da estrutura tridimensional de uma proteína ao ser desnaturada pelo calor faz com que epítomos sejam modificados, limitando a ligação de IgE específica. Portanto, o processamento térmico

consiste em uma forma simples de reduzir o potencial alergênico dos alimentos (FIOCCHI et al., 2011; RIBEIRO; PINTO; ROSA, 2016; “World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow’s Milk Allergy (DRACMA) Guidelines”, 2010).

É descrito na literatura que crianças com APLV IgE mediada de duração transitória possuem uma maior quantidade de anticorpos IgE específicos para os epítomos conformacionais (proteínas solúveis do soro do leite, como a alfa-lactoalbumina, betalactoglobulina e lactoferrina), enquanto as crianças com APLV IgE mediada persistente tem uma proporção maior de anticorpos IgE dirigidos para epítomos lineares específico (como a caseína e albumina), porém sem pontos de corte de valores de IgE definidos (RIBEIRO; PINTO; ROSA, 2016; SOLÉ et al., 2018a).

A possibilidade de ingestão de PLV processados na APLV pode ser adquirida no curso natural da doença, de forma diferente para cada paciente, provavelmente influenciada por fatores genéticos, ambientais, dentre outros, que participam dos mecanismos de aquisição de tolerância oral. (RIBEIRO; PINTO; ROSA, 2016; SOLÉ et al., 2018a).

1.2.3 Fatores relacionados à APLV

Os fatores associados à APLV podem ser classificados como de risco e de proteção. Os estudos populacionais acerca da AA mostram diferentes fatores conforme cada população. Isso mostra a importância do desenvolvimento de pesquisas de base populacional dessa condição, adaptadas para as realidades locais, para a elaboração de medidas de prevenção e melhora dos métodos de diagnóstico e seguimento desses pacientes (FIOCCHI et al., 2010b; KOLETZKO et al., 2012; SOLÉ et al., 2018a).

Fatores como parto cesáreo, sexo masculino, comorbidades alérgicas, desmame precoce (antes dos 6 meses de vida), uso de antibióticos na gestação ou pela criança, prematuridade, insuficiência de vitamina D, redução do consumo de ácidos graxos poliinsaturados do tipo ômega 3, redução de consumo de antioxidantes, uso de antiácidos que dificultam a digestão de alérgenos, obesidade como componente inflamatório, composição de microflora, a “hipótese da higiene” e a exposição tardia a alérgenos são descritos como fatores de risco para as alergias, entre elas, a alergia alimentar (PRESCOTT; NOWAK-WGRZYN, 2011; SOLÉ et al., 2018a).

Alguns fatores são descritos na literatura como de proteção na maioria das populações, como o parto vaginal, a não utilização precoce de fórmula infantil na

maternidade, o aleitamento materno exclusivo até os 6 meses de vida, o início da introdução alimentar aos 6 meses de vida, administração de probióticos e suplementação com vitamina D para a mãe durante a gestação, essa última sem evidência clínica suficiente para sua implementação formal (CALDEIRA; CUNHA; FERREIRA, 2011; PRESCOTT; NOWAK-WGRZYN, 2011; SÁNCHEZ-GARCÍA; CIPRIANI; RICCI, 2015; SOLÉ et al., 2018a).

Foi proposta, como medida de proteção contra a APLV, a administração de fórmula extensamente hidrolisada para crianças ainda não amamentadas e sob risco de desenvolvimento de APLV (parente de primeiro grau acometidos), porém ainda carece de outros estudos para reforçar a hipótese (CALDEIRA; CUNHA; FERREIRA, 2011; SÁNCHEZ-GARCÍA; CIPRIANI; RICCI, 2015). A restrição de alguns componentes na alimentação de gestantes e nutrízes, como evitar consumo de amendoim, frutas cítricas, algumas proteínas (ovo, leite de vaca), também não possui evidências consistentes, sendo indicado a manutenção de dieta balanceada durante gestação e lactação. A restrição de alimentos potencialmente alergênicos durante a introdução alimentar também não é indicada, pois posterga a aquisição de tolerância e prejudica a variabilidade nutricional da criança (SÁNCHEZ-GARCÍA; CIPRIANI; RICCI, 2015; SOLÉ et al., 2018a).

A idéia de uma relação íntima entre o hospedeiro humano e diversos tipos de microrganismos que nos colonizam desde o nascimento vem sendo explorada cada vez mais na comunidade científica. Já nos primeiros anos de vida, nossa microbiota intestinal se estabiliza, sendo um processo essencial para o desenvolvimento de vários sistemas, como já demonstrado por modelos murinos *germ free*, que experimentam hipodesenvolvimento de tecidos linfóides e demais componentes do sistema imune. A influência desses fatores de risco e proteção, de forma variada, podem resultar na formação de uma microbiota inadequada (disbiose). Isso pode culminar em alterações nos mecanismos reguladores (linfócitos *Treg*), desequilíbrio nos fenômenos de tolerância e de resposta inflamatória, podendo induzir respostas de hipersensibilidade, como as alergias alimentares (RACHID; CHATILA, 2016; SOLÉ et al., 2018a).

O aleitamento materno exclusivo segue como principal forma de prevenção da APLV, sendo evidente a redução na incidência de APLV até os dois anos de idade em crianças mantidas sob aleitamento materno exclusivo até pelo menos seis meses de vida (SOLÉ et al., 2018a).

Quadro 2: Principais fatores associados à APLV

Fatores de Proteção	Fatores de Risco
Parto vaginal Não utilização precoce de fórmula infantil Aleitamento materno exclusivo até os 6 meses de vida Introdução alimentar aos 6 meses de vida Microbiota	Parto cesáreo Comorbidades alérgicas Desmame precoce Uso de antibióticos na gestação ou pela criança Prematuridade Insuficiência de vitamina D Redução do consumo de ácidos graxos poli-insaturados do tipo ômega 3 Uso de antiácidos que dificultam a digestão de alérgenos Hipótese da higiene

Fonte: Adaptado de (Solé et al., 2012; Solé, Silva, Cocco, Ferreira, Sarni, Oliveira, Pastorino, Weffort, Morais, Barreto, Oliveira, Paula, et al., 2018; “World Allergy Organization (WAO) *Diagnosis and Rationale for Action against Cow’s Milk Allergy (DRACMA) Guidelines,*” 2010).

1.2.4 O curso natural da APLV

A aquisição de tolerância às alergias alimentares geralmente se dá na infância, somente 10% dos pacientes persiste até a vida adulta (SOLÉ et al., 2018a).

O curso natural da APLV tem mudado, sendo documentado períodos maiores para a aquisição de tolerância e menores taxas de resolução. Segundo Spergel, 2013, que descreve um resumo das taxas de aquisição de tolerância de nove grandes coortes, cerca de 50% das crianças com APLV vão adquirir tolerância por volta dos cinco anos de idade e 75% nos primeiros anos da adolescência (SPERGEL, 2013).

Fatores como história familiar de atopia e manifestações alérgicas mais graves, maiores diâmetros de teste cutâneos, maiores valores de IgE específicas, com destaque a IgE para caseína e LV, e a presença de outras comorbidades alérgicas estão associados com a persistência do quadro de APLV, estendendo-se além de 60 meses de idade (ELIZUR et al., 2012; FERREIRA et al., 2014; KOIKE et al., 2018).

1.2.5 Diagnóstico

O diagnóstico da APLV se baseia na avaliação de quatro etapas: a anamnese, exame físico, testes para a detecção de IgE específica e dieta de exclusão da PLV seguida do teste de provocação oral (TPO) em ambiente controlado (SOLÉ et al., 2012).

A anamnese deve ser feita de forma minuciosa, detalhando o período de início, frequência, reprodutibilidade e tempo de aparecimento dos sintomas após a ingestão de

PLV, bem como a quantidade de leite necessária para início das reações, fatores externos (exercício físico, frio, medicamentos), recordatório alimentar, efeito da dieta de restrição, eventos graves e terapia adjuvante utilizada (SOLÉ et al., 2018b).

O exame físico também deve ser criterioso, procurando sinais consistentes com a reações alérgicas ou eventuais comorbidades relacionadas a APLV, como o comprometimento nutricional, hipovitaminoses, infecções oportunistas e outras manifestações alérgicas.

O diagnóstico laboratorial consta de testes para avaliar a sensibilização a PLV, seja *in vivo* (teste cutâneo de hipersensibilidade imediata) ou *in vitro* (IgE específica positiva para as frações de proteínas do leite de vaca, com destaque para alfa-lactoalbumina, betalactoglobulina e caseína). O teste cutâneo de hipersensibilidade, ou teste de punctura, é prático para a pesquisa de sensibilização alérgica no consultório, sem restrição de idade, estando o tamanho da pápula relacionado a chance de reações caso haja nova exposição ao alérgeno (ORIEL; WANG, 2019; SOLÉ et al., 2012).

O teste para detecção de IgE específica a PLVs pode ser utilizado para detectar várias frações proteicas do leite, que por sua vez se correlacionam com diferentes clínicas e prognósticos. É também útil quando o teste cutâneo está contraindicado, em casos de uso de anti-histamínicos e comprometimento da pele. Esses exames devem ser idealmente realizados durante a investigação diagnóstica e a positividade de sensibilização (IgE específica positiva para PLV), *in vitro* ou *in vivo*, é necessário ser somada aos achados de anamnese e exame físico (ORIEL; WANG, 2019; SOLÉ et al., 2012).

1.3 O TESTE DE PROVOCAÇÃO ORAL

O TPO é considerado o padrão-ouro para o diagnóstico de AA e para avaliar a aquisição de tolerância aos alimentos. O teste foi introduzido na prática clínica em meados dos anos 70 e é feito com a ingestão do alimento suspeito para a documentação de aspectos como a natureza dos sinais e sintomas apresentados e a quantidade mínima necessária para iniciá-los, sendo possível definir se há necessidade de restrição à PLV. Deve ser realizado em ambiente controlado, em doses progressivas e sob observação médica para eventuais reações adversas, o que o torna mais demorado e oneroso. Por outro lado, pode trazer benefícios ao paciente e seus familiares por elucidar o que realmente irá ocorrer após a ingestão do alimento e sobre a necessidade de restrição dietética (HORVATICH et al., 2018).

O teste pode ser feito de três maneiras:

- a) Aberto: O alimento é oferecido em sua forma natural (in natura) e com o conhecimento do paciente, familiares e do avaliador;
- b) Simples cego: o alimento é mascarado, portanto, o paciente não deve reconhecer se está ingerindo o alimento suspeito ou placebo, apenas o avaliador sabe o que está sendo administrado;
- c) Duplo-cego controlado com placebo (DCCP): o alimento testado e placebo são preparados por uma terceira pessoa não envolvida na avaliação do paciente, reduzindo a influência tanto do paciente quanto do observador, sendo esta a modalidade padrão-ouro (HORVATICH et al., 2018).

O TPO, quando bem indicado e feito em condições seguras, tem a propriedade de devolver a qualidade de vida dos pacientes sob dietas restritivas e com experiências desagradáveis devidos às reações adversas concernentes a APLV (MENDONÇA et al., 2011; VELDE; BLOK; GROOT, 2012).

Crianças em dietas isentas de PLV e derivados sem a orientação e indicação adequada estão sob risco nutricional. Além disso, são dietas onerosas, que podem trazer prejuízos psicossociais à criança, serem inconvenientes à família e com difícil monitoração fora do ambiente domiciliar. Portanto, o TPO torna-se importante para confirmar o diagnóstico de alergia alimentar, reduzir o risco de exposição acidental, diminuir a ansiedade de pais e crianças sobre o desconhecido e validar o esforço do paciente e seus familiares em evitar o alimento. Os benefícios de um TPO negativo são a liberação de ingestão do alimento suspeito e a redução do risco nutricional e melhora na qualidade de vida do paciente (SOLÉ et al., 2018b).

As indicações do TPO, independente da faixa etária, estão listadas no Quadro 3:

Quadro 3: Indicações de TPO

<p>Confirmar ou excluir alergia alimentar</p> <p>Avaliar tolerância</p> <p>Avaliar reatividade clínica em pacientes sensibilizados e com dieta restritiva a múltiplos alimentos</p> <p>Determinar se alérgenos alimentares associados a doenças crônicas podem causar reações imediatas</p> <p>Avaliar tolerabilidade ao mecanismo de processamento do alimento</p>

Fonte: Adaptado de Solé, Silva, Cocco, Ferreira, Sarni, Oliveira, Pastorino, Weffort, Morais, Barreto, Oliveira, & A, 2018

1.3.1 A correlação entre o desfecho do TPO e fatores clínicos e laboratoriais

Estudos tem procurado estabelecer correlações entre os exames séricos de sensibilidade a PLV, testes cutâneos e o desfecho do TPO, de forma a otimizar o tempo do diagnóstico e da avaliação de tolerância, porém com resultados variados e por vezes pouco conclusivos. Observa-se que diâmetros menores nos teste cutâneos e menor titulação de IgE em teste séricos se correlacionam com menor chance de reatividade clínica ao contato com a PLV, mas há dificuldade em se estabelecer os pontos de corte devido à variedade das populações estudadas, dos métodos laboratoriais utilizados e das manifestações clínicas (SOLÉ et al., 2018b; VELDE; BLOK; GROOT, 2012).

2 JUSTIFICATIVA

A APLV tem apresentado uma prevalência ascendente na população pediátrica nas últimas décadas, tanto a nível mundial como no Brasil, sendo considerada um problema de saúde pública. É uma enfermidade que necessita de diagnóstico precoce e manejo adequado para evitar dietas restritivas, desnecessárias e onerosas, que repercutem na dinâmica da família e podem colocar a criança sob risco nutricional.

O TPO é o exame padrão-ouro para confirmar o diagnóstico de APLV, justificando os esforços da família em manter a dieta isenta de PLV e devolvendo a qualidade de vida da criança e seus familiares quando tem resultado negativo, confirmando tolerância a PLV. A correlação entre testes diagnósticos sérico, cutâneos e o desfecho do TPO tem sido descrita na literatura, na busca de métodos para substituir o TPO. Observa-se grande variação dos resultados de acordo com o tipo de população estudada, tipos de testes utilizados, entre outros fatores, apontando a importância no estabelecimento do perfil do paciente acometido pela APLV para melhor elucidação de métodos diagnósticos.

O estado do Ceará possui em torno de 5.000 crianças acompanhadas pelo Programa de APLV da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, com uma média de 120 casos novos mensais desde 2016.

Este é o primeiro estudo sobre o perfil clínico e laboratorial da população com APLV associado ao desfecho do TPO no estado do Ceará, até o nosso conhecimento. Os dados gerados aqui poderão auxiliar no melhor conhecimento da população de APLV do Estado e subsidiar estratégias de prevenção e intervenção mais eficazes no manejo da APLV. Poderão ainda dar suporte para os protocolos de diagnóstico e tolerância, de forma a minimizar o impacto na qualidade de vida dos pacientes e seus familiares e os custos com a saúde.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

- Analisar os fatores associados ao desfecho do TPO em pacientes acompanhados por APLV em ambulatório de alergia em hospital terciário do estado do Ceará.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as características sociodemográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes com APLV que realizaram TPO em ambulatório de alergia em hospital terciário do estado do Ceará
- Avaliar a tolerância à proteína do leite de vaca em pacientes que realizaram TPO.
- Correlacionar os fatores sociodemográficos, clínicos e laboratoriais ao desfecho do TPO em pacientes APLV.
- Compreender a importância do TPO na avaliação de crianças com APLV.

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo observacional, prospectivo, do tipo transversal com abordagem quantitativa e com elementos descritivos e analíticos.

4.2 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

O estudo foi realizado no período de outubro de 2018 a setembro de 2019 no Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS), localizado no Município de Fortaleza, capital do Estado do Ceará.

O HIAS é um hospital infantil terciário de referência no Estado do Ceará no atendimento de crianças e adolescentes com doenças graves e de alta complexidade, sendo reconhecido como instituição de ensino e pesquisa. Conta com emergência clínica, ambulatório de especialidades médicas, unidades de terapia intensiva e neonatais de médio e alto risco, centro cirúrgico, laboratórios clínico e de imagem, além de um centro especializado em tratamento e serviço de diagnóstico do câncer.

O ambulatório de alergia do HIAS presta assistência a crianças e adolescentes com patologias alérgicas e imunológicas. O ambulatório possui uma equipe multidisciplinar especializada composta por médicos e nutricionista e outros profissionais e realiza consultas, TPO, além da dispensação de fórmulas infantis especiais de alto custo. A rede estadual de saúde encaminha as crianças com diagnóstico de APLV para serem acompanhadas no HIAS e receberem de forma gratuita as fórmulas pelo governo do Estado do Ceará.

4.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

A população do estudo foi de crianças e adolescentes com APLV acompanhadas no ambulatório de alergia no HIAS e no ambulatório de APLV do Centro de Atenção à Saúde Meireles e que foram encaminhadas ao HIAS para a realização do TPO. O Centro de Atenção à Saúde Meireles constitui um serviço especializado secundário em nível ambulatorial, parte da rede de acompanhamento dos pacientes com APLV juntamente com o HIAS, e que realiza o acompanhamento de crianças com diagnóstico de APLV na cidade de Fortaleza, provenientes de todo o estado do Ceará. A amostra foi selecionada por conveniência (amostragem não probabilística), com crianças com o diagnóstico de APLV IgE mediada, não IgE mediada e mista, submetidas ao TPO para avaliação de tolerância a PLV.

4.3.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas pacientes com diagnóstico de APLV IgE mediada, não IgE mediada e mista, até 18 anos, com histórico de reação a PLV nos últimos 6 meses, com orientação para seguir dieta de exclusão da PLV e que seriam submetidas ao TPO, seja com PLV *in natura* ou processada.

4.3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídas do estudo lactentes e crianças sem diagnóstico definitivo clínico e laboratorial de APLV, crianças portadoras de enfermidades crônicas em outros sistemas orgânicos (neuropatias, cardiopatias, malformações somáticas graves, doenças genéticas e outras) e pacientes que não realizaram o TPO (faltosos, uso de anti-histamínicos recente, em vigência de infecção) ou não terminaram o teste (não aceitação do alimento pela criança, sintomas subjetivos) até o segundo momento do período de coleta.

4.4 COLETA DE DADOS

A coleta dos dados foi realizada através de entrevista com os responsáveis das crianças com APLV acompanhadas no ambulatório de alergia do HIAS e submetidas ao TPO. Foi utilizado um questionário como instrumento de coleta de dados (APÊNDICE 3), armazenado em plataforma digital no formato de aplicativo, através do programa *MoreApp*®, com perguntas sobre características clínicas, socioeconômicas e demográficas, fatores de risco e de gravidade, uso de medicamentos, fatores alimentares, ambientais e familiares, dentre outros. Dados relativos a exames laboratoriais (IgE total, IgE específica para proteína do leite de vaca: alfa lactoalbumina, beta lactoglobulina e caseína), parâmetros eventualmente não fornecidos pelos entrevistados e o desfecho do TPO em até 7 dias após o teste foram colhidos no prontuário do paciente. O programa utilizado armazenou as informações em dados tabulados em Excel® e arquivo de pdf com as respostas por extenso, ambos gerados de forma automática na plataforma, acessível via site e aplicativo para celular e *tablet*.

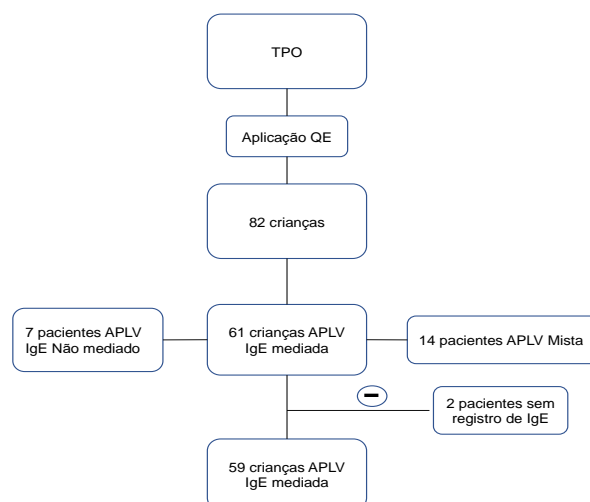
O recrutamento das crianças com APLV foi realizado no HIAS, na sala de espera do ambulatório. Os responsáveis pelas crianças foram entrevistados antes e após o término da consulta durante a realização do TPO, tendo sido explanado o escopo do trabalho e feito o preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), para crianças entre 0 e 9 anos de idade e do Termo de Assentimento (TA) para crianças entre 10-18 anos .

Os TPO avaliaram a tolerância à PLV de crianças já diagnosticadas com APLV. Foram realizados em ambiente hospitalar, com equipe multidisciplinar, de forma aberta,

segundo protocolo do HIAS, adaptado às diretrizes da Academia Americana de Alergia, Asma e Imunologia (AAAI) e da Academia Européia de Alergia e Imunologia Clínica (EAACI) (MURARO; ROBERTS, 2014; SAMPSON et al., 2014). Os pais foram orientados previamente sobre os passos para a realização do teste, necessidade de suspensão de medicações como anti-histamínicos e de não estar em vigência de processos infecciosos, bem como dos riscos potenciais de reação. A PLV foi administrada na forma *in natura* ou processada de acordo com a avaliação clínica e laboratorial prévia e aceitação do paciente. O leite de vaca foi oferecido em 2 a 4 etapas em quantidades crescentes até o equivalente total de 100 a 150 ml de leite de vaca integral. Os pacientes foram observados por até duas horas em ambiente hospitalar após a ingestão do alimento, sendo recomendado retorno precoce no caso de reações tardias. Na vigência de sintomas sugestivos de reação alérgica, descritos no Quadro 1, o teste era considerado positivo e interrompido para ser dado suporte ao paciente. O TPO não foi interrompido durante sintomas subjetivos (dor abdominal, recusa alimentar, espirros, lesões de pele não-urticariiformes, dentre outros).

Pacientes que apresentam reações (resultado positivo) ao TPO foram classificados como não-tolerantes e foram orientados a seguir a dieta com restrição ou isenção à PLV até novo teste. Já os pacientes que não reagem ao consumo da PLV (negativos), foram classificados como tolerantes, sendo liberados para o consumo de PLV de acordo com as recomendações clínica. Os prontuários dos pacientes foram reavaliados após cerca de 2 meses para o acompanhamento de reações tardias. (SOLÉ et al., 2018a).

Figura 1. Fluxograma da seleção da amostra base



Fonte: Elaborada pelo autor

4.5 ANÁLISE DE DADOS

Os dados obtidos no presente estudo foram analisados a partir da obtenção das suas frequências absolutas (n) e relativas (%) para variáveis do tipo qualitativas. As diferenças entre as variáveis categóricas foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado (χ^2) ou exato de Fischer. A análise de regressão logística multinomial foi realizada para obtenção dos valores de *odds ratio* (OR) e 95% do intervalo de confiança (IC) para as variáveis com resultados estatísticos significantes obtidos pelos teste S de inferência de Qui-quadrado (χ^2) ou exato de Fischer dentre as variáveis que obtiveram valores de $p < 0.05$. Os resultados foram apresentados em tabelas descritivas e de associação.

Para as variáveis quantitativas, foi analisado a normalidade da distribuição dos dados pelo Teste de Shapiro-Wilk. Para variáveis com distribuição paramétrica, foi utilizado o teste t de *Student*. Para variáveis não paramétricas, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Para todos os procedimentos inferenciais utilizados foi adotado um nível de probabilidade de $p < 0.05$. As análises estatísticas foram realizadas a partir do software SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

O TPO foi identificado como variável dependente e as variáveis relacionadas as características socioeconômicas e demográficas, clínicas e laboratoriais, dentre outras, as variáveis independentes. Dois grupos foram analisados com as seguintes variáveis-desfecho: (1) TPO não tolerante (criança apresentou sintomas clínicos sugestivos de alergia alimentar na vigência da execução do protocolo de realização do teste) e (2) TPO tolerante (criança sem sintomas de alergia alimentar durante a realização do teste de provocação oral).

Com relação aos exames laboratoriais, a avaliação de IgE específica para proteína do leite de vaca e as suas frações (alfalactoalbumina, betalactoglobulina e caseína) foi considerada negativa para alergia ao leite de vaca os pacientes com mensuração menor que 0,1 KUA/L e os pacientes com valores maiores ou iguais a 0,1KUA/L, considerados positivos. Foi considerado um ponto de corte de 10 KUA/L, para avaliação de pacientes com IgE positivos para LV e frações, com dois grupos: (1) grupo com valores de 0,1 a 10KUA/L e (2) grupo com valores acima de 10 KUA/L.

Esses valores foram adotados baseados na experiência do serviço do HIAS, levando em conta os valores mais frequentemente observados pela equipe nos exames dos pacientes acompanhados.

4.6 ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa obedeceu às normas da Resolução nº 466 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde/ Ministério da Saúde (BRASIL, 2012), que regulamenta as pesquisas envolvendo seres humanos e assegura os direitos e deveres que dizem respeito à comunidade científica, aos sujeitos da pesquisa e ao Estado.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Infantil Albert Sabin, sob o número CAAE: 90496618.0.0000.5042 (ANEXO 1).

Todos os responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, antes da aplicação dos questionários (APÊNDICE 1). Os pacientes de 10-18 anos também assinaram o Termo de Assentimento (APÊNDICE 2).

REFERÊNCIAS

- AMARAL, L. J. X. et al. Fatores que influenciam na interrupção do aleitamento materno exclusivo em nutrizes. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 36, n. spe, p. 127–134, 2015.
- ANDREA MARINÑO, D. I. Alergia alimentaria en pediatria: recomendaciones para su diagnóstico y tratamiento Food allergy in children: recommendations for diagnosis and treatment. **Arch Argent Pediatr**, v. 116, n. 1, p. 1–19, 2018.
- BOYCE, J. A. et al. Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Report of the NIAID-Sponsored Expert Panel. **J Allergy Clin Immunol**, v. 126, n. 6 0, p. S1-58, 2010.
- CALDEIRA, F.; CUNHA, J. DA; FERREIRA, M. G. ALERGIA A PROTEÍNAS DE LEITE DE VACA Um Desafio Diagnóstico. **Acta Med Port**, v. 24, p. 505–510, 2011.
- CALZADA, D. et al. Immunological mechanisms in allergic diseases and allergen tolerance: The role of Treg cells. **Journal of Immunology Research**, v. 2018, 2018.
- CARLOS PASTORINO, A. et al. Anafilaxia: diagnóstico. **Rev Assoc Med Bras**, v. 59, n. 1, p. 7–13, 2013.
- CELIK-BILGILI, S. et al. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of oral food challenges. **Clin.Exp.Allergy**, v. 35, n. 3, p. 268–273, 2005.
- CUOMO, B. et al. Specific IgE and skin prick tests to diagnose allergy to fresh and baked cow's milk according to age: A systematic review. **Italian Journal of Pediatrics**, v. 43, n. 1, p. 1–10, 2017.
- EIGENMANN, P. A. Mechanisms of food allergys. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 20, p. 5–9, 2009.
- ELIZUR, A. et al. Natural Course and Risk Factors for Persistence of IgE-Mediated Cow's Milk Allergy. **YMPD**, v. 161, n. 3, p. 482- 487.e1, 2012.
- FERREIRA, S. et al. Alergia às proteínas do leite de vaca com manifestações gastrointestinais. **Nascer e Crescer**, v. 23, n. 2, p. 72–79, 2014.
- FIOCCHI, A. et al. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow ' s Milk Allergy (DRACMA) Guidelines. n. April, p. 57–161, 2010a.
- FIOCCHI, A. et al. World allergy organization (WAO) diagnosis and rationale for action against cow's milk allergy (DRACMA) guidelines. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 21, n. SUPPL. 21, p. 1–125, 2010b.
- FIOCCHI, A. et al. Molecular diagnosis of cow's milk allergy. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 11, n. 3, p. 216–221, 2011.
- FLEISCHER, D. M. et al. Oral food challenges in children with a diagnosis of food allergy. **Journal of Pediatrics**, v. 158, n. 4, 2011.

- FLOM, J. D.; SICHERER, S. H. Epidemiology of Cow's Milk Allergy. **Nutrients**, v. 11, n. 1051, p. 1–14, 2019.
- FUERTES, E. et al. Parental allergic disease before and after child birth poses similar risk for childhood allergies. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 70, n. 7, p. 873–876, 2015.
- GONÇALVES, L. C. P. et al. Prevalence of food allergy in infants and pre-schoolers in Brazil. **Allergologia et Immunopathologia**, v. 44, n. 6, p. 497–503, 2016.
- HOCHWALLNER, H. et al. Cow's milk allergy: From allergens to new forms of diagnosis, therapy and prevention. **Methods**, v. 66, n. 1, p. 22–33, 2014.
- HORVATICH, L. B. et al. Utilidade do teste de provocação oral aberto no diagnóstico de alergia alimentar. **Brazilian Journal of Allergy and Immunology (BJAI)**, v. 2, n. 4, p. 458–462, 2018.
- HØST, A. Frequency of cow's milk allergy in childhood. **Annals of Allergy, Asthma and Immunology**, v. 89, n. 6 SUPPL. 1, p. 33–37, 2002.
- KANSEN, H. M. et al. The impact of oral food challenges for food allergy on quality of life: A systematic review. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 29, n. 5, p. 527–537, 2018.
- KAWAHARA, T. et al. Risk prediction of severe reaction to oral challenge test of cow's milk. **European Journal of Pediatrics**, v. 178, n. 2, p. 181–188, 2019.
- KOIKE, Y. et al. Predictors of Persistent Wheat Allergy in Children: A Retrospective Cohort Study. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 176, n. 3–4, p. 249–254, 2018.
- KOLETZKO, S. et al. Diagnostic approach and management of cow's-milk protein allergy in infants and children: Espghan gi committee practical guidelines. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 55, n. 2, p. 221–229, ago. 2012.
- LACERDA, A. M. **FATORES ASSOCIADOS À ALERGIA AO LEITE DE VACA EM LACTENTES**. [s.l.] Universidade de Fortaleza - UNIFOR, 2018.
- MATSUMOTO, N. et al. Breastfeeding and risk of food allergy: A nationwide birth cohort in Japan. **Allergology International**, v. 69, n. 1, p. 91–97, 2020.
- MEHR, S. et al. Safety and clinical predictors of reacting to extensively heated cow's milk challenge in cow's milk-allergic children. **Annals of Allergy, Asthma and Immunology**, v. 113, n. 4, p. 425–429, 2014.
- MENDES, S. C. et al. Fatores relacionados com uma menor duração total do aleitamento materno. **Ciencia & saude coletiva**, v. 24, n. 5, p. 1821–1829, 2019.
- MENDONÇA, R. B. et al. Teste de provocação oral aberto na confrmação de alergia ao leite de vaca mediada por igE: Qual seu valor na prática clínica? **Revista Paulista de Pediatria**, v. 29, n. 3, p. 415–422, 2011.
- MONTALTO, M. et al. Adverse reactions to food: Allergies and intolerances. **Digestive Diseases**, v. 26, n. 2, p. 96–103, 2008.

MOUSAN, G.; KAMAT, D. Cow's Milk Protein Allergy. **Clinical Pediatrics**, v. 55, n. 11, p. 1054–1063, 2016.

MURARO, A.; ROBERTS, G. EAACI Guidelines: Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines. **Allergy: European Academy of Allergy and Clinical Immunology**, 2014.

NIAID. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States. **Clinical and Translational Allergy**, v. 1, n. 5, p. 44, 2010.

ORHAN, F. et al. Prevalence of immunoglobulin E-mediated food allergy in 6-9-year-old urban schoolchildren in the eastern Black Sea region of Turkey. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 39, n. 7, p. 1027–1035, 2009.

ORIEL, R. C.; WANG, J. Diagnosis and Management of Food Allergy. **Pediatric Clinics of North America**, v. 66, n. 5, p. 941–954, 2019.

PERRY, T. T. et al. The relationship of allergen-specific IgE levels and oral food challenge outcome. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 114, n. 1, p. 144–149, 2004.

PINTO, M. A. C.; BANI, G. M. C.; PAIVA, P. M. H. Mecanismo de indução de tolerância oral no tratamento de doenças autoimunes. p. 206–224, 2014.

PRESCOTT, S.; NOWAK-WGRZYN, A. Strategies to prevent or reduce allergic disease. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 59, n. SUPPL. 1, p. 28–42, 2011.

RACHID, R.; CHATILA, T. A. The role of the gut microbiota in food allergy. **Current Opinion in Pediatrics**, v. 28, n. 6, p. 748–753, 2016.

RIBEIRO, F.; PINTO, P. L.; ROSA, S. Ingestão dos alimentos cozinhados na alergia alimentar ao leite de vaca e ao ovo. **Rev Port Imunoalergologia**, v. 24, n. 1, p. 9–24, 2016.

ROXO-JUNIOR, P.; DEL CIAMPO, L. A. Food allergy in children : An update. **Current Trends in Immunology**, v. 10, n. Scheme 1, 2009.

SAMPSON, H. A. et al. Food allergy: A practice parameter update - 2014. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 134, n. 5, p. 1016- 1025.e43, 2014.

SÁNCHEZ-GARCÍA, S.; CIPRIANI, F.; RICCI, G. Food Allergy in childhood: Phenotypes, prevention and treatment. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 26, n. 8, p. 711–720, 2015.

SARDECKA, I. et al. Early risk factors for cow's milk allergy in children in the first year of life. **Allergy and Asthma Proceedings**, v. 39, n. 6, p. e44–e54, 2018.

SATITSUKSANOVA, P. et al. Regulatory Immune Mechanisms in Tolerance to Food Allergy. **Frontiers in immunology**, v. 9, n. December, p. 2939, 2018.

SICHERER, S. H.; SAMPSON, H. A. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 133, n. 2, p. 291- 307.e5, 2014.

SILVA, L. A. et al. Adult Food Allergy Prevalence: Reducing Questionnaire Bias.

International Archives of Allergy and Immunology, v. 171, n. 3–4, p. 261–264, 2017.

SILVA, L. R. et al. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar : 2007 Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia Coordenadores Dirceu Solé Roseli Oselka Saccardo Sarni Colaboradores Evandro Alves d. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 31, n. 2, p. 64–89, 2008.

SOLÉ, D. et al. Guia Prático Guia prático de diagnóstico e tratamento da Alergia às Proteínas do Leite de Vaca mediada pela imunoglobulina E. **Rev. bras. alerg. imunopatol**, v. 35, n. 6, p. 203–233, 2012.

SOLÉ, D. 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. v. 2, n. 1, p. 7–38, 2018a.

SOLÉ, D. 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. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 2, n. 1, p. 39–82, 2018b.

SPERGEL, J. M. Natural history of cow's milk allergy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 131, n. 3, p. 813–814, 2013.

TOCA, M. C. et al. A Latin American pediatric gastroenterology group's understanding of cow's milk protein allergy diagnosis and treatment: Results of a survey by the Food Allergy Working Group of the Sociedad Latinoamericana de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pe. **Revista de Gastroenterologia de Mexico**, 2019.

VANDENPLAS, Y. et al. Prevention of allergic sensitization and treatment of cow's milk protein allergy in early life: The middle-east step-down consensus. **Nutrients**, v. 11, n. 7, 2019.

VELDE, J. L. VAN DER; BLOK, B. M. J. F.; GROOT, H. DE. Food allergy – related quality of life after double-blind , placebo-controlled food challenges in adults , adolescents , and children. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 130, n. 5, p. 1136- 1143.e2, 2012.

World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 21, p. 1–125, 1 jul. 2010.

ARTIGO 1**Patients profile with cow's milk protein allergy undergoing oral tolerance test in a tertiary service in Fortaleza, Ceará**

Authors: Lia Maria Bastos Peixoto Leitão¹; Janáira Fernandes Severo Ferreira²; Paula Vitória Pereira Motoyama³; Manuel Sampaio Teixeira Filho³, Olivia Andrea Alencar Costa Bessa⁴

¹Master's student in the Medical Sciences Program at the University of Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, Ceará, Brazil

²Pediatric physician, allergist and coordinator of the Allergy Service of the Albert Sabin Children's Hospital

³Scientific initiation students of the Medicine course at the University of Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, Ceará, Brazil

⁴Professor of the Master's Program in Medical Sciences at the University of Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, Ceará, Brazil

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the sociodemographic and clinical profile of children with cow's milk protein allergy (CMPA) submitted to the oral food challenge (OFC). **Methods:** Cross-sectional study carried out in an allergy outpatient clinic with 82 children diagnosed with IgE-mediated, non-IgE-mediated and mixed CMPA, submitted to an OFC to assess tolerance. Patients were also assessed for OFC tolerance as non-tolerant and tolerant. **Results:** 82 patients were included in this study, divided into three comparison groups: 61 (74.4%) IgE-mediated, 7 (8.5%), non-IgE-mediated and 14 (17.07%) mixed CMPA. The family history of food allergy was present in all patients. In the group of non-tolerant, most children have exclusive breastfeeding time, age of using formula and age of food introduction between 4th and 6th months. It was observed a significant correlation ($p = 0.031$) between the group of non-tolerant and the use of formula at home ($p = 0.033$). In the tolerant group there was a predominance of exclusive breastfeeding time between 4th and 6th months and the age of most frequent use of formula was "less than one month". For non-IgE-mediated CMPA patients, a significant correlation was identified in the item "formula use with <1 month" ($p < 0.001$) or "between 1 to 4 months" ($p < 0.001$). **Conclusions:** patients non-IgE-mediated correlated significantly with the use of formula in age below 6 months and the use of the formula at home increased the chance of non-tolerance to CMPA by five times. Studies of population description are important for the characterization of loco-regional variability.

Keywords: 1. Hypersensitivity to milk; 2. Immediate hypersensitivity; 3. Child;

INTRODUCTION

Cow's milk protein allergy (CMPA) is the most common food allergy (FA) in the pediatric population, affecting 2 to 5% of children under two years of age^{1,2}

The immunological mechanisms involved in CMPA characterize three groups of clinical manifestations with different prognoses: IgE-mediated, non-IgE-mediated and mixed CMPA. The diagnosis of CMPA is based on anamnesis, physical examination, tests for the detection of specific IgE and a diet of exclusion of cow's milk protein (CMP) followed by the oral food challenge (OFC) in a controlled environment³.

The OFC is considered the gold standard for diagnosing FA and for assessing the acquisition of food tolerance. The test is carried out with the ingestion of the suspect food for the documentation of aspects such as the nature of the signs and symptoms presented and the minimum amount necessary to elicit them, being possible to define if there is a need for restriction to CMP⁴.

Studies have sought to establish correlations between clinical parameters, serum tests for CMP sensitivity and the outcome of OFC, in order to optimize the time of diagnosis and assessment of tolerance, but with varied and sometimes inconclusive results^{5,6}.

The objective of this study is to evaluate the sociodemographic and clinical profile of children with CMPA submitted to the OFC.

MATERIALS AND METHODS

This is an observational and cross-sectional study carried out from October 2018 to September 2019 at the Albert Sabin Children's Hospital (HIAS), located in the city of Fortaleza, Ceará.

The population consisted of patients with CMPA followed up at the allergy clinic at HIAS who were referred to the hospital for the performance of the OFC. The sample was selected by convenience, with a total of 82 children diagnosed with IgE-mediated, non-IgE-mediated and mixed CMPA.

Patients diagnosed with CMPA, aging from zero to 18 years, with a history of reaction to CMP in the last 6 months, on a CMP exclusion diet and who would be submitted to OFC were included, either with fresh or processed CMP. Infants and children without definitive clinical and laboratory diagnosis of CMPA, children with chronic diseases in other organic systems (neuropathies, heart diseases, severe somatic malformations, genetic diseases and others) and patients who did not undergo OFC

(missing, use of recent antihistamines, in the presence of infection) or did not finish the test (non-acceptance of food by the child, subjective symptoms) until the second moment of the collection period were excluded. Data collection was carried out through an interview with a questionnaire.

The OFC assessed the CMP tolerance of children with CMPA, being performed in a hospital environment, with an open multidisciplinary team, according to the HIAS protocol, adapted to the guidelines of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology^{7,8}. The OFC was not interrupted during subjective symptoms (abdominal pain, refusal to eat, sneezing, non-urticarial skin lesions, among others).

Patients who showed reactions (positive result) to OFC were classified as non-tolerant and continue on the diet with restriction or exemption to CMP until a new test. Patients who do not react to CMP consumption (negative), were classified as tolerant, being released for CMP consumption according to clinical recommendations¹.

The project was approved by the Ethics Committee of Albert Sabin Children's Hospital, under the number CAAE: 90496618.0.0000.5042 (ANNEX 1). All guardians signed the Free and Informed Consent Form before applying the questionnaires. Patients aged 10-18 years also signed an informed consent form.

Differences between categorical variables were analyzed using the Chi-square or Fischer's exact test. Multinomial logistic regression analysis (MLR) was performed to obtain the *odds ratio* (OR) and 95% confidence interval (CI) values for variables with significant statistical results obtained by the Chi-square or exact S test Fischer. For quantitative variables, the Shapiro-Wilk test was used. For variables with parametric distribution, Student's t test was used and for non-parametric variables, the Mann-Whitney test. A probability level of $p < 0.05$ was adopted.

RESULTS

It was included 82 patients in this study, divided into three comparison groups: 61 (74.4%) IgE mediated, 7 (8.5%), non-IgE-mediated and 14 (17.07%) mixed CMPA, as shown in Table 1. There was a prevalence of male and brown race patients in the three groups. Non-IgE-mediated and mixed CMPA patients had more complications during delivery when compared to the IgE-mediated CMPA group. The three groups were positive for pregnancy complications, and the non-IgE-mediated CMPA exhibited the highest percentage.

Table 1. Sociodemographic and perinatal characteristics of patients with IgE-mediated, non-IgE-mediated and mixed CMPA, Fortaleza, Ceará, 2018-2019.

Variables	CMPA Groups						P-value
	IgE Mediated		Non-IgE-Mediated		Mixed		
	N	%	N	%	N	%	
Average age (months) ± SD	32 ± 25	-	25 ± 23		35 ± 19	-	0.898
Sex							
Masculin	34	55.7	5	71.4	9	64.3	0.700
Feminin	27	44.3	2	28.6	5	35.7	
Ethnicity							
White	17	27.9	2	28.6	5	35.7	0.280
Brown	44	72.1	5	71.4	8	57.1	
Black	0	0,0	0	0.0	1	7.1	
Type of delivery							
Vaginal	13	21.3	2	28.6	3	21.4	1.000
Cesarean	48	78.7	5	71.4	11	78.6	
Complications during delivery							
Yes	17	27.9	3	42.9	6	42.9	0.469
No	44	72.1	4	57.1	8	57.1	
Gestational Age							
< 37 weeks	4	6.7	1	14.3	0	0.0	0.452
Between 37 weeks and ≤ 41 weeks	49	81.7	6	85.7	11	78.6	
> 41 weeks	7	11.7	0	0.0	3	21.4	
Complications in pregnancy							
Yes	15	31.2	4	80.0	3	50.0	0.091
No	33	68.8	1	20.0	3	50.0	

SD: Standart deviation

Regarding dietary factors, most children had exclusive breastfeeding time between 4 and 6 months, with age of use of food formula between 4 and 6 months (table 2).

The age of antibiotic use differed between the groups, with the “between 12 to 18 months” range being more frequent in the IgE-mediated and non-IgE-mediated CMPA and the “between 6 to 12 months” range in the mixed CMPA, as seen in table 2.

The allergic comorbidities present in each type of CMPA differed in frequency, being the respiratory and food allergy the most frequent in IgE-mediated CMPA; in non-IgE-mediated CMPA, respiratory and skin allergies were the most cited; and in mixed CMPA it was observed no difference between comorbidities (table 2). The most cited family allergy was respiratory in the three groups (table 2).

The comparative analysis between the groups revealed some factors with significant correlation. A correlation was identified between "formula use with <1 month"

($p < 0.001$; OR = 14.844; 95% CI = 1.088-202.536) or "between 1 month to 4 months" ($p < 0.001$; OR = 44.533; 95% CI = 1.243-1595.008) in non-IgE-mediated CMPA patients.

Table 2: Dietary, clinical and family characteristics of patients with patients with IgE-mediated, non-IgE-mediated and mixed CMPA, Fortaleza, Ceará, 2018-2019

Variables	CMPA Groups						p-value
	IgE Mediated		Non-IgE-Mediated		Mixed		
	N	%	N	%	N	%	
Exclusive breastfeeding period							
< 1 Month	4	6.6	0	0.0	2	14.3	0.089
Between 1 and \leq 4 months	14	23.0	0	0.0	3	21.4	
> 4 and \leq 6 months	39	63.9	5	71.4	6	42.9	
> 6 months	2	3.3	0	0.0	2	14.3	
Never been breastfed	2	3.3	2	28.6	1	7.1	
Use of food formula							
Only at the hospital at birth	2	3.4	1	14.3	3	21.4	0.167
Only at home	30	50.8	4	57.1	5	35.7	
At the hospital at birth and at home	27	45.8	2	28.6	6	42.9	
Age of onset of food formula use							
< 1 Month	12	19.7	3	42.9	9	64.3	0.019
Between 1 month and 4 months	15	24.6	1	14.3	1	7.1	
> 4 months and < 6 months	20	32.8	3	42.9	1	7.1	
> 6 months	14	23.0	0	0.0	3	21.4	
Age of food introduction							
> 6 months	12	19.7	2	28.6	2	14.3	0.717
Between 4 and 6 months	49	80.3	5	71.4	12	85.7	
Age of onset of use of antibiotics							
Never used antibiotics	6	9.8	0	0.0	0	0.0	0.251
< 1 month	4	6.6	2	33.3	1	7.7	
Between 1 Month and \leq 6 months	14	23.0	1	16.7	1	7.7	
> 6 months and \leq 12 months	15	24.6	0	0.0	6	4.2	
> 12 months and \leq 18 months	19	31.1	3	50.0	4	30.8	
> 18 months and \leq 24 months	3	4.9	0	0.0	1	7.7	
History of family food allergy							
Yes	42	68.9	5	71.4	13	92.9	0.227
No	19	31.1	2	28.6	1	7.1	
History of other family allergies							
Drug allergy	2	4.3	1	14.3	2	15.4	0.397
Skin allergy	1	2.1	0	0.0	1	7.7	
Respiratory allergy	38	80.9	6	85.7	10	76.9	
Other Food allergy	6	12.8	0	0.0	0	0.0	
Patients' other allergies							
Drug allergy	3	8.1	0	0.0	2	18.2	0.745
Skin allergy	6	16.2	2	40.0	3	27.3	
Respiratory allergy	14	37.8	2	40.0	3	27.3	
Other food allergy	14	37.8	1	20.0	3	27.3	
Onset of CMPA symptoms							
< 1 month	5	8.2	1	14.3	4	28.6	0.509
Between 1 and \leq 6 months	43	70.5	5	71.4	7	50.0	
> 6 months and \leq 12 months	10	16.4	1	14.3	2	14.3	
> 1 months	3	4.9	0	0.0	1	7.1	

Tables 3 and 4 show the comparison of the two groups (tolerant and non-tolerant), which include IgE-mediated, non-IgE-mediated and mixed CMPA patients.

In the group of non-tolerant OFC patients, it was observed that the most frequent allergic comorbidities in the children were respiratory allergy, food allergy and skin allergy and the most frequent period of onset of CMPA symptoms was between 1 and 6 months (Table 4). There was a predominance of a positive family food allergy history, with family allergies most often cited as respiratory allergy and drug allergy (Table 3).

Table 3: Sociodemographic and perinatal characteristics of patients with CMPA according to the OFC result, in a tertiary service in Fortaleza, Ceará, 2018-2019.

Variables	Oral Food Challenge				p-value
	Non tolerant		Tolerant		
	N	%	N	%	
Age (months) ± ST	31 ± 13	-	40 ± 27	-	0.313
Sex					
Masculin	5	41.7	42	61.8	0.218
Feminin	7	58.3	26	38.2	
Ethnicity					
White	3	25.0	19	27.9	1.000
Brown	9	75.0	48	70.6	
Black	0	0.0	1	1.5	
Type of delivery					
Vaginal	5	41.7	13	19.1	0.129
Cesarean	7	58.3	55	80.9	
Delivery complications					
Yes	4	33.3	21	30.9	1.000
No	8	66.7	47	69.1	
Gestational Age					
< 37 weeks	0	0.0	5	7.5	0.598
Between 37 weeks and ≤ 41 weeks	11	91.7	53	79.1	
> 41 weeks	1	8.3	9	13.4	
Complications during pregnancy					
Yes	2	22.2	18	37.5	0.471
No	7	77.8	30	62.5	

ST: Standart deviation

In the group of patients with OFC tolerance, most children had exclusive breastfeeding time between 4 and 6 months, with age of use of food formula between 4 months and 6 months; the most frequent age of antibiotic use was between 1 and 6 months (table 4).

In the group of non-tolerant OFC patients, the onset of CMPA symptoms was observed between 1 and 6 months. The predominant allergic comorbidities were other food allergies and respiratory allergies. The family history of allergy was mostly positive, with emphasis on respiratory type allergy (Table 4).

The comparative analysis between the groups showed a significant correlation ($p = 0.031$) between the group of non-tolerant OFC patients and the use of formula at home. Patients who used formula at home were around five times more likely to be OFC non-tolerant when analyzed by MLR ($p = 0.033$; OR = 5.714; 95% CI = 1.153-28.322).

Table 4: CMPA patients' dietary, clinical and family characteristics according to the outcome of OFC, in a tertiary service in Fortaleza, Ceará, 2018-2019.

Variables	Oral Food Challenge				p-value
	Non tolerant		Tolerant		
	N	%	N	%	
Exclusive breastfeeding period					
< 1 Month	2	16.7	4	5.9	0.495
Between 1 month e \leq 4 months	2	16.7	14	20.6	
> 4 months and \leq 6 months	8	66.7	41	60.3	
> 6 months	0	0.0	4	5.9	
Never been breastfed	0	0.0	5	7.4	
Use of food formula					
Only at the hospital at birth	0	0.0	6	9.1	0.031
Only at home	10	83.3	28	42.4	
At the hospital and at home	2	16.7	32	48.5	
Age of onset of use of food formula					
< 1 Month	1	8.3	23	33.8	0.222
Between 1 month and \leq 4 months	2	16.7	15	22.1	
> 4 months and \leq 6 months	5	41.7	17	25.0	
> 6 months	4	33.3	13	19.1	
Age of food introduction					
> 6 months	1	8.3	15	22.1	0.442
Between 4 and \leq 6 months	11	91.7	53	77.9	
Age of onset of use of antibiotics					
Never used antibiotics	0	0.0	6	9.1	0.246
< 1 Month	0	0.0	6	9.1	
Between 1 Month and \leq 6 months	5	41.7	10	15.2	
> 6 months and \leq 12 months	3	25.0	18	27.3	
>12 months and \leq 18 months	4	33.3	22	33.3	
>18 months and \leq 24 months	0	0.0	4	6.1	
History of family food allergy					
Yes	7	58.3	51	75.0	0.295
No	5	41.7	17	25.0	
History of other family food allergy					
Drug allergy	2	25.0	3	5.3	0.136
Skin allergy	0	0.0	2	3.5	
Respiratory allergy	6	75.0	46	80.7	
Food allergy	0	0.0	6	10.5	
Patient's other allergy					
Drug allergy	0	0.0	5	10.6	1.000
Skin allergy	1	20.0	10	21.3	
Respiratory allergy	2	40.0	16	34.0	
Other food allergy	2	40.0	16	34.0	
Onset of CMPA symptoms					
< 1 months	1	8.3	9	13.2	0.246
Between 1 e \leq 6 months	7	58.3	46	67.6	
> 6 months and \leq 12 months	2	16.7	11	16.2	

> 12 months	2	16.7	2	2.9
-------------	---	------	---	-----

DISCUSSION

Several studies have sought to establish correlations between clinical parameters and the outcome of OFC, in order to optimize the diagnostic, but with varied and sometimes inconclusive results^{1,9,10}.

Many factors are related to CMPA, which can be classified as risk and protective factors^{1,9,10}. Data such as family history of allergy, cesarean delivery, male gender, allergic comorbidities, early weaning, use of antibiotics in pregnancy or by the child, prematurity, microflora composition and late exposure to allergens have been described as risk factors for allergy^{1,11}. On the other hand, vaginal delivery, no use of infant formula in the hospital at birth, exclusive breastfeeding until 6 months of age and the beginning of food introduction after 6 months of age have been described as protective factors¹¹⁻¹³.

In our study, the most cited allergic comorbidities in all clinical types of CMPA are factors frequently linked to the development of food allergy in the pediatric population, as already demonstrated in other articles, with varying frequencies¹⁴⁻¹⁶. This suggests the importance of collecting this data during the patient's anamnesis as a risk factor for the development of CMPA.

In the OFC tolerant group, it was observed a different distribution from that found in the literature for some parameters, such as the type of delivery and exclusive breastfeeding time between 4 and 6 months. Both cesarean delivery and duration of exclusive breastfeeding less than 6 months are established risk factors, but with greater frequency in OFC tolerant patients^{1,12}. This may be due to the specific characteristics of the population under analysis, as well as the type of study and sample size.

In relation to the types of CMPA and its clinical parameters, we highlight factors described as protective, but with a different distribution from that found in the literature, that is allergic patients with fewer complications in childbirth, with gestational age at term and with exclusive breastfeeding time above 4 months to 6 months^{1,14}.

These results may be related to the limitations of the study (reduced number of patients, unpaired data) and to the locoregional differences in this population, which supports the need for population characterization studies to better establish the profile of these patients.

The present study demonstrated that non-IgE-mediated CMPA patients are significantly correlated with the use of formula before one month of age and between one and four months. It also demonstrated that patients who used formula at home had about five times more chance of OFC non-tolerance.

The early introduction of infant formula, as well as food introduction, has been a reality in the current family structure, due to the labor, cultural and sometimes family demands imposed on lactating women^{14,15}. However, the preference for this type of CMP can lead to a decrease in the period of exclusive breastfeeding, which contributes to the occurrence of changes in the child's microbiota and immune development, which can culminate in the breakdown of tolerance to CMP and the development of allergic conditions¹⁶⁻¹⁸.

CONCLUSION

It is concluded that the profile of patients with CMPA submitted to the OFC is mostly of the IgE-mediated type, male, brown race and with onset of CMPA symptoms between 1 and 6 months of age. The early introduction of food formulas (<6 months of age) was observed in most of the children analyzed; this correlation is significant in non-IgE-mediated CMPA patients, as there is a five-fold increase in the chance of non-tolerance to CMP. In non-tolerant OFCs, the most frequent allergic comorbidities were respiratory allergy, food allergy and skin allergy.

It is important to know the profile of these children, since different populations of CMPA seem to result in different clinical parameters, and studies on the characterization of patients with this condition are important for the documentation of loco-regional variability, which can contribute to the development of follow-up adapted to the reality of these patients and to the recognition of possible risk and protection factors.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Financial support

This research did not receive any specific funding.

REFERENCES

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):7–38.
2. Toca MC, Roman-Riechmann E, Vázquez-Frías R, Batista de Morais M, Sosa P, Boggio-Marzet C, et al. A Latin American pediatric gastroenterology group's understanding of cow's milk protein allergy diagnosis and treatment: Results of a survey by the Food Allergy Working Group of the Sociedad Latinoamericana de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pe. **Rev Gastroenterol Mex** [Internet]. 2019; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rgmex.2019.08.002>
3. Solé D, Amancio OMS, Jacob CM a., Cocco RR, Sarni ROS, Suano F, et al. Guia Prático Guia prático de diagnóstico e tratamento da Alergia às Proteínas do Leite de Vaca mediada pela imunoglobulina E. **Rev bras alerg imunopatol.** 2012;35(6):203–33.
4. Horvatic LB, -Silva DCC, Riedi CA, Chong-Neto HJ, Rosário NA. Utilidade do teste de provocação oral aberto no diagnóstico de alergia alimentar. **Brazilian J Allergy Immunol.** 2018;2(4):458–62.
5. 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;2(1):39–82.
6. Van Der Velde JL, Flokstra-De Blok BMJ, De Groot H, Oude-Elberink JNG, Kerkhof M, Duiverman EJ, et al. Food allergy-related quality of life after double-blind, placebo-controlled food challenges in adults, adolescents, and children. **J Allergy Clin Immunol** [Internet]. 2012;130(5):1136-1143.e2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.05.037>
7. Muraro A, Agache I, Clark A, Sheikh A, Roberts G, Akdis CA, et al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines: Managing patients with food allergy in the community. **Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.** 2014;69(8):1046–57.
8. Sampson HA, Aceves S, Bock SA, James J, Jones S, Lang D, et al. Food allergy: A practice parameter update - 2014. **J Allergy Clin Immunol.** 2014;134(5):1016-1025.e43.
9. Fiocchi A, Brozek J, Schünemann H, Bahna SL, Berg A Von, Beyer K, et al. World allergy organization (WAO) diagnosis and rationale for action against cow's milk allergy (DRACMA) guidelines. **Pediatr Allergy Immunol.** 2010;21(SUPPL. 21):1–125.
10. Koletzko S, Niggemann B, Arato A, Dias JA, Heuschkel R, Husby S, et al. Diagnostic approach and management of cow's-milk protein allergy in infants and children: Espghan gi committee practical guidelines. **J Pediatr Gastroenterol Nutr.** 2012;55(2):221–9.

11. Prescott S, Nowak-Wgrzyn A. Strategies to prevent or reduce allergic disease. **Ann Nutr Metab.** 2011;59(SUPPL. 1):28–42.
12. Caldeira F, da Cunha J, Ferreira MG. Alergia a proteínas de leite de vaca um desafio diagnóstico. **Acta Med Port.** 2011;24(4):505–10.
13. Sánchez-García S, Cipriani F, Ricci G. Food Allergy in childhood: Phenotypes, prevention and treatment. **Pediatr Allergy Immunol.** 2015;26(8):711–20.
14. Fuertes E, Standl M, Von Berg A, Lehmann I, Hoffmann B, Bauer CP, et al. Parental allergic disease before and after child birth poses similar risk for childhood allergies. **Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.** 2015;70(7):873–6.
15. Sardecka I, Los-Rycharska E, Ludwig H, Gawryjołek J, Krogulska A. Early risk factors for cow's milk allergy in children in the first year of life. **Allergy Asthma Proc.** 2018;39(6):e44–54.
16. Vandenplas Y, Al-Hussaini B, Al-Mannaie K, Al-Sunaid A, Ayesb WH, El-Degeir M, et al. Prevention of allergic sensitization and treatment of cow's milk protein allergy in early life: The middle-east step-down consensus. **Nutrients.** 2019;11(7).
17. Amaral LJX, Sales S dos S, Carvalho DP de SRP, Cruz GKP, Azevedo IC de, Ferreira Júnior MA. Fatores que influenciam na interrupção do aleitamento materno exclusivo em nutrizes. **Rev Gaúcha Enferm.** 2015;36(spe):127–34.
18. Mendes SC, Lobo IKV, Sousa SQ de, Vianna RP de T. Fatores relacionados com uma menor duração total do aleitamento materno. **Cien Saude Colet.** 2019;24(5):1821–9.
19. Rachid R, Chatila TA. The role of the gut microbiota in food allergy. **Curr Opin Pediatr.** 2016;28(6):748–53.
20. Matsumoto N, Yorifuji T, Nakamura K, Ikeda M, Tsukahara H, Doi H. Breastfeeding and risk of food allergy: A nationwide birth cohort in Japan. **Allergol Int** [Internet]. 2020;69(1):91–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.alit.2019.08.007>
21. Satitsuksanoa P, Jansen K, Głobińska A, van de Veen W, Akdis M. Regulatory immune mechanisms in tolerance to food allergy. **Front Immunol.** 2018;9(December):1–9.

The role of the Oral Food Challenge for the evaluation of patients with IgE-mediated cow's milk protein allergy

Authors: Lia Maria Bastos Peixoto Leitão¹; Janáira Fernandes Severo Ferreira²; Paula Vitória Pereira Motoyama³; Manuel Sampaio Teixeira Filho³, Olivia Andrea Alencar Costa Bessa⁴

¹Master's student in the Medical Sciences Program at the University of Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, Ceará, Brazil

²Pediatric physician, allergist and coordinator of the Allergy Service of the Albert Sabin Children's Hospital

³Scientific initiation students of the medicine course at the University of Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, Ceará, Brazil

⁴Professor of the Master's Program in Medical Sciences at the University of Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, Ceará, Brazil

ABSTRACT

Objectives: To analyze the role of the oral food challenge (OFC) in assessing the tolerance of patients with IgE-mediated cow's milk protein allergy (CMPA). **Methods:** Cross-sectional study, carried out in a hospital with 59 children diagnosed with IgE-mediated CMPA, submitted to an OFC to assess tolerance. Two groups resulted from the following outcome: (1) non-tolerant (with symptoms suggestive of food allergy during the test) and (2) tolerant (without symptoms). **Results:** It was observed (respectively non-tolerant and tolerant): a predominance of respiratory (40% vs. 35.5%) and food (40% vs. 38.7%) allergic comorbidities; the main period of onset of symptoms between 1 and 6 months (58.3% vs. 72.3%); family's history for food (58.3% vs. 70.2%) and respiratory (75% vs. 81.1%) allergy ($p = 0.025$); exclusive breastfeeding time between 4 and 6 months (66.7% vs. 63.8%); age of food introduction between 4 and 6 months (91.7% vs. 76.6%). There were a significant association between IgE levels and the outcomes; in non-tolerant and tolerant groups the probability of IgE values ≤ 10 for alfa-lactalbumin ($p = 0.003$); beta-lactalbumin ($p = 0.003$) and casein ($p = 0.005$) were lower and higher, respectively. **Conclusions:** We identified a significant association between CMPA IgE-mediated and respiratory and food allergies in the patient's family ($p = 0.025$); and between CMPA IgE-mediated and IgE values > 10 , which increases the probability of a non-tolerant outcome. The OFC follows as the gold standard for the test of tolerance acquisition in CMPA. We suggest further studies to define cutoff points for this population.

Keywords: Hypersensitivity to milk; 2. immediate hypersensitivity; 3. child;

INTRODUCTION

Food allergy (FA) is an adverse reaction that occurs from exposure to a food, causing a specific and reproducible immune response in new exposures¹. Its prevalence and incidence have grown exponentially in recent years, and is already considered a public health problem. An increase in prevalence from 3.7% in the period 1997-1999 to 5.1% between 2009 and 2011 is described in patients aged 0 to 17 years²⁻⁴.

Cow's milk protein allergy (CMPA) is the most frequent FA in the pediatric population, affecting 2 to 5% of children under two years of age^{5,6}. In Brazil, a cross-sectional observational study carried out in 20 Brazilian cities collected data in 2004 showing a 5.4% prevalence of CMPA and an incidence of 2.2% among the services evaluated, respectively⁷.

Several methods make up the diagnostic arsenal of CMPA, but the oral food challenge (OFC) is considered the gold standard for diagnosing FA and for assessing the acquisition of food tolerance^{8,9}. When properly indicated and done in safe conditions, OFC has the property of returning the quality of life of patients under restrictive diets and with unpleasant experiences due to adverse reactions to cow's milk protein (CMP)^{10,11}.

Studies have sought to establish correlations between clinical manifestations, serum tests for CMP sensitivity and the outcome of the OFC, in order to optimize the diagnostic time, but with varied and sometimes inconclusive results. It is observed that different diameters in skin tests and serum IgE titrations correlate with different clinical manifestations, with a difficulty in establishing the cutoff points due to the variability of the populations studied, the laboratory methods used and the clinical manifestations^{10,11}.

The present study aims to analyze the role of the OFC to assess tolerance of patients with allergy to IgE-mediated CMPA.

METHODS

This is an observational, cross-sectional, prospective study conducted at the tertiary hospital of Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS), located in the city of Fortaleza, Ceará. After approval by the HIAS research ethics committee (CAAE: 90496618.0.0000.5042), the data were collected using a written questionnaire.

Children and adolescents diagnosed with CMPA, from zero to 18 years of age, who were submitted to the OFC for oral tolerance assessment, whether with raw or processed CMP, were included. Infants and children without definitive clinical and laboratory diagnosis of CMPA IgE-mediated were excluded from the study.

OFC was identified as a dependent variable and data related to socioeconomic, demographic, clinical and laboratory characteristics, among others, were the independent variables. Two groups were analyzed with the following outcome variables: (1) non-tolerant OFC (child had clinical symptoms suggestive of food allergy during the execution of the test protocol) and (2) tolerant OFC (child without symptoms of food allergy) during the oral provocation test).

IgEs specific for alfa-lactalbumin, beta-lactoglobulin and casein (Immucap, Phadia, MA, USA) were analyzed. Patients with a measurement less than 0.1 KUA/L were considered negative and patients with values greater than or equal to 0.1 KUA/L for CMPA were considered positive. A cutoff point of 10 KUA/L was considered for the evaluation of patients with positive IgE for cow's milk and fractions, with two groups: (1) group with values from 0.1 to 10 KUA/L and (2) group with values above 10 KUA/L.

These values were adopted empirically, based on the experience of the HIAS service, taking into account the values most frequently observed by the team of allergists in the examinations of the monitored patients.

The OFC assessed the tolerance of children already diagnosed with IgE-mediated CMPA. They were performed in a hospital environment, with an open multidisciplinary team, according to the HIAS protocol, adapted to the guidelines of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (AAAAI) and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI)^{12,13}.

Parents were previously instructed on the steps to perform the test, the need to suspend medications such as antihistamines and not to be in the process of infectious processes, as well as the potential risks of reaction. CMP was administered in increasing quantities according to the previous clinical and laboratory evaluation and patient acceptance. Patients were observed for up to two hours in a hospital environment after eating the food. In the presence of signs and symptoms suggestive of an allergic reaction (urticaria, cough, nausea, vomiting, diarrhea, tiredness, among others) the test was considered positive and interrupted to support the patient. OFC was not interrupted during subjective symptoms (abdominal pain, refusal to eat, sneezing, and others).

Statistical analysis

The data obtained were analyzed by obtaining their absolute and relative frequencies (%) for qualitative variables. Differences between categorical variables were analyzed using the Chi-square (χ^2) or Fischer's exact test. Multinomial logistic regression analysis was performed to obtain the values of odds ratio (OR) and 95% of the confidence interval (CI) for variables with significant statistical results obtained by the Chi-square inference test or Fischer exact test among the variables that obtained p values <0.05 .

For quantitative variables, the Shapiro-Wilk test was used. For variables with parametric distribution, the Student t test was used and for non-parametric variables, the Mann-Whitney test was used.

RESULTS

Fifty-nine children with IgE-mediated CMPA were included. Patients who did not manifest reactions to the OFC were considered tolerant ($n = 47$; 79.6%) and those who presented objective signs and symptoms during the test were considered non-tolerant ($n = 12$; 20.4%). The average age of tolerant patients was greater than that of non-tolerant patients, 40 months and 31 months respectively, but without statistical significance. Male gender was predominant in the tolerant group and there was no difference in ethnicity in the two groups (table 1).

The most frequent allergic comorbidities were respiratory allergy, skin allergy and food allergy; the most frequent period of onset of CMPA symptoms was between 1 and 6 months (table 1).

Table 1. Sociodemographic and perinatal characteristics related to CMPA IgE-mediated child, who underwent OFC in a tertiary service in Fortaleza, Ceará, 2018-2019.

Variables	Oral Food Challenge				<i>p</i> -value
	Non tolerant		Tolerant		
	N	%	N	%	
Average age (months \pmSD)	31 \pm 13	-	40 \pm 27	-	0.313
Sex					
Masculin	5	41.7	28	59.6	0.336
Feminin	7	58.3	19	40.4	
Ethnicity					
White	3	25.0	12	25.5	1.000
Brown	9	75.0	35	74.5	
Gestacional Age					

< 37 weeks	0	0.0	4	8.7	
Between 37 and ≤ 41 weeks	11	91.7	36	78.3	0.587
> 41 weeks	1	8.3	6	13.0	
Complications during pregnancy					
Yes	2	22.2	11	29.7	
No	7	77.8	26	70.3	0.712

SD: Standard deviation

The predominant age of onset of CMPA symptoms was between one and six months in both groups. The children had other allergy symptoms, in addition to CMPA, with a predominance of respiratory allergy in both groups, without statistical significance. A family history of food allergy was found in both groups and other allergies, with a predominance of respiratory and food types, with a significant association ($p = 0.025$), as seen in Table 2.

Most children had exclusive breastfeeding time and food introduction between 4 and 6 months, aged between 4 months and 6 months. The use of formula between 4 and 6 months was predominant in the group of non-tolerant children (table 2).

The use of antibiotics early, before six months of age, was more common in the group of non-tolerant children (Table 2).

Table 2. Clinical, family and dietary characteristics of patients with CMPA IgE-mediated who underwent OFC in a tertiary service in Fortaleza, Ceará, 2018-2019.abela 2.

Variables	Oral Food Challenge				p-value
	Non tolerant		Tolerant		
	N	%	N	%	
CMPA symptoms onset					
< 1 month	1	8.3	4	8.5	
Between 1 and 6 months	7	58.3	34	72.3	0.255
Patients other allergies					
Drug allergies	0	0.0	3	9.7	1.000
Skin allergy	1	20.0	5	16.1	
Respiratory allergy	2	40.0	11	35.5	
History of family food allergy					
Yes	7	58.3	33	70.2	
No	5	41.7	14	29.8	0.497
History of family other allergies					
Drug allergies	2	25.0	0	0.0	
Skin allergy	0	0.0	1	2.7	
Respiratory allergy	6	75.0	30	81.1	0.025
Food introduction age					
> 6 months	1	8.3	11	23.4	0.427
Between 4 and ≤ 6 meses	11	91.7	36	76.6	
Exclusive breastfeeding period					
< 1 Month	2	16.7	2	4.3	0.427
Between 1 month e ≤ 4 months	2	16.7	11	23.4	
> 4 months and ≤ 6 months	8	66.7	30	63.8	
> 6 months	0	0.0	2	4.3	

Never been breastfed	0	0.0	2	4.3	
Age of onset of food formula use					
< 1 Month	1	8.3	11	23.4	0.479
Between 1 month and \leq 4 months	2	16.7	13	27.7	
> 4 months and \leq 6 months	5	41.7	13	27.7	
> 6 meses	4	33.3	10	21.3	
Age of onset of antibiotic use					
Never used antibiotics	0	0.0	6	12.8	0.356
< 1 Month	0	0.0	3	6.4	
Between 1 month and \leq 6 months	5	41.7	8	17.0	
> 6 months and \leq 12 months	3	25.0	12	25.5	
> 12 months and \leq 18 months	4	33.3	15	31.9	
>18 months and 24 months	0	0.0	3	6.4	

There was a greater prevalence of IgE for cow's milk (CM) between 0.1 to \leq 10 KUA/L in tolerant patients, but without statistical significance. However, there was a significant association between the CM immunoglobulin fractions and the OFC outcome. Tolerant patients had levels of specific IgE for alfalactoalbumin, betalactoalbumin and casein below 10 KUA/L (table 3).

Table 3. Stratification of specific IgE immunoglobulins in CMPA IgE-mediated children who underwent OFC in a tertiary service in Fortaleza, Ceará, 2018-2019.

Variables	Oral Food Challenge				p-value
	Non tolerant		Tolerant		
	N	%	N	%	
Total IgE for CM					
0.1 and \leq 10 KUA/L	7	58.3	33	75.0	0.293
>10 KUA/L	5	41.7	11	25.0	
Alfalactoalbumin IgE					
0.1 and \leq 10 KUA/L	6	50.0	40	90.9	0.004
>10 KUA/L	6	50.0	4	9.1	
Betalactoalbumin IgE					
0.1 a \leq 10 KUA/L	6	50.0	40	90.9	0.004
>10 KUA/L	6	50.0	4	9.1	
Casein IgE					
0.1 a \leq 10 KUA/L	6	50.0	40	8.9	0.007
>10 KUA/L	6	50.0	5	11.1	

The comparative analysis between the two groups isolated the factors with respect to the outcome. It was observed that IgE-mediated patients, less than or equal to 10 KUA/L, specific for alfalactoalbumin, betalactoalbumin and casein, have between 8 and 10 times more chance of presenting tolerance in the OFC (table 4).

Table 4: Factors associated with tolerance in CMPA IgE-mediated children who underwent OFC in a tertiary service in Fortaleza, Ceará, 2018-2019.

Variables	OR	IC 95%	Valor p
Alfalactoalbumin IgE	10.0	2.168-46.121	0.003
Betalactoalbumin IgE	10.0	2.168-46.121	0.003
Casein IgE	8.0	1.850-34.604	0.005

IC95%=interval of confidence 95%; OR=*odds ration*

DISCUSSION

CMPA alters the quality of life of patients, as they are on restrictive, costly diets that are difficult to monitor outside the home environment. OFC is considered the gold standard for the diagnosis of CMPA because it assesses the acquisition of tolerance, confirms the diagnosis of food allergy, reduces the risk of accidental exposure, reduces the anxiety of parents and children about the unknown and validates the patient's effort and their families to avoid food^{8,10,11,13}.

Our study sought to assess clinical and laboratory factors with the outcome of OFC in IgE-mediated children and adolescents, the first investigation being carried out in the state of Ceará.

We found a significant association of cases of CMPA IgE-mediated patients (tolerant or not) with cases of familial respiratory and food allergies. These two allergic comorbidities are factors frequently linked to the development of FA by the child, as already demonstrated in other articles, with varying frequencies¹⁴⁻¹⁶. This corroborates with the literature and suggests the importance of collecting this data during the patient's anamnesis as a risk factor.

We observed a discrepancy in the frequency distribution of some characteristics in relation to what is reported in the literature (gender, type of delivery, complications of delivery, gestational age, onset of CMPA symptoms, history of family food allergy, exclusive breastfeeding time, age introduction). This result may be related to the limitations of the study (reduced number of patients, unpaired data), as well as to locoregional differences characteristic of this population, and further studies of population description are suggested to establish this profile of patients with CMPA IgE-mediated.

We found significant associations between IgE fraction values and the OFC outcome, with a greater chance of tolerance in patients with IgE values below 10 KUA/L.

These data corroborate what is described in the literature, and several cutoff points have been suggested for laboratory tests with varied results and evaluation methods. Celik-Bilgili et al. demonstrated values of 88.8 kUA/L, with 90% positive predictive value (PPV) for the chance of reaction to OFC¹⁷. Cuomo et al. demonstrated, in a systematic review, cut-off values ranging from 0.35 to 88.8 KUA/L for tolerance to fresh cow's milk, and for processed CMP it obtained values from 35 KUA/L, with 85.7% PPV, to 24.5 KUA/L, with 95% specificity¹⁸.

These results are probably influenced by factors such as genetics, type of CMP offered, sex, age, as well as methods for evaluating the article itself, making it difficult to unify outcome predictive values suitable for each population¹⁷⁻²⁰. This reinforces OFC as the main method of assessing the acquisition of tolerance to CMP, since in our sample, CMPA IgE-mediated patients were tolerant despite having high Ig dosages compared to cutoff points presented in other studies. We believe that the values obtained in our results serve as a guide in the search for the cutoff points associated with the OFC outcomes in our population in future studies, with assessment of the sensitivity and specificity curve.

CONCLUSION

We conclude that OFC follows as the gold standard for assessing tolerance in children with CMPA. The results point to the relevance of the OFC in assessing tolerance, even in IgE-mediated patients, establishing a cut-off point for IgE fractions. The results may support more effective strategies in the management of CMPA and support the diagnostic and tolerance protocols, in order to avoid restrictive diets and minimize the impact on the quality of life of patients and their families.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Financial support

This research did not receive any specific funding.

REFERENCES

1. Boyce JA. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: Report of the NIAID-sponsored expert panel. **J Allergy Clin Immunol**. 2010;126(6 SUPPL.):301–402.
2. Fleischer DM, Bock SA, Spears GC, Wilson CG, Miyazawa NK, Gleason MC, et al. Oral food challenges in children with a diagnosis of food allergy. **J Pediatr** [Internet]. 2011;158(4):578-583.e1. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.09.027>
3. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. **J Allergy Clin Immunol** [Internet]. 2014;133(2):291-307.e5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2013.11.020>
4. Comité Nacional de Alergia. Alergia alimentaria en pediatría: recomendaciones para su diagnóstico y tratamiento. **Arch Argent Pediatr**. 2018;116(1):1–19.
5. Caldeira F, da Cunha J, Ferreira MG. Alergia a proteínas de leite de vaca um desafio diagnóstico. **Acta Med Port**. 2011;24(4):505–10.
6. Toca MC, Roman-Riechmann E, Vázquez-Frías R, Batista de Morais M, Sosa P, Boggio-Marzet C, et al. A Latin American pediatric gastroenterology group's understanding of cow's milk protein allergy diagnosis and treatment: Results of a survey by the Food Allergy Working Group of the Sociedad Latinoamericana de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pe. **Rev Gastroenterol Mex** [Internet]. 2019; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rgm.2019.08.002>
7. 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):7–38.
8. Oriel RC, Wang J. Diagnosis and Management of Food Allergy. **Pediatr Clin North Am** [Internet]. 2019;66(5):941–54. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2019.06.002>
9. 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;2(1):39–82.
10. Mendonça RB, Cocco RR, Sarn ROS, Solé D. Teste de provocação oral aberto na confrmação de alergia ao leite de vaca mediada por igE: Qual seu valor na prática clínica? **Rev Paul Pediatr**. 2011;29(3):415–22.
11. Van Der Velde JL, Flokstra-De Blok BMJ, De Groot H, Oude-Elberink JNG, Kerkhof M, Duiverman EJ, et al. Food allergy-related quality of life after double-blind, placebo-controlled food challenges in adults, adolescents, and children. **J Allergy Clin Immunol** [Internet]. 2012;130(5):1136-1143.e2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.05.037>

12. Muraro A, Agache I, Clark A, Sheikh A, Roberts G, Akdis CA, et al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines: Managing patients with food allergy in the community. **Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.** 2014;69(8):1046–57.
13. Sampson HA, Aceves S, Bock SA, James J, Jones S, Lang D, et al. Food allergy: A practice parameter update - 2014. **J Allergy Clin Immunol.** 2014;134(5):1016-1025.e43.
14. Fuertes E, Standl M, Von Berg A, Lehmann I, Hoffmann B, Bauer CP, et al. Parental allergic disease before and after child birth poses similar risk for childhood allergies. **Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.** 2015;70(7):873–6.
15. Vandenplas Y, Al-Hussaini B, Al-Mannaie K, Al-Sunaid A, Ayesh WH, El-Degeir M, et al. Prevention of allergic sensitization and treatment of cow's milk protein allergy in early life: The middle-east step-down consensus. **Nutrients.** 2019;11(7).
16. Sardecka I, Los-Rycharska E, Ludwig H, Gawryjołek J, Krogulska A. Early risk factors for cow's milk allergy in children in the first year of life. **Allergy Asthma Proc.** 2018;39(6):e44–54.
17. Celik-Bilgili S, Mehl A, Verstege A, Staden U, Nocon M, Beyer K, et al. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of oral food challenges. **Clin Exp Allergy.** 2005;35(3):268–73.
18. Cuomo B, Indirli GC, Bianchi A, Arasi S, Caimmi D, Dondi A, et al. Specific IgE and skin prick tests to diagnose allergy to fresh and baked cow's milk according to age: A systematic review. **Ital J Pediatr.** 2017;43(1):1–10.
19. Kawahara T, Tezuka J, Ninomiya T, Honjo S, Masumoto N, Nanishi M, et al. Risk prediction of severe reaction to oral challenge test of cow's milk. **Eur J Pediatr.** 2019;178(2):181–8.
20. Mehr S, Pj T, Joshi P, Wong M, De C, Gomes R. SAFETY AND CLINICAL PREDICTORS OF REACTING TO EXTENSIVELY HEATED COW'S MILK CHALLENGE IN COW'S MILK-ALLERGIC CHILDREN. **Rev Port Imunoalergologia.** 2014;22(4):289–90.
21. Perry TT, Matsui EC, Kay Conover-Walker M, Wood RA. The relationship of allergen-specific IgE levels and oral food challenge outcome. **J Allergy Clin Immunol.** 2004;114(1):144–9.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A APLV tem se tornado um problema relevante na faixa etária pediátrica nas últimas décadas, como demonstrado pela sua prevalência ascendente e potencial prejuízo nutricional e psicossocial pela restrição à PLV. É imperativo seu diagnóstico precoce para evitar quadros graves e otimizar o manejo dessa condição sem comprometer a qualidade de vida dos pacientes. Este estudo se propôs a estabelecer correlações entre os parâmetros clínicos dos pacientes com APLV e o desfecho do TPO.

Encontramos diferentes frequências dos fatores de risco e proteção para a APLV em nossa amostra em todos os tipos clínicos, algumas semelhantes e outras discrepantes em relação à literatura atual. O registro desses fatores de risco durante a anamnese é importante, tanto para a monitorização de tendências alérgicas, como também para documentar variações características da nossa população e que chamam a atenção para novos perfis clínicos dessa condição.

Foi observado também que pacientes APLV IgE não mediada se correlacionaram significativamente com o uso de fórmula infantil em faixas etárias abaixo de 6 meses e que o uso da fórmula no domicílio aumentou em torno de cinco vezes a chance de não tolerância à PLV. O aleitamento materno exclusivo nos primeiros 6 meses de vida segue como uma das principais medidas protetoras para o desenvolvimento de patologias alérgicas, sendo importante o seu estímulo nos mais diversos níveis de assistência à lactente e lactante para evitar o uso precoce de fórmula infantil.

Em relação às características laboratoriais, os valores das frações de IgE e o desfecho do TPO se correlacionaram de forma significativa, com uma maior chance de tolerância em pacientes com valores de IgE entre 0,1 e 10 KUA/L. Na literatura são sugeridos vários pontos de corte, com resultados e métodos de avaliação variados, influenciados por fatores como genética, tipo de PLV oferecida, sexo, idade, métodos de avaliação do próprio estudo, o que dificulta a unificação de valores preditores de desfecho adequados a cada população.

Essa variabilidade reforça a necessidade de busca de pontos de corte adaptados à realidade de cada população com APLV, personalizando o atendimento a esses pacientes, respeitando a variabilidade característica de cada população. Além disso, corrobora o TPO como principal método de avaliação de aquisição de tolerância à PLV, aplicável a qualquer tipo APLV, sem restrição de idade e com resultado rápido.

APÊNDICE 1.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

TÍTULO DA PESQUISA: FATORES ASSOCIADOS AO TESTE DE PROVOCAÇÃO ORAL NO ACOMPANHAMENTO DA ALERGIA A PROTEÍNA DO LEITE DE VACA NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA

Prezado (a) participante, você está sendo convidado(a) a participar desta pesquisa, que irá analisar os fatores associados ao resultado do teste de provocação oral (TPO) em pacientes acompanhados por alergia à proteína do leite de vaca (APLV) em ambulatório de alergia do Hospital Albert Sabin. Estamos realizando essa pesquisa devido ao grande aumento do número de crianças com essa enfermidade nos últimos anos em Fortaleza, buscando conhecê-la melhor e analisar os principais fatores de riscos para desenvolver essa alergia e assim colaborar com futuras estratégias de prevenção e controle.

1. **POR QUE VOCÊ ESTÁ SENDO CONVIDADO A PARTICIPAR:** O convite para a sua participação se deve ao fato do seu filho atender as características que irão ser avaliadas nessa pesquisa.
2. **COMO SERÁ A MINHA PARTICIPAÇÃO:** Ao participar desta pesquisa, você irá responder um questionário escrito com perguntas sobre dados da gestação e do nascimento do seu filho, tipo de alimentação, uso de medicamentos, alergias, dentre outros. Lembramos que a sua participação é voluntária. Você pode desistir da sua participação a qualquer momento, mesmo após ter começado a responder o questionário. Você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa.
3. **QUEM SABERÁ SE EU DECIDIR PARTICIPAR:** Somente o pesquisador responsável e sua equipe saberá que você está participando desta pesquisa.
4. **GARANTIA DA CONFIDENCIALIDADE E PRIVACIDADE:** Todas as informações que o(a) Sr.(a) nos fornecer ou que sejam conseguidas por revisão de prontuários e entrevistas serão utilizadas somente para esta pesquisa.
5. **RISCOS E BENEFÍCIOS:** O(s) procedimento(s) utilizado(s) de entrevista sobre dados sociodemográficos trarão risco mínimo de desconforto. Os benefícios seriam um melhor entendimento dos fatores que influenciam o TPO e a APLV.
6. **FORMAS DE ASSISTÊNCIA E RESSARCIMENTO DAS DESPESAS:** Caso o(a) Sr.(a) aceite participar da pesquisa, não receberá nenhuma compensação financeira
7. **ESCLARECIMENTOS:** Se você tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa e/ou dos métodos utilizados nela, pode procurar a qualquer momento as pesquisadoras responsáveis:

RESPONSÁVEIS: OLIVIA ANDREA ALENCAR COSTA BESSA; LIA MARIA BASTOS PEIXOTO LEITÃO. Comitê de Ética em Pesquisa do HIAS: Rua Tertuliano Sales, 544 Bairro Vila União, CEP: 60.410-790; Fortaleza/Ce Telefone: (85) 3257-1275

8. **CONCORDÂNCIA NA PARTICIPAÇÃO:** Se o(a) Sr.(a) estiver de acordo em participar deverá preencher e assinar o Termo de Consentimento Pós-esclarecido que se segue e receberá uma cópia deste Termo.
9. **CONSENTIMENTO PÓS ESCLARECIDO:** O (A) Sr. (a) _____, responsável pelo menor _____, portador(a) da cédula de identidade/CPF _____, declara que, após leitura minuciosa do TCLE, teve oportunidade de fazer perguntas e esclarecer dúvidas que foram devidamente explicadas pelos pesquisadores. Ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, e não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** em participar voluntariamente desta pesquisa. E, por estar de acordo, assina o presente termo.

Fortaleza, _____ de _____ de _____.

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

APÊNDICE 2.

Termo de Assentimento (TA)

TERMO DE ASSENTIMENTO Assentimento do menor (10-18 ANOS)

TÍTULO DA PESQUISA: FATORES ASSOCIADOS AO TESTE DE PROVOCAÇÃO ORAL NO ACOMPANHAMENTO DA ALERGIA A PROTEÍNA DO LEITE DE VACA NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA

Você está sendo convidado para participar dessa pesquisa pois seus pais permitiram que você participasse. Queremos saber os fatores que podem ter relação com teste oral feito com leite de vaca. As crianças e adolescentes que irão participar desta pesquisa têm de um a dezoito anos de idade. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser. Você também pode mudar de ideia e deixar a pesquisa mais tarde, mesmo que você já tenha começado a participar. A pesquisa será feita durante o seu atendimento de rotina no ambulatório de alergia no Hospital Infantil Albert Sabin e consiste em fazer algumas perguntas sobre a sua alergia e acompanhar o teste com ingestão com leite de vaca. O pesquisador acompanhará você durante a pesquisa e poderá tirar todas as dúvidas que você tiver. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar os participantes. Nós esperamos aprender coisas a partir dessa pesquisa que possam ajudar você e outras crianças e adolescentes com a mesma doença. Se você estiver preocupado com qualquer coisa relacionada à pesquisa ou você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar quando quiser. Nós tentaremos responder suas perguntas da melhor maneira possível. O Comitê de Ética serve para defender as pessoas que participam de alguma pesquisa e para verificar se ela está sendo feita da forma correta. Qualquer dúvida que você tenha sobre a sua participação na pesquisa entre em contato conosco pelo contato: pode procurar a qualquer momento a pesquisadora responsável.

RESPONSÁVEIS: OLIVIA ANDREA ALENCAR COSTA BESSA; LIA MARIA BASTOS PEIXOTO LEITÃO. Comitê de Ética em Pesquisa do HIAS: Rua Tertuliano Sales, 544 Bairro Vila União, CEP: 60.410-790; Fortaleza/CE Telefone: (85) 3257-1275

Declaração de Assentimento

Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa. Eu, _____, aceito participar da pesquisa **FATORES ASSOCIADOS AO TESTE DE PROVOCAÇÃO ORAL NO ACOMPANHAMENTO DA ALERGIA A PROTEÍNA DO LEITE DE VACA NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA**

Fortaleza, ____ de _____ de _____.

Assinatura do menor: _____

Assinatura do pesquisador: _____

APÊNDICE 3.

Questionário escrito

QUESTIONÁRIO	
Dados de identificação	
Nome:	
Data de Nascimento: ___/___/_____	
Raça:	Sexo:
Endereço:	Telefone:
Regional:	Número do Prontuário
Nome do Responsável:	Data do Preenchimento
Parentesco:	___/___/_____
Tipo de APLV	
<input type="checkbox"/> IgE mediada	
<input type="checkbox"/> IgE não mediada	
<input type="checkbox"/> Mista	
Dados da criança	
Sexo	Idade Gestacional
<input type="checkbox"/> Masculino	<input type="checkbox"/> Menos de 37 semanas
<input type="checkbox"/> Feminino	<input type="checkbox"/> Entre 37 semanas e 41 semanas
Etnia	<input type="checkbox"/> Acima de 41 semanas
<input type="checkbox"/> Branca	Intercorrências Gestacionais
<input type="checkbox"/> Parda	<input type="checkbox"/> Sim
<input type="checkbox"/> Negra	<input type="checkbox"/> Não
Tipo de Parto	Outras alergias da criança
<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Alergia a medicamentos
<input type="checkbox"/> Cesáreo	<input type="checkbox"/> Alergia de pele
Intercorrências do Parto	<input type="checkbox"/> Alergia respiratória
<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Alergia Alimentar
<input type="checkbox"/> Não	Início dos Sintomas de APLV
	<input type="checkbox"/> < 1 mês
	<input type="checkbox"/> Entre 1 e 6 meses
	<input type="checkbox"/> > 6 meses até 1 ano
Variáveis quantitativas relacionadas à criança	
Peso da Criança ao nascer (Kg)	<input type="checkbox"/>
Estatura da Criança ao nascer (cm)	<input type="checkbox"/>
Fatores de risco relacionados aos familiares da criança	
Escolaridade da mãe	Tipo de parentesco familiar com alergia alimentar
<input type="checkbox"/> Ensino Fundamental Incompleto	<input type="checkbox"/> Pai
<input type="checkbox"/> Ensino Médio Incompleto	<input type="checkbox"/> Mãe
<input type="checkbox"/> Ensino Médio Completo	<input type="checkbox"/> Irmãos
<input type="checkbox"/> Ensino Superior Incompleto	História de outras alergias familiar
<input type="checkbox"/> Ensino Superior Completo	<input type="checkbox"/> Alergia a medicamentos
Histórico de alergia alimentar familiar	<input type="checkbox"/> Alergia de pele
<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Alergia respiratória
<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Alergia Alimentar
<input type="checkbox"/> Alergia Alimentar	
Fatores de risco relacionados ao ambiente da criança	
Tempo de Aleitamento Exclusivo	Tipo de Fórmula Alimentar utilizada

- < 1 Mês
 Entre 1 mês e 4 meses
 Acima de 4 meses a 6 meses
 Acima de 6 meses
 Nunca amamentou

Idade de uso de fórmula alimentar

- < 1 Mês
 Entre 1 mês e 4 meses
 Acima de 4 meses a 6 meses
 Acima de 6 meses

Idade da introdução alimentar

- >6 meses
 Entre 4 e 6 meses

- Leite de vaca integral
 Fórmula infantil
 Fórmula infantil de soja
 Fórmula parcialmente hidrolisada
 Fórmula extensamente hidrolisada com lactose
 Outra fórmula

Idade de uso de antibiótico

- Nunca usou antibiótico
 < 1 Mês
 Entre 1 Mês a 6 meses
 Acima de 6 meses a 12 meses
 Acima de 12 meses a 18 meses
 Acima de 18 meses a 24 meses

Exames laboratoriais**IgE total para leite de vaca**

_____ kU/L

IgE para alfa lactoalbumina

_____ kU/L

IgE para betalactoalbumina

_____ kU/L

IgE para caseína

_____ kU/L

Teste de Provocação Oral (TPO)**Data do TPO:** ___/___/___**Tipo de alimento oferecido**

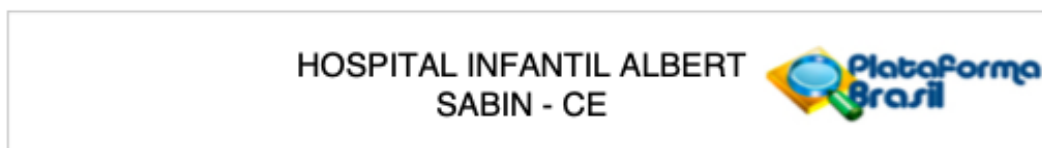
- Processado
 in natura

TPO

- Não Tolerante
 Tolerante
 Inconclusivo
 Não realizado. Motivo:

ANEXOS

Anexo 1. Carta de aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: FATORES ASSOCIADOS AO TESTE DE PROVOCAÇÃO ORAL NO ACOMPANHAMENTO DA ALERGIA A PROTEÍNA DO LEITE DE VACA NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA

Pesquisador: Olivia Andrea Alencar Costa Bessa

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 90496618.0.0000.5042

Instituição Proponente: Hospital Infantil Albert Sabin - CE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.758.419

Apresentação do Projeto:

INTRODUÇÃO:

A reação adversa a alimentos é definida como uma resposta clínica anormal após a ingestão, contato ou inalação de alimentos, seus derivados ou aditivos. Já a intolerância alimentar se referem a reações não imunes por mecanismos metabólicos, tóxicos, farmacológicos e outros indefinidos (ANDREA MARIÑO, 2018; SICHERER; SAMPSON, 2014). A alergia alimentar foi definida pelo National Institute of Allergy and Infectious Diseases como uma reação adversa que ocorre a partir da exposição a proteínas de um alimento, ocasionando uma resposta imune específica e reprodutível quando sob novas exposições (NIAID, 2010). A prevalência e incidência da alergia alimentar têm crescido exponencialmente nos últimos anos já sendo considerada um problema de saúde pública em alguns países. A prevalência na população adulta e pediátrica difere dependendo da população estudada, dos tipos de dados coletados, forma de coleta e critérios diagnóstico, oscilando entre 4 a 8% em crianças e 1 a 4% em adultos a nível mundial (ANDREA MARIÑO, 2018; SOLÉ et al., 2012). Entre criança de 0 a 19 anos, a prevalência de alergia alimentar aumentou de 3,7% no período de 1997-1999 para 5,1% entre 2009 e 2011 (ANDREA MARIÑO, 2018; FLEISCHER et al., 2011; SICHERER; SAMPSON, 2014). Observa-se uma variação natural da ocorrência da doença ao longo da vida, com mudanças na prevalência dos alérgenos alimentares mais comuns entre adultos e criança. Em alguns estudos a prevalência da alergia confirmada por exames laboratoriais

Endereço: Rua Tertuliano Sales, 544
Bairro: Vila União **CEP:** 60.410-790
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3101-4212 **Fax:** (85)3101-4212 **E-mail:** cep@hias.ce.gov.br

HOSPITAL INFANTIL ALBERT
SABIN - CE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: FATORES ASSOCIADOS AO TESTE DE PROVOCAÇÃO ORAL NO ACOMPANHAMENTO DA ALERGIA A PROTEÍNA DO LEITE DE VACA NO MUNICÍPIO DE FORTALEZA

Pesquisador: Olívia Andrea Alencar Costa Bessa

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 90496618.0.0000.5042

Instituição Proponente: Hospital Infantil Albert Sabin - CE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.758.419

Apresentação do Projeto:

INTRODUÇÃO:

A reação adversa a alimentos é definida como uma resposta clínica anormal após a ingestão, contato ou inalação de alimentos, seus derivados ou aditivos. Já a intolerância alimentar se referem a reações não imunes por mecanismos metabólicos, tóxicos, farmacológicos e outros indefinidos (ANDREA MARIÑO, 2018; SICHERER; SAMPSON, 2014). A alergia alimentar foi definida pelo National Institute of Allergy and Infectious Diseases como uma reação adversa que ocorre a partir da exposição a proteínas de um alimento, ocasionando uma resposta imune específica e reprodutível quando sob novas exposições (NIAID, 2010). A prevalência e incidência da alergia alimentar têm crescido exponencialmente nos últimos anos já sendo considerada um problema de saúde pública em alguns países. A prevalência na população adulta e pediátrica difere dependendo da população estudada, dos tipos de dados coletados, forma de coleta e critérios diagnóstico, oscilando entre 4 a 8% em crianças e 1 a 4% em adultos a nível mundial (ANDREA MARIÑO, 2018; SOLÉ et al., 2012). Entre criança de 0 a 19 anos, a prevalência de alergia alimentar aumentou de 3,7% no período de 1997-1999 para 5,1% entre 2009 e 2011 (ANDREA MARIÑO, 2018; FLEISCHER et al., 2011; SICHERER; SAMPSON, 2014). Observa-se uma variação natural da ocorrência da doença ao longo da vida, com mudanças na prevalência dos alérgenos alimentares mais comuns entre adultos e criança. Em alguns estudos a prevalência da alergia confirmada por exames laboratoriais

Endereço: Rua Tertuliano Sales, 544

Bairro: Vila União

CEP: 60.410-790

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3101-4212

Fax: (85)3101-4212

E-mail: cep@hias.ce.gov.br