



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA E CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

RANIERE GAERTNER

Padronização de extratos de proteína bovina, suína, de frango e de soja para teste de contato e de sua acurácia no diagnóstico das reações adversas aos alimentos em cães com prurido crônico.

Standardization of bovine, porcine, chicken and soy protein extracts for patch testing and their accuracy in diagnosing adverse reactions to food in dogs with chronic pruritus.

Curitiba, 2023

RANIERE GAERTNER

Padronização de extratos de proteína bovina, suína, de frango e de soja para teste de contato e de sua acurácia no diagnóstico das reações adversas aos alimentos em cães com prurido crônico.

Standardization of bovine, porcine, chicken and soy protein extracts for patch testing and their accuracy in diagnosing adverse reactions to food in dogs with chronic pruritus.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde Animal, da Escola de Medicina e Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Adj. Dr. Marconi
Rodrigues de Farias.

Curitiba, 2023.

FICHA CATALOGRÁFICA (solicitar à Biblioteca)

Último sobrenome (seguido de Jr., Filho ou Neto), Nome e demais sobrenomes

Título da Tese. Curitiba, 20___. ___p.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

1. Palavra-chave 2. Palavra-chave 3. Palavra-chave 4. Palavra-chave. I. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Escola de Ciências da Vida. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

TERMO DE APROVAÇÃO
(Responsabilidade da Secretaria do PPGCA)

(Entregue pela secretaria)

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	IV
FORMATO DA TESE.....	VI
RESUMO GERAL.....	VII
ABSTRACT.....	IX
CAPÍTULO 1.....	1
Teste de contato alérgico (<i>patch test</i>) para alimentos, uma revisão comparativa entre cães e humanos.....	1
Abstract capítulo 1.....	1
Resumo capítulo 1.....	2
1. Introdução	2
2. Reações adversas a alimento.....	4
3. Alérgenos alimentares	5
4. Reações adversas aos alimentos e a dermatite atópica.	7
5. Diagnóstico da RAA.....	9
5.1. Dietas de eliminação e teste de provocação oral	9
5.2. Testes sorológicos.....	12
5.3. Testes cutâneos de puntura com extratos alimentares (<i>Prick-test</i>)	14
5.4. Teste de contato (<i>Patch test</i>) com alimentos	15
5.4.1. Indicações do teste de contato com alimentos.....	17
5.4.2. Técnica para realização do teste de contato com alimentos	19
Em humanos	19
Em cães	22
6. Conclusão.....	24
7. Referências capítulo 1	25
CAPÍTULO 2.....	38
Padronização de extratos de proteína bovina, suína, de frango e de soja para teste de contato e de sua acurácia no diagnóstico das reações adversas aos alimentos em cães com prurido crônico.....	38
Referências capítulo 2.....	57
CAPÍTULO 3.....	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62

ANEXOS.....	64
--------------------	-----------

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, O Grande Arquiteto do Universo, pelo dom da vida e todas as oportunidades que essa nos oferece, por colocar em minha jornada pessoas especiais que sempre me motivaram e auxiliaram em todos os momentos, bons e ruins, nessa caminhada pelo plano terrestre.

Agradeço aos meus pais Rolfino Gaertner (*In memoriam*) e Ivete Gaertner, por sempre me incentivarem no aperfeiçoamento de minha profissão, pelos exemplos de vida, obrigado pelo privilégio da convivência com vocês, pelos ensinamentos, pela dedicação extrema, pelo amor que sempre tiveram pelos seus filhos.

Aos meus amados filhos Renan Gaertner e Bruno Gaertner; o desejo de todo pai é que seus filhos sejam pessoas de bem, seres humanos que procurem atingir os mais altos fins de suas existências, norteando suas vidas com uma conduta ilibada e honrada, Deus me permitiu essa felicidade; obrigado pelo estímulo que sempre deram ao seu pai para se tornar um profissional e uma pessoa melhor, pelo incentivo quando eu desanimava ou ficava cansado e claro obrigado por serem luzes que clareiam tantas incertezas e dúvidas e dão norte a minha vida. Novamente teço agradecimentos ao Pai Celestial, pela dádiva que é minha neta Sophie, uma luz de renovação, incentivo e superação que ilumina toda a nossa família, aumentando nossa fé, união.

Agradeço a minha querida esposa Heloisa Knabben Gaertner pelo amor, carinho, companheirismo, apoio, compreensão nessa jornada, por buscar sempre me tornar uma pessoa melhor; obrigado pelo carinho, amor, atenção e exemplos de dedicação e cuidado com os animais.

A PUCPR, e todos colaboradores, aprimorandos e professores que me receberam de forma acolhedora durante o mestrado e doutorado, muito obrigado, em especial ao Prof. Rolnei Ruan Daros e a colega de doutorado Júlia Só Severo, pela fundamental colaboração na execução deste trabalho.

E claro, agradeço de forma especial ao meu orientador Prof. Dr. Marconi Rodrigues de Farias, pela oportunidade de poder realizar esse sonho, pelo exemplo como profissional, como docente e ser humano, pela orientação, pela paciência e pela preocupação que tem com cada um de seus alunos e orientados.

Obrigado pela amizade, você é uma daquelas pessoas especiais que Deus coloca em nossos caminhos.

FORMATO DA TESE

A presente tese é composta por capítulos. O capítulo 1 apresenta uma introdução, contextualização do tema através de uma extensa revisão bibliográfica, onde foi realizado um estudo comparativo sobre teste de contato alérgico com alimentos em humanos e caninos, essa revisão foi formatada e contém referências nas normas da revista científica Pesquisa Veterinária Brasileira, a qual será submetida. O capítulo 2 trata-se de artigo científico completo, avaliando a acurácia de extratos alérgicos de proteína bovina, suína, de frango e de soja, em quatro diferentes concentrações, para uso em teste de contato alérgico em cães com prurido crônico, contendo referências, e formatado nas normas da revista Veterinary Dermatology para o qual será submetido. O capítulo 3 finaliza esta tese com conclusões gerais e considerações finais e impacto e perspectivas do trabalho.

RESUMO GERAL

A reação adversa aos alimentos (RAA) ocorre em 30 a 76% dos cães com dermatite atópica. Seu diagnóstico é estabelecido através de dieta restritiva (DR) seguida de teste de provocação oral (TPO) já que não existem testes eficazes para seu diagnóstico definitivo. O teste de contato com alimentos, devido a seu alto valor preditivo negativo tem sido utilizado na seleção de alimentos para DR, porém, por falta de padronização, seu uso é limitado. Este estudo objetivou avaliar as concentrações ideais de extratos de proteína bovina, suína, de frango e de soja a serem utilizados em testes de contato com alimentos em cães com prurido crônico, sendo avaliado sua sensibilidade (SE), especificidade (ESP), valores preditivos negativo (VPN) e positivo (VPP) e segurança. Para tal 20 cães hígidos (grupo 1) e 11 cães com prurido crônico e perene associado à dermatite atópica (DA) (grupo 2) foram selecionados. Os cães do grupo 1 foram submetidos ao teste de contato com alimentos (TCA), com as quatro proteínas selecionadas nas concentrações de 100, 200, 500mg e 1000mg em 0,2ml de vaselina. Após 48 horas da colocação dos testes se efetuou sua retirada e interpretação dos resultados. Os cães do grupo 2 foram submetidos a DR e avaliados seus escores lesionais (CADESI-4) e escala visual de prurido (pVAS) antes e no final da DR. Após a DR, todos também foram submetidos ao TCA, com o mesmo protocolo dos animais do grupo 1. Ao fim da DR, todos os cães do grupo 2 foram submetidos ao TPO com as proteínas testadas, se avaliando a recorrência dos sinais clínicos. Dos 20 cães do grupo 1, somente um cão (5%) apresentou reações a proteína bovina, nas concentrações de 500mg e 1000mg/0,2ml. Em relação aos 11 cães do grupo 2, todos apresentaram melhora parcial significativa ($p < 0,05$) no CADESI-4 e pVAS após DR, reações positivas as quatro proteínas testadas e recorrência dos sinais clínicos após o TPO, com exceção de um paciente positivo para proteína suína. Eritema leve foi associado com valores de 100% de SE, ESP, VPP e VPN a proteínas bovina e de frango nas concentrações de 500mg e 1000mg/0,2ml, e à soja a 1000mg/0,2ml. Já para proteína suína, uma SE 100%, ESP 83%, VPP 83%, VPN 100% foram observadas na concentração de 1000mg/0,2ml. Conclui-se que o TCA pode ser utilizado no diagnóstico da RAA para bovino, frango e soja, e na instituição de TPO as mesmas.

Palavras chave: dermatite atópica, alergia, alergia alimentar, testes alérgicos, dermatopatias alérgicas.

ABSTRACT

Adverse food reaction (AFR) occurs in 30 to 76% of dogs with atopic dermatitis. Its diagnosis is established through a restrictive diet (RD) followed by an oral provocation test (OPT) since there are no effective tests for its definitive diagnosis. The food patch test, due to its high negative predictive value, has been used in the selection of foods for RD, however, due to the lack of standardization, its use is limited. This study aimed to evaluate the ideal concentrations of bovine, porcine, chicken and soy protein extracts to be used in food patch tests in dogs with chronic pruritus, evaluating their sensitivity (SE), specificity (SP), negative predictive values negative (NPV) and positive predictive value (PPV) and security. For this purpose, 20 healthy dogs (group 1) and 11 dogs with chronic and perennial pruritus associated with atopic dermatitis (AD) (group 2) were selected. The dogs in group 1 were submitted to the food patch test (FPT), with the four selected proteins in the concentrations of 100, 200, 500mg and 1000mg in 0.2ml of vaseline. After 48 hours of placing the tests, they were removed and the results were interpreted. Dogs in group 2 were submitted to RD and their lesion scores (CADESI-4) and visual pruritus scale (pVAS) were evaluated before and at the end of DR. After RD, all dogs were also submitted to FPT, with the same protocol as the animals in group 1. At the end of RD, all dogs in group 1 were submitted to OTP with the tested proteins, evaluating the recurrence of clinical signs. Of the 20 dogs in group 1, only one dog (5%) showed reactions to bovine protein, at concentrations of 500mg and 1000mg/0.2ml. Regarding the 11 dogs in group 2, all showed significant partial improvement ($p<0.05$) in CADESI-4 and pVAS after RD, positive reactions to the four tested proteins and recurrence of clinical signs after OTP, with the exception of one patient positive for pork protein. Mild erythema was associated with 100% SE, SP, PVP and PVN values for bovine and chicken proteins at 500mg and 1000mg/0.2ml, and soy at 1000mg/0.2ml. As for pork protein, SE 100%, SP 83%, PPV 83%, NPV 100% were observed at a concentration of 1000mg/0.2ml. It is concluded that the FPT can be used in the diagnosis of AAR for cattle, chicken and soybeans, and in the institution of OTP for the same.

Keywords: atopic dermatitis, allergy, food allergy, allergy tests, allergic dermatopathies.

CAPÍTULO 1

(Artigo científico a ser submetido para publicação no periódico Pesquisa Veterinária Brasileira).

Teste de contato alérgico (*patch test*) para alimentos, uma revisão comparativa entre cães e humanos.

Raniere Gaertner², Marconi Rodrigues de Farias³.

Abstract.- Gaertner R., Farias MR. 2023. **Patch test for food, a comparative review between dogs and humans.** Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR, Rua Imaculada Conceição, 1155, CEP 80215-901, Curitiba-PR, Brazil. E-mail: marconi.puc@terra.com.br

The patch test or allergic contact test has been used for more than 100 years, mainly in allergic reactions involving cellular components in late reactions and without IgE involvement. More recently, this test has been used in patients with adverse reactions to food, food allergies and in patients with atopic dermatitis, helping to create restrictive diets. This work aims at a summary review of the use of patch test for food in medicine and veterinary medicine, its indications, exchange, application techniques and perspectives for clinical use. Although being used in veterinary medicine in patients with atopic dermatitis and food allergies and being widely used in medicine in cases of difficult-to-control atopic dermatitis, enterocolitis syndromes and eosinophilic esophagitis, its lack of standardization and infections in relation to its sensitivity and specificity lead to the lack of a consensus on its use, so the test can help in clinical practice, however, without currently dismissing the oral challenge test as the gold standard diagnosis for adverse reactions to food.

Index terms: patch test, allergic patch test, food allergy, adverse reaction to food.

1 Recebido em.....

Aceito para publicação em

2 Doutorando em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Rua Imaculada Conceição, 1155, CEP 80215-901, Curitiba-PR, Brazil.

3 Docente de Clínica Médica de Animais de Companhia e da Pós-Graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Rua, Rua Imaculada Conceição, 1155, CEP 80215-901, Curitiba-PR, Brazil. E-mail: marconi.puc@terra.com.br

Resumo.-[Teste de contato alérgico (*patch test*) para alimentos, uma revisão comparativa entre cães e humanos.] O *patch test* ou teste de contato alérgico vem sendo utilizado há mais de 100 anos principalmente em reações alérgicas com envolvimento de componente celular em reações tardias e sem envolvimento de IgE. Mais recentemente esse teste vem sendo utilizado em pacientes com reação adversa aos alimentos, alergia alimentar e em pacientes com dermatite atópica, auxiliando na elaboração de dietas restritivas. Este trabalho visa uma revisão bibliográfica do uso de *patch test* para alimentos na medicina e na medicina veterinária, suas indicações, mecanismos, técnicas de aplicação e perspectivas para uso clínico. Embora sendo utilizado na medicina veterinária em pacientes com dermatite atópica e alergia alimentar e sendo amplamente utilizada na medicina em casos de dermatite atópica de difícil controle, nas síndromes de enterocolite e na esofagite eosinofílica, sua carência de padronização e variações em relação a sua sensibilidade e especificidade levam a inexistência de um consenso sobre seu uso, assim sendo o teste pode ajudar na prática clínica entretanto sem dispensar atualmente o teste de provocação oral como diagnóstico padrão ouro para reações adversas ao alimento.

Termos de indexação: *patch test*, teste de contato alérgico, alergia alimentar, reação adversa ao alimento.

1- Introdução.

A dermatite atópica (DA) é uma dermatopatia crônica, inflamatória e pruriginosa, que acomete cães geneticamente predispostos (Halliwell, 2006). Avanços no entendimento de sua etiopatogenia sugerem que a DA é uma síndrome clínica multifatorial (Marsella e De Benedetto, 2017), que resulta de uma complexa combinação de fatores como anormalidades de barreira cutânea, disfunções da resposta imunológica e hipersensitização neurogênica, que resultam em infecções recorrentes, hipersensibilidade aos alérgenos ambientais, alimentares e de origem microbiana (Nuttal et al. 2019, Steinhoff et al. 2022).

As reações adversas aos alimentos (RAAs) incluem a intolerância alimentar (IA) e a hipersensibilidade alimentar, que pode ser subdividida em alergia alimentar (AA), a qual geralmente é associada à reações IgE dependentes, e as reações

inflamatórias mediadas por células aos alérgenos alimentares ou componentes da dieta (Possebom et al, 2022).

O padrão ouro de diagnóstico das RAAs é a dieta restritiva por oito semanas, seguida da realização do teste de provocação oral (TPO) com o alimento ao qual o paciente é sensível, uma vez que testes comerciais confiáveis para o diagnóstico não existem (Hensel et al. 2015, Olivry et al. 2015, Johansen et al. 2017).

Um crescente aumento no interesse por protocolos diagnósticos mais fáceis execução e aceitação pelo tutor do que a dieta restritiva seguida do TPO tem ocorrido, devido a difícil adesão e manutenção à dieta e a resistência ao TPO (Caglayan-Sozmem et al. 2015). O teste de contato (*patch test*) é o método mais consagrado no diagnóstico da dermatite de contato e sua utilização com extratos alimentares vem sendo sugerido como um possível teste não invasivo para o diagnóstico de RAAs em crianças com dermatite atópica (Caglayan-Sozmem et al. 2015)

Em cães, o teste de contato com extratos alimentares, em função de seu alto valor preditivo negativo, se mostrou útil na indicação de componentes para elaboração de dietas restritivas em cães com reações cutâneas adversas aos alimentos, principalmente aqueles com prurido crônico associado à dermatite atópica (DA) (Possebom et al. 2022).

Porém, a grande variação de metodologias de aplicação, formulações e concentrações dos alérgenos e os resultados variáveis de sua sensibilidade e especificidade em vários estudos denotam a necessidade de uma padronização ou normatização desse método diagnóstico (Fernandes & Prates 2007).

Como o controle da exposição dos pacientes sensibilizados aos alérgenos deflagradores faz parte do controle multimodal da DA, a elaboração de dietas adequadas para cães com DA sensíveis a trofoalérgenos se faz necessária para um controle adequado da doença (Chehade & Mayer 2005, Wang & Sampson 2011, Marsella et al. 2012, Possebom et al. 2022).

Assim, a utilização de testes alérgicos em cães com prurido crônico pode ser uma ferramenta útil na elaboração de uma dieta restritiva, se evitando tentativas frustradas para sua composição, além da demanda de tempo e custo.

Este artigo tem como objetivo revisar a literatura médica e veterinária sobre a utilização dos testes com extratos alimentares para avaliação da RAAs em pacientes caninos e humanos com DA.

2- Reações adversas a alimento.

A reação adversa a alimento inclui a hipersensibilidade alimentar (HA) e a intolerância alimentar (IA) (Olivry & Bizikova 2010, Wang & Sampson 2011, Matricoti & Noli 2018). IA é classificada como resposta não imunológica, e pode ser subdividida em reação devido ao ingrediente ativo farmacológico, reação devido aos metabólitos de certos ingredientes, idiosincrasia alimentar e pseudo-alergia (Day, 2005, Bhagat et al. 2017).

HA é classificada como resposta imunológica aos alérgenos alimentares (trofoalérgenos) ou a componentes da dieta, podendo ser mediada por IgE, o que conduz à reações de hipersensibilidade imediatas do tipo I (AA), ou associada à respostas de hipersensibilidade tipos III e IV também podem estar envolvidas nas reações imunológicas ao alimento associados à deposição de imunocomplexos ou de caráter inflamatório crônico, mediado por células (Day 2005, Fritsch 2010, Olivry & Bizikova 2010, Bhagat et al. 2017).

Fatores que contribuem ao desenvolvimento de alergia alimentar têm a capacidade de interferir na barreira mucosa (vírus, bactérias, parasitas, toxinas, etc.), o que leva a uma maior penetração e apresentação anormal de antígenos alimentares ao sistema imune associado ao intestino (GALT), representado pelas placas de Peyer, tecido linfóide difuso na lâmina própria, enterócitos e linfócitos intraepiteliais (Day 2005, Bhagat et al. 2017).

Outros fatores responsáveis por um alérgeno alimentar induzir a AA são à resistência destes às enzimas digestivas e termorresistência associados ao aumento de sua capacidade de penetrar na barreira fisiológica da mucosa, que pode estar relacionado ao aumento do pH gástrica, diminuição do peristaltismo, do muco superficial protetor, de moléculas juncionais dos enterócitos e da IgA intraluminal (Bhagat et al. 2017).

O antígeno alimentar quando captado por células apresentadoras de antígenos (célula dendrítica), é apresentado a um linfócito Th0, o qual é estimulado a se transformar em Th2 e secretar IL-4, que induz a proliferação de células B, formação de plasmócitos e a produção e liberação de IgE alérgeno específica (Day 2005, Fritsch et al. 2010, Bhagat et al. 2017). A IgE alérgeno específica se liga aos mastócitos sensibilizando-os, o que favorece sua degranulação e a liberação de substâncias

vasoativas e pró-inflamatórias a cada reexposição (Day 2005, Fritsch et al. 2010, Bhagat et al. 2017).

Como as reações imunológicas aos alérgenos alimentares podem não ser mediadas somente por IgE, estudos sobre outros mecanismos de reação observaram um infiltrado cutâneo inflamatório nas lesões eczematosas de pacientes humanos com DA rico em linfócitos TCD4⁺ e linfócitos T específicos para alérgenos alimentares, o que denota a ocorrência de uma resposta tardia aos alimentos (Werfel & Breuer 2004). Estas reações mediadas por células (hipersensibilidade tipo IV) podem se desenvolver após 12 horas da exposição ou mais aos trofoalérgenos, e decorrem da fagocitose, processamento e apresentação por células dendríticas aos linfócitos Th0 que, por estímulos da IL12, se convertem em Th1, que migram para a área de penetração do antígeno e liberam citocinas inflamatórias como IL-1, IL-2 e IL-6, interferon- γ (IFN- γ), estimulando a migração para o tecido de linfócitos T citotóxicos, neutrófilos, macrófagos e eosinófilos de neutrófilos (Day 2005, Verlinden et al. 2006, Fritsch et al. 2010, Lazarine et al. 2013, Bhagat et al. 2017).

3- Alérgenos alimentares.

Alérgenos alimentares, também denominados de trofoalérgenos, são moléculas que quando ingeridas podem deflagrar reações de hipersensibilidade (Commins, et al. 2009). As proteínas parecem ser os principais trofoalérgenos, entretanto os carboidratos e lipídeos também podem causar reações de hipersensibilidade, principalmente quando conjugados às proteínas (lipo ou glicoproteínas) (Commins, et al. 2009, Fritsch et al. 2010, Bhagat et al. 2017, Roitel et al., 2017).

Os trofoalérgenos de uma maneira geral têm peso molecular superior a 10kDa, se apresentam estáveis ao calor, são normalmente solúveis em água e resistentes a proteases digestórias (Verlinden et al. 2006).

Em cães, 78% dos casos de RAAs relatados foram relacionadas aos alérgenos encontrados na carne bovina, carne de frango, laticínios e trigo (Roudebush 2013). Já RAAs ligadas a ingestão de ovos de galinha, carne suína, peixe, carne ovina, milho e soja foram menos relatadas, e foram raras as reações a carne de pato e ao arroz (Roudebush 2013). No Brasil, Possebom et al. (2022) relatou a carne de frango e soja, determinando maior número de reações positivas em testes de contato alérgico.

Estudos demonstraram que cães com RAAs reagem principalmente a IgG, a fosfoglucomutase e albumina sérica da carne bovina e devido à homologia entre as imunoglobulinas ovina e bovina, reações cruzadas podem ocorrer entre estas carnes (Carlotti 2017, Bhagat et al. 2017, Olivry et al. 2022).

O leite bovino contém cerca de 20 componentes proteicos, e a β -lactoglobulina parece ser o componente proteico mais alergênico para cães, seguida pela caseína, lactalbumina e albumina sérica bovina (Bhagat et al. 2017). Entretanto, Shimakura et al. (2021) coloca a albumina sérica, seguida da caseína como principais alérgenos do leite bovino para cães. Em humanos alérgicos ao leite de vaca, já se demonstrou a existência de reações cruzadas com leite de búfala, ovelha, cabra e com menor ocorrência a leite de égua e camela (Solé et al. 2018a). Em testes cutâneos de leitura imediata (detectando IgE específica ao alérgeno alimentar) observou-se, com pouca frequência, reações cruzadas entre carne bovina e leite de vaca, essas reações envolvem a albumina sérica (um alérgeno menor do leite, presente na carne de vários mamíferos), entretanto as taxas de reatividade clínica dos pacientes são baixas, provavelmente em função da característica termolábil da albumina sérica, onde o cozimento/aquecimento do alimento, torna a albumina sérica menos presente no alimento em questão (Solé et al. 2018a).

A albumina sérica, além do piruvato quinase M 1/2, enolase 3, creatina quinase tipo M, aldolase, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, lactato desidrogenase e triose fosfato isomerase 1, são considerados os principais alérgenos alimentares presentes na carne de frango para humanos e cães sensibilizados a esta (Bexley et al. 2018, Solé. et al. 2018a, Pucheu-Haston & Mugeot 2020).

No ovo destacam-se as proteínas ovomucóide e ovalbumina, além de ovotransferina, ovomucina, lizosima, albumina (da clara do ovo) e lipovitelina, losvitina, lipoproteína de baixa densidade (da gema do ovo). Em humanos alérgicos ao ovo de galinha, uma reação cruzada a clara de ovos de outras aves já foi demonstrada e, alergia a gema de ovo podem ter reação cruzada a carne de frango (Solé et al. 2018a).

A albumina sérica pode estar associada a RAAs a carne suína, além do alfa-gal, um oligossacarídeo expresso em glicoproteínas e glicolipeptídeos em humanos (Ferreira et al. 2015, Solé et al. 2018a), entretanto em cães, como a alfa-gal é

produzida no organismo canino, a hipersensibilidade clássica contra esse antígeno, não é desencadeada nessa espécie (Baumann et al. 2020).

Entre os alérgenos de peixe que desencadeiam RAAs em humanos, desatacase a parvoalbumina (Solé et al. 2018a) e cães a enolase e aldolase (Bexley et al. 2018), e entre os principais componentes alérgicos presentes na soja estão as vicilinas, globulinas (Solé et al. 2018a).

Já foi observado em cães reação cruzada entre as proteínas enolase, aldolase de peixe e frango (Pali-Schöll, et al. 2017). Avaliações sorológicas em cães também observaram reações cruzadas ao piruvato quinase, creatina quinase, alfa-actina, desidrogenase, betaenolase, aldolase, maleato desidrogenase, lactato desidrogenase, triose fosfato isomerase, gliceraldeído-3 fosfato presentes nas carnes de frango e peixe (Bexley et al. 2018).

Em cães um estudo usando o A-RISC (Allergens Relative Identity, Similarity and Cross-reactivity) demonstrou um alto risco teórico de reações cruzadas entre proteínas alimentares da mesma família (como a l-lactato desidrogenase) em espécies diferentes (frango, pato, peru, avestruz, bovino, ovino, equino, suíno, coelho, bacalhau, salmão e jacaré) (Olivry et al. 2022).

4- Reações adversas aos alimentos e a dermatite atópica.

A dermatite atópica é uma doença crônica, inflamatória, pruriginosa que afeta cerca de 20% da população canina (Solomon et al. 2010, Baviera et al. 2015). Esta cursa com alterações genéticas da barreira cutânea (Cork et al., 2006) e disfunções imunológicas, destacando-se uma hiper-reatividade da resposta Th2 cutânea mediada e um aumento de formação de IgE aos alérgenos ambientais, alimentares e microbianos (Nuttal et al., 2019). As principais alterações na barreira epidérmica da dermatite atópica são o adelgaçamento da camada córnea, aumento dos espaços intercelulares, redução de ceramidas, perda de água transepidérmica e xerose cutânea (DeBoer & Marsella 2001, Simou et al. 2005, Solomon et al. 2011, Baviera et al. 2016).

Nos EUA, estudos apontam que aproximadamente 3,5% dos adultos e 8% das crianças apresentam sintomas relacionados a AA (Ungar et al. 2017). Em adição, a AA pode ser diagnosticada em um terço das crianças com dermatite atópica moderada a grave (Edward & Martinez 2014).

Nos humanos com DA, o papel dos alimentos na deflagração e agravamento da doença está bem documentado, entretanto observou-se que o tipo de alimento desencadeador da DA é passível de variação com a idade do paciente (Caglayan Sozmen et al. 2015, Mansouri et al. 2018). No ocidente, os alérgenos indutores de DA em lactentes são frequentemente encontrados no leite de vaca, ovo e amendoim e, com o passar da idade, troalérgenos do trigo, nozes e peixes aparecem mais frequentemente como deflagradores da DA (Caglayan Sozmen et al. 2015, Mansouri et al. 2018).

Reações adversas aos alimentos (RAAs) podem ser consideradas causas frequentes de prurido não sazonal, alesional ou não em cães (Proverbio et al. 2010, Hensel et al. 2015). Estima-se sua ocorrência em cerca de 5% de todas as doenças de pele e aproximadamente 25% das condições alérgicas tegumentares em cães (Matricoti & Noli 2018).

Já em cães com dermatite atópica, estima-se que a presença de RAAs ocorram em com frequências que variem de 25 a 76% (Olivry & Mueller 2017), Possebom et al. 2022), logo a DA pode ser considerada uma doença tegumentar onde os sintomas estão relacionados à co-sensibilização e reação tegumentar multifatorial (Dermatite atópica latu sensu) (Pucheu-Haston et al., 2015).

Em um estudo na Finlândia, observou-se que a exposição a alimentos de origem animal crus, em filhotes caninos, parece ter um efeito protetor na deflagração de sintomas cutâneos de alergia\dermatite atópica na idade adulta (Hemida et al. 2021). Em contrapartida, a exposição de filhotes caninos a alimentos processados pelo calor, a uma mistura de óleos palatilizantes e açúcares de frutas pareceu favorecer a deflagração de sintomas cutâneos de alergia\dermatite atópica na fase adulta (Hemida et al. 2021).

Segundo Bergamnn et al. (2013), apesar dos aeroalérgenos terem seu papel destacada em diversos estudos, os trofoalérgenos ou alérgenos alimentares foram identificados como principais gatilhos externos da DA em humanos, sendo que a sensibilização ocorre classicamente através do trato gastrintestinal em função da disfunção da barreira intestinal e consequente absorção facilitada do trofoalérgeno, induzindo a AA em pacientes com DA. Entretanto o processo de sensibilização ao(s) alérgeno(s) alimentar(es) pode se desenvolver por via epicutânea em indivíduos com defeitos de barreira física associado a dermatite atópica (Bronw et al, 2008, Elias et

al. 2008, Barnes 2010, Possebom et al. 2022). Em até 50% dos pacientes humanos com DA grave, mutações no gene da filagrina estão correlacionadas a um maior risco de sensibilização aos alérgenos ambientais e alimentares (Heratizadeh et al. 2011).

Em cães com DA, parece não haver predileção por sexo e idade para o desenvolvimento de RAAs, e esta deve ser investigada em todos os cães com prurido crônico e perene (Verlinden et al. 2006, Bethlehem et al. 2012, Johansen et al. 2017). Em relação a raças, um estudo apresentou o West White Highland Terrier, Pug, Boxers, Rhodesian Ridgebacks e Pastores Alemães como raças predispostas (Picco et al. 2008).

Entre seus principais sinais clínicos podemos destacar, prurido crônico, eritema, alopecia e escoriações autoinduzidas e, em casos crônicos, hiperqueratose, acantose e liquenificação cutânea (Lloyd 2014, Possebom et al. 2022). Quanto ao padrão topográfico lesional, extremidades dos membros, flexuras, região periorcular, perilabial, perivulvar, perianal, pavilhões auriculares, axilas e região inguinal são frequentemente afetados (Lloyd 2014).

Nos cães com prurido crônico e não sazonal, a RAA deve ser considerada se sinais gastrintestinais estiverem presentes, como vômitos, diarreia, flatulência, tenesmo, distensão abdominal, cólica visceral, aumento dos movimentos peristálticos (Proverbio et al. 2010, Hensel et al. 2015).

5- Diagnóstico da RAA.

5.1. Dietas de eliminação e teste de provocação oral.

Geralmente há suspeição de RAAs quando uma redução ou resolução completa do prurido e das lesões ocorre após o estabelecimento de uma dieta restritiva, de oito semanas, e é confirmado quando, diante ao desafio com a dieta pregressa ou com as proteínas ao qual o animal esteja sensibilizado (teste de provocação oral- TPO), por até 14 dias, ocorre o reinício do prurido e dos sinais clínicos (Bethlehem et al. 2012, Johansen et al. 2017, Mueller & Olivry 2017).

Dietas restritivas, também denominadas de exclusão ou de eliminação, podem incluir dietas preparadas nos domicílios (dietas caseiras) constituídas por fontes de proteínas e carboidratos inéditas ao paciente, e dietas comerciais industrializadas (rações), contendo proteínas e carboidratos únicos, originais e, preferencialmente, hidrolisadas ou ultra-hidrolisadas (Bethlehem et al. 2012, Johansen et al. 2017).

Na medicina, o padrão ouro para diagnóstico de RAAs também é o TPO após uma dieta restritiva para resolução dos sintomas (Ungar et al. 2017, Solé et al. 2018b). O TPO consiste, após um período de exclusão dietética e remissão dos sinais clínicos, na oferta progressiva de um alimento suspeito e/ou placebo, por intervalos regulares, com monitoração médica em função de possíveis reações clínicas (Nowak-Węgrzyn et al. 2009).

Nestes casos, o TPO precedido da dieta restritiva tem como finalidades: a confirmação ou exclusão de AA, determinar a aquisição de tolerâncias em AAs potencialmente transitórias (AA a trigo, soja, ovo, leite bovino), avaliação de reatividade em pacientes sensibilizados, observar a tolerância a alimentos passíveis de reações cruzadas, observar efeitos do processamento dos alimentos, sua tolerabilidade e, nos pacientes com dietas restritivas a múltiplos alimentos, avaliar alérgenos alimentares associados a doenças crônicas que podem deflagrar reações imediatas (Solé et al. 2018b).

Em humanos, os TPOs, podem ser classificados como abertos (médico e paciente cientes dos alimentos ofertados), simples cego (somente médico ciente do alimento ofertado) e duplo cego e controlado por placebo (onde nenhuma das partes está ciente do que é ofertado (Nowak-Węgrzyn et al. 2009). O TPO duplo cego e com placebo é considerado padrão ouro no diagnóstico de alergia alimentar, entretanto o tempo necessário para executar esse teste, a necessidade de estrutura física adequada e equipe médica treinada para atendimento de eventuais reações exacerbadas e o alto custo acabam limitando seu uso, sendo mais executado para fins de estudos e pesquisas (Solé et al. 2018b).

TPOs abertos parecem ser os mais adequados para fins clínicos e podem confirmar reações IgE mediadas e não IgE mediadas (Greenhawt 2011). O TPO simples cego, apesar de uma possibilidade, apresenta as mesmas dificuldades técnicas que o duplo cego e com placebo (Solé et al. 2018b).

Em função da ausência de dados comparativos entre os diferentes protocolos de TPO em humanos, não é formado consenso em relação a quantidade das doses e o intervalo entre as doses na administração do alimento possivelmente ofensivo (Solé et al. 2018b). Antes da administração do TPO é importante verificar a não ingestão do alimento ofensor por um período mínimo de 14 dias e se o tempo de jejum necessário foi observado pelo paciente (Caffarelli & Petroccione 2001, Bindsvlev-Jensen et al.

2004). O objetivo do jejum é potencializar a absorção do alimento testado e prevenir que alimentos ingeridos previamente interfiram na interpretação dos resultados, além de minimizar os riscos do paciente na necessidade de manobras de ressuscitação (Nowak-Wegrzyn 2009, Solé et al. 2018b).

São normas do TPO: a- o alimento a ser oferecido não deve ter contato com outros alimentos a fim de evitar reações cruzadas (Nowak-Wegrzyn et al. 2009), b- as doses do alimento ofertado devem ser crescentes, minimizando o risco de reações graves e favorecendo a identificação da menor dose capaz de provocar sinais clínicos, sendo usualmente recomendado de 8 a 10g para alimentos secos, 16 a 20g para carnes e peixes e 100ml para líquidos (Solé et al. 2018b), c- as doses e os intervalos entre as doses do alimento podem ser a cada duas horas, ou cada 15 a 30 minutos, de acordo com a clínica do paciente (Nowak-Wegrzyn et al. 2009, Horvatic et al. 2018, Solé et al. 2018b).

Na interpretação do TPO em humanos, são considerados sinais clínicos objetivos como aparecimento de eritema, urticária generalizada, palidez, angioedema, tosse, sibilo respiratório, estridor laríngeo, coriza, espirros repetitivos, alteração de voz, obstrução nasal, lacrimejamento, hiperemia conjuntival, diarreia, vômitos, queda na pressão arterial e, em 20%, aumento na frequência cardíaca, colapso e anafilaxia (Solé et al. 2018b). A identificação destes sinais clínicos confere positividade ao TPO e justificam a interrupção do procedimento e medicação do paciente caso necessário (Solé et al. 2018b).

Já os sinais clínicos considerados não observáveis ou subjetivos (pois são relatados pelos pacientes) são, dor abdominal, náusea, prurido alésional, sensação de obstrução respiratória, disfagia, dispneia, alterações comportamentais, cefaleia, recusa a ingestão do alimento e prostração (Nowak-Wegrzyn et al. 2009, Solé et al. 2018b). O relato desses sinais clínicos não justifica a interrupção do teste e sim deve-se observar por mais tempo até a remissão dos sinais clínicos e administrar a dose seguinte. Caso esses sintomas ocorram após três administrações o alimento e não se reproduzam com placebo, o teste pode ser considerado positivo (Nowak-Wegrzyn et al. 2009, Solé et al. 2018b).

Na medicina veterinária, o TPO deve ser precedido de uma dieta restritiva de duração de cinco a oito semanas (se necessário até 13 semanas) até a remissão dos sinais clínicos ou redução do prurido (Olivry et al. 2015, Johansen et al. 2017).

Cada alimento possivelmente ofensor deve ser usado individualmente no TPO, pois isso permite um diagnóstico mais acurado, identificando o(s) alérgeno(s) alimentar(es) específico(s) (Johansen et al. 2017, Possebom et al. 2022). A recorrência dos sinais clínicos após a exposição oral ao alimento ofensor confere positividade ao teste. Sintomas observáveis em cães que reagem ao alimento ofensor, como prurido generalizado, otite externa, piodermites superficiais, agravamento dos sinais de DAC, descritos por Olivry & Mueller (2019), podem ser considerados sintomas objetivos desencadeados pela TPO, assim como sinais gastrointestinais (vômito e/ou diarreia), sinais subjetivos, como náusea, dor abdominal, alterações de comportamento, cursam com a necessidade do relato dos proprietários que convivem com animal submetido a TPO.

Em um recente estudo, a média de tempo para retorno dos sinais clínicos após o TPO foi de 2,1 dias, variando de três horas até 10 dias dependendo do paciente, assim, o possível alimento ofensor deve então ser oferecido na dieta diária do cão, até no máximo 14 dias (Johansen et al. 2017).

No momento em que se identifica um alérgeno alimentar pelo TPO, este alérgeno deve ser imediatamente removido da dieta do cão, retoma-se a dieta de restrição e, após a involução dos sinais clínicos, realiza-se o TPO com outro alimento até esgotar-se os componentes da dieta pregressa ofensora (Verlinden et al. 2006).

Dietas restritivas com ensaios de provocação ou TPO subsequentes são recomendados para diagnosticar RAAs em cães, porém demanda trabalho, tempo e são onerosos (Mueller & Olivry 2017). Exames mais rápidos ou que ofereçam menos transtorno aos tutores devem aumentar a adesão destes ao processo diagnóstico e reduzir a desistência, colaborando para o diagnóstico precoce das RAAs em cães (Mueller & Olivry 2017).

5.2. Testes sorológicos.

O método de mensuração de IgE específica consiste em um parâmetro crítico para o diagnóstico de alergia mediada por IgE, onde a presença de anticorpos IgE indica sensibilização, e a concentração de anticorpos IgE torna-se um instrumento na identificação do alérgeno sensibilizante e no acompanhamento da evolução da doença alérgica (Daher et al. 2009).

Na medicina, a mensuração de IgE específica aos alérgenos alimentares é rotineiramente usada para auxiliar o diagnóstico de RAAs (Bethlehem et al. 2012) e a identificação de IgE específica pode ser sugestiva de sensibilização ao alimento testado, na maioria das vezes levando a indicação do alimento a ser utilizado em dietas restritivas e no teste de provocação oral (Solé et al. 2018b).

A medição de IgG específica não faz parte da rotina de diagnóstico de RAAs em humanos, pois, em geral, o IgG específica contra diferentes alérgenos alimentares são interpretados como um mero reflexo fisiológico da exposição ao alérgeno, não se evidenciando provas científicas que respaldem o uso da mensuração de IgG para alimentos com propósito de diagnóstico (Solé et al. 2018b). Por sua vez para Rothenberg & Bousquet (2023), as funções da IgG específica à alérgenos alimentares, estão pouco esclarecidas se comparadas as respostas mediadas por IgE específicas a alérgenos alimentares, os resultados de avaliações sorológicas de IgG específica a alérgenos alimentares, pode auxiliar na criação de uma biblioteca de dados que contribuirá para estudos e esclarecimentos futuros sobre o real papel da resposta IgG a esses alérgenos.

Muitos estudos avaliaram a IgE sérica específica contra alérgenos alimentares em cães normais e cães com doenças cutâneas ou gastrintestinais (Mueller & Unterer 2018). Em um deles, as respostas IgG e IgE de cães normais, de cães com dermatite atópica e de cães com vários tipos de doenças gastrintestinais foram comparadas e, cães normais produziram mais IgE contra carne de frango e cordeiro, enquanto, cães com dermatite atópica apresentaram mais IgE contra antígenos de ovo, peixe, porco, peru, arroz, soja do que os outros dois grupos, respectivamente (Foster et al. 2003).

Em outro estudo, cães com RAAs cutânea comprovada, cães controles normais, cães com doença de pele não alérgica e cães com dermatite atópica devido a sensibilização aos alérgenos ambientais (Dermatite atópica *strictu sensu*) foram testados por ELISA para IgE sérica específica para alimentos e, reações positivas foram encontradas apenas em um cão com dermatofitose e um cão com alergia a alérgenos ambientais (Mueller & Tsohalis 1998).

Soros pareados de cães com RAAs, com dermatite atópica *strictu sensu*, com dermatopatias alérgicas sem diagnostico etiológico específico, com doenças tegumentares não alérgicas e saudáveis foram submetidos a dois testes laboratoriais

de IgG e IgE específicos a alimentos, e não houve diferenças significativas entre os resultados entre os grupos (Hardy et al. 2014).

Em adição, outro estudo que avaliou respostas de IgE e IgG específicas para alimentos de cães com doença tegumentar alérgica também mostrou uma repetibilidade insatisfatória desses testes (Wilhelm & Favrot 2005).

Assim, o valor diagnóstico de RAA com testes sorológicos para IgE e IgG específicas para alimentos é limitado, e o teste sérico não parece ser recomendado para o diagnóstico de RAA em cães (Mueller & Unterer 2018).

Entretanto, Maina et al. (2018), concluíram em seu estudo que o teste sorológico de Western blot não deve ser considerado uma ferramenta útil no diagnóstico de RAA, porém pode ser útil na elaboração de uma dieta restritiva ou de eliminação. Assim, novos estudos são ainda necessários antes da utilização translacional destas técnicas em ambiente ambulatorial.

5.3. Testes cutâneos de puntura com extratos alimentares (*Prick-test*).

Na medicina, o teste intradérmico não tem sido recomendado com extratos de alérgenos alimentares em decorrência de alta irritabilidade, que pode conduzir à reações falso positivas e porque, em situações de alta sensibilidade, podem ter maior risco de reações anafiláticas (Motta et al. 2005).

O teste cutâneo de puntura (*prick test*) de leitura imediata é considerado um dos principais métodos para confirmação de sensibilização alérgica mediada por IgE aos alérgenos ambientais, além de ser pouco invasivo e, se realizado corretamente, de boa reprodutibilidade (Motta et al. 2005, Daher et al. 2009).

Em humanos, o *prick test* tem sido utilizado na confirmação da sensibilidade clínica a uma grande variedade de alérgenos encontrados naturalmente no ambiente (Daher et al. 2009), entretanto, os extratos alergênicos são um importante pré-requisito para a realização do exame com resultados confiáveis, e devem ser padronizados; com potência, estabilidade e composição conhecidos; sem componentes irritantes ou tóxicos e deve ter estabilidade documentada dentro dos limites aceitáveis (Motta et al. 2005).

Em humanos, no diagnóstico de RAAs o teste de puntura com extratos de alimentos denota uma relação entre o tamanho da reação, o nível de IgE específica e a resposta positiva ao teste de provocação oral (Motta et al. 2005, Daher et al. 2009).

Alguns extratos contendo alérgenos alimentares parecem perder rapidamente suas características antigênicas e atividade alergênica, conseqüentemente, alguns alergistas optam por utilizar a técnica do *prick to prick* com alimentos in natura, o que consiste em realizar punção com uma lanceta no alimento e, em seguida, realizar a punção na pele do paciente com a mesma lanceta ou punção (Bolhaar et al. 2005, Motta et al. 2005). Alimentos com consistência mais sólida podem ser macerados e diluídos em solução salina 1:3 e extratos com os alimentos frescos parecem provocar respostas mais sensíveis e exuberantes do que os extratos comerciais, com melhores correlações com a provocação oral (Motta et al. 2005).

Como RAAs em cães com dermatite atópica tem componente mediado por células e o *prick test* avalia a presença de IgE específica, casos em que prevaleçam reações tardias mediadas por células podem não ser identificados pelo teste (Johansen et al. 2017), como ocorre em pacientes humanos, o que pode limitar sua sensibilidade (Resende & Segundo, 2010)

Resultados de um recente trabalho, com 21 cães com prurido crônico não sazonal, demonstraram que a associação do *prick test* com o *patch test* resultou altos valores de sensibilidade e valor preditivo negativo, com potencial para detectar as reações IgE mediadas e não IgE mediadas, diagnosticando RAA em 76% dos 21 cães, o que denotou que os resultados negativos dos testes tiveram grande utilidade na elaboração de uma dieta restritiva nesses animais (Possebom et al. 2022).

5.4 Teste de contato (*Patch test*) com alimentos.

O teste de contato alérgico (*patch test*) em humanos é utilizado há mais de 100 anos na avaliação de dermatite de contato e, mais recentemente, utilizado na investigação de RAAs (principalmente não IgE mediada), da esofagite eosinofílica e da síndrome de enterocolite induzida por proteínas alimentares (Bethlehem et al. 2012, Edward & Martinez 2014, Johansen et al. 2017).

O teste de contato foi relatado pela primeira vez no ano de 1895 pelo dermatologista alemão Jadassohn, que o utilizou para avaliação de dermatite de contato (Lazzarini et al. 2013). Inicialmente relação entre ácaros e DA foi demonstrada por testes alérgicos de contato por Rost em 1932 e, após essa observação, outros autores corroboraram seus achados relatando o aparecimento de eczema após a

aplicação epicutânea de aeroalérgenos utilizando a técnica do teste de contato modificada denominada de “*atopyc patch test*” (APT) (Rodrigues et al. 2011).

A hipótese de que testes de contato com extratos de alimentos pudessem prever uma reação tardia aos alérgenos alimentares foi estudada primeiramente no ano de 1996 por Isolauri e Turjanmaa, e foram incluídos como testes potenciais para avaliar RAAs em crianças com prurido crônico associado a dermatite atópica (Fernandes & Prates 2007).

O teste de contato com extratos de alimentos foi inicialmente utilizado em crianças com dermatite atópica visando identificar sensibilidade cutânea a alérgenos alimentares, como proteínas do leite e ovo e, posteriormente, aos alérgenos inalatórios e medicamentos (Daher et al. 2009).

Um trabalho pioneiro descreveu reações mediadas por células após o teste de contato com extratos alimentares dissolvidos em DMSO (Breneman et al. 1989). Infiltração linfocítica tegumentar associado ao aumento local de IgE, além de IgG, IgM, C3 e C4, sugeriu a ocorrência de reações do tipo I, II e III, além das reações tardias do tipo IV a estes extratos na pele atópica (Breneman et al. 1989).

A resposta imune ao teste de contato com alimentos em 25 pacientes com autorrelatada alergia alimentar, ou com teste de punção com extratos alimentares ou titulação de IgE específica para alérgenos alimentares positivos, demonstrou a presença de respostas inflamatórias do tipo Th2, Th9 e Th17 (Ungar et al. 2017).

A importância do teste de contato na identificação de alérgenos alimentares passíveis de deflagração de eczema atópico baseia-se nos processos imunopatológicos da DA, onde mecanismos imediatos mediados por IgE coexistem com hipersensibilidade retardada induzida por células T, acredita-se que o *patch test* reproduza eventos ligados a fisiopatologia da DA, como inflamação associada à padrão de citocinas Th2 nas 24 horas iniciais do teste e, após 48 horas, o teste parece identificar um padrão de resposta Th1 (Mansouri et al. 2018).

Entretanto, mais estudos são necessários para padronizar os extratos, a técnica de realização e a interpretação dos resultados, visando melhorar sua precisão, reprodutibilidade e determinar seu papel como teste de diagnóstico (Edward & Martinez 2014).

5.4.1. Indicações do teste de contato com alimentos.

O teste de contato tem sido utilizado principalmente em reações não mediadas por IgE, porém pode haver um componente IgE em muitas reações tardias, já que moléculas de IgE na superfície das células dendríticas podem captar alérgenos alimentares e, nos mastócitos, favorecer sua degranulação, suscitando respostas imediatas, além das tardias (Maurer et al. 1995, Edwards & Martinez 2014).

Estudos demonstram que o teste de contato para alimentos ajudou na identificação de determinados pacientes humanos que apresentaram teste de punção negativo e TPO positivo, sugerindo ser uma ferramenta adicional na detecção de ambos os tipos de reações (imediate e tardia) (Edwards & Martinez 2014, Mansouri et al. 2018).

Entretanto, segundo Resende et al. (2010) e Edwards & Martinez (2014), a utilização do teste de contato com alimentos parece ter maior aplicabilidade para esclarecer o valor dos alérgenos alimentares em reações adversas aos alimentos não mediadas por IgE. Especificamente na DA, esta prova pode ser útil em casos graves e recalcitrantes (Turjanmma et al. 2006; Resende et al. 2010).

Em um estudo com 72 crianças entre dois e 12 anos de idade, Levy et al. (2012) concluíram que o teste de contato com extratos alimentares apresenta alta especificidade e podem ser utilizados para evitar dietas de eliminação em crianças em fase de desenvolvimento.

Caglayan Sozmen et al. (2015) avaliando alergia a ovo e leite de vaca em crianças, consideraram que o teste não é prático e acessível na rotina clínica diária e não teve um valor adicional para prever os resultados do TPO.

Mansouri et al. (2018) consideram o teste de contato com alimentos uma ferramenta auxiliar confiável e segura para avaliação quando se suspeita de sinais cutâneos ligados à alergia alimentar na infância, além de poder identificar pacientes onde a produção de IgE contra o alérgeno alimentar não é importante, principalmente em crianças com DA. É relevante ressaltar que em seu trabalho Mansouri et al. (2018) fizeram uso de alimentos in natura, na diluição de 1g do alérgeno alimentar para 10ml de água destilada, já Caglayan Sozmen et al. (2015) em seu trabalho fez uso de alérgenos alimentares comerciais, com alimentos liofilizados com vaselina como excipiente (ovo nas concentrações de 5 a 10 %, caseína 5 e 10%, leite de vaca 10 e 20%).

Apesar de o teste de contato alérgico com alimentos ser conhecido há décadas, persistem lacunas quanto a determinação da concentração ideal do alérgeno e o tempo de aplicação deste na pele (Daher et al. 2009). Também se observa que a metodologia utilizada difere nos estudos referidos quanto à natureza do alérgeno (extrato proteico versus alimento in natura) e alguns trabalhos não descrevem o veículo utilizado, bem como a dimensão das câmaras contensoras da fita adesiva hipoalergênica (Fernandes & Prates 2007, Daher et al. 2009). É possível encontrar também variações em relação aos tempos de aplicação e de leitura, bem como aos critérios de positividade. Assim, estas discrepâncias explicam resultados frequentemente contraditórios entre os estudos, dificultando uma avaliação clara da real utilidade deste no diagnóstico das RAAs (Fernandes & Prates 2007).

Em humanos, o teste de contato com extratos alimentares também tem sido descrito como útil na avaliação da síndrome da enterocolite induzida por alimentos (doença não mediada por IgE) e na proctite alérgica, quando associada ao teste de punção (*prick test*) (Canani et al. 2007, Resende et al. 2010).

Melhora parcial e completa, em 23 e 70%, respectivamente, dos sintomas relacionados à esofagite eosinofílica, foi observada após exclusão dietética direcionada pela associação dos resultados do teste de punção com o teste de contato com extratos alimentares (Spergel et al. 2002, Spergel et al. 2012, Edwards & Martinez 2014), entretanto, a não padronização desse teste cutâneo não o valida para diagnóstico da doença (Dall'Agnol et al. 2021).

Em cães, um estudo com teste de contato com alimentos em 25 pacientes, determinou seus valores de acurácia no diagnóstico de RAAs (Johansen et al. 2017). Os testes foram realizados com proteínas (cruas e cozidas), carboidratos (cozidos) e ração comercial seca e os resultados positivos com proteínas foram observados em 100% dos animais, com carboidratos em 70% destes e com ração em 22,2% dos cães, sendo os valores preditivos negativos, avaliados após TPO com os alimentos testados, de 100% para proteínas, 79% para carboidratos e 72% para ração seca (Johansen et al. 2017).

Em outro estudo com teste de contato com extratos alimentares em 21 cães, em relação às proteínas, observou-se reações positivas para carne de frango em 57,1% dos cães, a proteína de soja em 52,4%, carne bovina e de peixe em 47,6%, leite em 42,8%, carne suína em 38%, ovo em 23,8% e trigo em 4,8% (Possebom et

al. 2022). Neste estudo, associando teste de contato e teste de puntura, obteve-se os valores de 80% de sensibilidade, 66,7% de especificidade, 66,7% de valor preditivo positivo e 80% de valor preditivo negativo, entretanto o teste de contato, isoladamente, obteve sensibilidade de 70% e especificidade de 50%, o que pode indicar que os alérgenos alimentares podem ser passíveis da provocação de uma dermatite de contato irritante e, conseqüentemente, induzirem resultados falso positivos (Possebom et al. 2022).

Os dois últimos estudos citados concordam que o teste de contato com alimentos é útil para seleção de componentes para dietas restritivas em cães com prurido crônico e suspeita de RAAs, e para orientar uma futura TPO, caso haja minimização dos sinais clínicos (Johansen et al. 2017, Possebom et al. 2022).

Entretanto, estudos adicionais são necessários para padronização dos extratos com alimentos, visando avaliar o limiar irritativo dos extratos, a técnica de realização e a interpretação dos resultados, para melhorar a sensibilidade, especificidade, o valor preditivo positivo e acurácia do exame (Possebom et al. 2022).

5.4.2. Técnica para realização de *patch test* com alimentos.

Em humanos.

Em humanos, o teste de contato com alimentos segue uma técnica semelhante a utilizada para testes destinados ao diagnóstico de dermatite de contato alérgico (Resende et al. 2010).

A maioria dos trabalhos utilizam câmaras contensoras com extensão de 8 a 12mm, sendo já observada uma boa correlação entre o uso de câmaras contensoras de 8mm e testes de provocação oral (Resende et al. 2010). Edwards & Martinez (2014), em um trabalho avaliando alergia ao leite, ovo, soja e trigo, comentam que câmaras contensoras de 12 mm obtiveram resultados significativamente melhores em termos de sensibilidade e valor preditivo positivo (VPP).

Para a aplicação do teste de contato, a pele do paciente deve estar limpa, não apresentar sudorese, lesões ou a presença de pomadas e cremes (Resende et al. 2010, Lazzarine et al. 2013). A pele deve ser higienizada com algodão e álcool etílico

e o local de aplicação preferível é a região dorsal do corpo, sendo o limite superior a primeira vertebra torácica e o inferior os ossos da pelve, por fim os limites laterais são as linhas axilares superiores (Motta et al. 2005). Os locais para colocação do teste de contato devem estar sem a utilização prévia de corticoides tópicos por no mínimo sete dias, quatro semanas sem tratamentos com luz ultravioleta e os pacientes não devem estar utilizando anti-histamínicos pelo menos cinco dias antes do teste, corticoides sistêmicos, ciclosporina ou tacrolimo (Edwards & Martinez 2014).

Os extratos com alimentos utilizado para o teste de contato permanecem não padronizados, as diferentes preparações e concentrações desses têm resultados controversos, e as preparações comerciais carecem de estudos de eficiência, o que faz com que alimentos frescos sejam preferíveis aos comerciais (Resende & Segundo 2010, Edwards & Martinez 2014).

A literatura europeia cita a utilização do alimento fresco diretamente nos contensores no caso de leite de vaca, ovo e extrato de soja, entretanto, alimentos farináceos podem ser reconstituídos em veículo aquoso (Resende & Segundo 2010).

Em contrapartida, a literatura americana comenta a utilização de dois gramas do alimento em pó, no caso de leite desnatado, extrato de soja, farinha de trigo, ovo liofilizado, com 2ml de soro fisiológico, formando uma pasta a ser colocada diretamente sobre os contensores (Resende & Segundo 2010).

O uso de petrolato como diluente pode oferecer vantagens sobre uma solução aquosa e, apesar de estudos comparativos demonstrarem resultados similares, reações com preparações de alimentos com petrolato se mostraram mais intensas (Resende & Segundo 2010). A diluição dos extratos alimentares utilizados tem variado de 1/1 a 1/1000, em solução aquosa ou vaselina (Daher et al. 2009).

Os extratos com alimentos devem ser dispostos sob as câmaras contensoras e estas devem estar sob fita adesiva hipoalergênica, permitindo a adesão dos contensores contendo o alérgeno alimentar à pele do paciente (Daher et al. 2009, Resende & Segundo 2010). Após a preparação dos contensores com extratos alimentares, este deve ser aderido a pele e ficar em contato direto com esta por 24 a 72 horas (Daher et al. 2009). Resende & Segundo (2010) determinam que o tempo de contato ideal para o teste de contato com alimentos é 48 horas, e que esta foi muito superior a leitura em 24 horas. Levy et al. (2012), comparando os tempos de contatos de 24 e 48 horas, comprovaram que resultados positivos foram estabelecidos

principalmente em leituras realizadas após 48 horas de contato. Uma observação inicial por 20-30 minutos para verificar a tolerância, bem como orientação da retirada antecipada do teste em caso de prurido não suportável são recomendações importantes (Daher et al. 2009).

A leitura e interpretação do teste em humanos deve ser realizada 15 a 20 minutos após a remoção do teste e 24 e 48 horas depois da remoção dos contensores (Lazzarine et al. 2013). Artigos afirmam que nenhuma informação adicional foi verificada em leituras após 96 horas da aplicação do teste de contato com alimentos (Resende et al. 2012).

A interpretação dos resultados depende da habilidade, treinamento e conhecimento do profissional para obter-se um resultado confiável, alguns pesquisadores comentam que concentrações mais altas do alérgeno são passíveis de promover irritação cutânea induzindo a resultado falso positivo (Daher et al. 2009). Também resultados falso-positivos podem estar relacionados a presença de impurezas na preparação do teste, o uso de um veículo irritante, falta de diluição adequada do antígeno no veículo, reação ao adesivo utilizado, efeito da pressão local exercida por materiais sólidos ou roupas e síndrome da pele irritada (Lazzarinni et al. 2013). Em adição, técnica inadequada no momento da aplicação pode resultar em reações de irritação caracterizada como pele plissada, eritema, pápulas, pústulas foliculares, pústulas, petéquias, bolhas e necrose (Astner et al. 2005, Lazzarinni et al. 2013).

A ocorrência de resultado falso-negativo também é possível, logo, a presença deste não exclui completamente a possibilidade de RAAs e algumas causas de resultados falso-negativos podem estar relacionadas a substância não ser liberada do veículo ou ser retida na câmara contensora, oclusão insuficiente, contato curto do antígeno com a pele (descolamento dos adesivos), testes molhados ou perdidos, teste aplicado numa região não recomendada, leitura feita em um momento inadequado, local de aplicação previamente tratado com corticosteróides ou exposto à radiação UV, paciente submetido a tratamento sistêmico com corticosteróides e / ou medicamentos imunossupressores e, ainda, o alérgeno pode não estar em sua forma ativa ou estar degradado (Lindemberg & Matura 2011, Lazzarinni et al. 2013).

Oppermann et al. (2021) demonstraram que a dermatoscopia pode auxiliar na interpretação dos resultados do teste de contato, especialmente nas reações mais sutis, discretas e duvidosas, quando vista a olho nu, pode resultar em falso negativo.

Para interpretação dos resultados, a Revised European Task Force on Atopic Dermatitis (ETFAD) no ano de 2003 publicou uma proposta revisada da interpretação dos APT para alimentos na dermatite atópica conforme a Tabela 1.

Tabela 1- Recomendações para leitura do teste de contato para alimentos de acordo com a *European Task Force on Atopic Dermatitis (ETFAD)*.

-	Negativo
?	Apenas discreto eritema
+	Eritema e infiltração
++	Eritema associado a poucas pápulas
+++	Eritema associado a múltiplas e difusas pápulas
++++	Eritema associado à vesículas

A presença de reação +++ ou ++++ tem alto valor preditivo positivo para hipersensibilidade tardia ao alimento estudado.

Modificado de Resende e Segundo, 2010

Em 2006, uma padronização de interpretação específica para crianças com DA e suspeita de AA, indica que a presença de infiltração concomitante com a presença de ao menos sete pápulas parece ter um grande potencial diagnóstico ao ser comparado com o teste de provocação oral, que é o padrão ouro para o diagnóstico de AA (Heine et al. 2006).

Em cães.

A técnica sugerida para realização do teste de contato cutâneo com alimentos em cães inclui a preparação da área onde se realizará o teste (área da pele de 20 cm × 10 cm ao longo do tórax lateral), que deve ser suavemente tosada com máquina de tosa elétrica, preferencialmente, 24 a 48 horas antes do teste, para minimizar reações irritantes (Bethlehem et al. 2012, Possebom et al. 2022). O local

pode ser higienizado com solução fisiológica e, após estar seco, deve-se imediatamente fixar contensores (Bethlehem et al. 2012, Possebom et al. 2022).

O tempo recomendado de abstinência de glicocorticóides sistêmicos e da ciclosporina antes do teste de contato é de quatro semanas; para anti-histamínicos e glicocorticóides tópicos é de duas semanas (Johansen et al. 2017).

Os extratos alimentares utilizados na maioria dos trabalhos publicados são processados com alimento *in natura* ou cozido, na proporção de 500mg de alimento para 0,2ml de vaselina ou petrolato (Bethlehem et al. 2012, Johansen et al. 2017, Possebom et al. 2022). Os extratos alimentares são então colocados nas câmaras contensoras que na sequência, são fixadas na pele previamente tosada com fitas adesivas hipoalergênicas (Bethlehem et al. 2012, Possebom et al. 2022), uma câmara contensora deve ser preenchida apenas com vaselina, atuando como controle negativo (Possebom et al. 2022).

Para auxiliar na sua manutenção, cobre-se a fita adesiva com ataduras de crepom e bandagem elástica para minimizar a chance de o cão tirar o contensor com os extratos alimentares, sendo muitas vezes indicado a utilização de trajes de recuperação cirúrgica (Bethlehem et al. 2012, Possebom et al. 2022). O tamanho das câmaras contensoras usadas em cães varia de 8mm a 12mm de diâmetro em diferentes artigos (Bethlehem et al. 2012, Possebom et al. 2022).

A variação de tempo para leitura pós aplicação do teste de contato em cães variou de 24, 48 a 72 horas, entretanto, 48 horas de manutenção do contensor em contato com a pele parece ser o tempo necessário para se evidenciar reações positivas (Possebom et al. 2022). Após este período é recomendado a retirada do contensor e, imediatamente após esta, e depois de 15 a 30 minutos, se realiza a leitura e interpretação das reações (Bethlehem et al. 2012, Johansen et al. 2017, Possebom et al. 2022). Uma segunda leitura pode também ser recomendada após 24 horas da retirada do contensor (Bethlehem et al. 2012).

Prontamente após a remoção realiza-se então a marcação com caneta dermatográfica das impressões das câmaras contensoras, o que tem por objetivo facilitar sua identificação (Bethlehem et al. 2012, Johansen et al. 2017, Possebom et al. 2022). Os locais do teste são avaliados e deve-se levar em consideração à presença de eritema, edema, pápulas, pústulas, micro- vesículas e erosões (Bethlehem et al. 2012, Johansen et al. 2017, Possebom et al. 2022).

Na medicina veterinária a interpretação dos resultados do teste de contato com alimentos em cães com DA é baseada principalmente na escala de pontuação desenvolvida por Bethlehem et al. (2012) (Tabela 2).

Tabela 2. Avaliação das reações do teste de contato com alimentos em cães com DAC.

-0 = nenhuma reação visível ou irritação;
-1+ = eritema leve;
-2+ = eritema moderado;
-3+= eritema exuberante;
-++= eritema e múltiplas pápulas;
-+++= eritema com vesiculação e/ou pústulas, ou lesões mais exuberantes.

Modificado de Bethlehem et al., 2012.

A presença de eritema leve já é reconhecida como reação positiva ao teste de contato com alimentos, e parece ser a reação positiva mais frequente observada em cães com DA (Bethlehem et al. 2012, Johansen et al. 2017).

6. Conclusão.

Em cães, o teste de contato com alimentos tem altos valores preditivos negativos, que o capacitam para seleção de alimentos e formulações de dietas restritivas para cães com prurido crônico e perene com suspeição de RAAs, além da orientação de testes de provocação oral. A padronização da forma e concentração dos extratos, do tamanho de contêntores, do tempo de oclusão, momento da leitura e da interpretação das reações pode ser útil afim de melhorar sua especificidade, valores preditivos e acurácia, tornando esse teste útil para o diagnóstico de RAA.

7-Referências

Astner S, González E, Cheung AC, Rius-Díaz F, Doukas AG, William F, González S. 2005. Non-invasive evaluation of the kinetics of allergic and irritant contact dermatitis. *J Invest Dermatol.* 124(2):351-9. <[https://dx.doi: 10.1111/j.0022-202X.2004.23605.x](https://dx.doi.org/10.1111/j.0022-202X.2004.23605.x)> <PMid: 15675954>

Baumann SA, Fritz C, Mueller RS. 2020. Food antigen-specific IgE in dogs with suspected food hypersensitivity. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere.* 48(6):395-402.
<[https://dx. doi: 10.1055/a-1274-9210](https://dx.doi.org/10.1055/a-1274-9210). Epub 2020 Dec 4.> <PMid: 33276389.>

Baviera G, Maiello N, Galli E. 2015. Staphylococcus aureus and atopic dermatitis: which came first, the chicken or the egg? *European Medical Journal – Dermatology.* (1): 92 - 97.
<[https://emj.emg-health.com/wp-content/uploads/sites/2/2018/02/Staphylococcus-Aureus-and-Atopic-Dermatitis- Which-Came-First-the-Chicken-or-the-Egg...pdf](https://emj.emg-health.com/wp-content/uploads/sites/2/2018/02/Staphylococcus-Aureus-and-Atopic-Dermatitis-Which-Came-First-the-Chicken-or-the-Egg...pdf)>

Bergmann MM, Caubet JC, Boguniewicz M, Eigenmann PA. 2013. Evaluation of food allergy in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 1(1):22-8.
<[https://dx.doi: 10.1016/j.jaip.2012.11.005](https://dx.doi.org/10.1016/j.jaip.2012.11.005).> <PMid: 24229818>

Bexley J, Kingswell N, Olivry T. 2019. Serum IgE cross-reactivity between fish and chicken meats in dogs. *Veterinary Dermatology.* 30(1):25-e8.
<[https://dx.doi: 10.1111/vde.12691](https://dx.doi.org/10.1111/vde.12691). Epub 2018 Oct 30.> <PMid: 30378189>

Bethlehem S, Bexley J, Mueller RS. 2012. Patch testing and allergen-specific serum IgE and IgG antibodies in the diagnosis of canine adverse food reactions. *Vet Immunol Immunopathol.* 15;145(3-4):582-9. <[https://dx.doi: 10.1016/j.vetimm.2012.01.003](https://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2012.01.003). Epub 2012 Jan 12.> <PMid: 22301200>

Bhagat R, Sheikh AA, Wazir VS, Mishra A and Maibam U. 2017. Food allergy in canines: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 5(6): 1522-1525.
<<https://www.entomoljournal.com/archives/2017/vol5issue6/PartU/5-6-129-107.pdf>>

Bindslev-Jensen C, Ballmer-Weber BK, Bengtsson U, Blanco C, Ebner C, Hourihane J, Knulst AC, Moneret-Vautrin DA, Nekam K, Niggemann B, Osterballe M, Ortolani C, Ring J, Schnopp C, Werfel T. 2004. European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods--position paper from the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy*. 59(7):690-7.
<<https://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2004.00466.x>> <PMID: 15180754>

Bolhaar ST, van de Weg WE, van Ree R, Gonzalez-Mancebo E, Zuidmeer L, Bruijnzeel-Koomen CA, Fernandez-Rivas M, Jansen J, Hoffmann-Sommergruber K, Knulst AC, Gilissen LJ. 2005 In vivo assessment with prick-to-prick testing and double-blind, placebo-controlled food challenge of allergenicity of apple cultivars. *J Allergy Clin Immunol*. 116(5):1080-6. D
<<https://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2005.07.004>. Epub 2005 Sep 1. Erratum in: *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Jan;117(1):189.> <PMid: 16275380.>

Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, Wood RA, Plaut M, Cooper SF, Fenton MJ, Arshad SH, Bahna SL, Beck LA, Byrd-Bredbenner C, Camargo CA Jr, Eichenfield L, Furuta GT, Hanifin JM, Jones C, Kraft M, Levy BD, Lieberman P, Luccioli S, McCall KM, Schneider LC, Simon RA, Simons FE, Teach SJ, Yawn BP, Schwaninger JM. 2010. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. *J Allergy Clin Immunol*. 126(6 Suppl):S1-58.
<<https://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2010.10.007>> <PMid: 21134576>

Breneman JC, Sweeney M, Robert A. Patch tests demonstrating immune (antibody and cell-mediated) reactions to foods. *Ann Allergy*. 1989 May;62(5):461-9.
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2470275/>> <PMid: 2470275>

Burks AW, Tang M, Sicherer S, Muraro A, Eigenmann PA, Ebisawa M, Fiocchi A, Chiang W, Beyer K, Wood R, Hourihane J, Jones SM, Lack G, Sampson HA. 2012. ICON: food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 129(4):906-20.

<<https://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.02.001>. Epub 2012 Feb 23.> <PMid: 22365653>

Caffarelli C, Petroccione T. 2001. False-negative food challenges in children with suspected food allergy. *Lancet.* 358(9296):1871-2.

<[https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)06897-0](https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06897-0).> <PMid: 11741628.>

Caglayan Sozmen S, Povesi Dascola C, Gioia E, Mastroilli C, Rizzuti L, Caffarelli C. 2015. Diagnostic accuracy of patch test in children with food allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 26(5):416-22.

<<https://dx.doi.org/10.1111/pai.12377>. Epub 2015 May 11.> <PMid: 25808316>

Canani RB, Ruotolo S, Auricchio L, Caldore M, Porcaro F, Manguso F, Terrin G, Troncone R. Diagnostic accuracy of the atopy patch test in children with food allergy-related gastrointestinal symptoms. *Allergy.* 2007 Jul;62(7):738-43.

<<https://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01351.x>.> <PMid: 17573720>

Carlotti DN. 2017 Food Allergy in Dogs and Cats: Current Dermatological Perspectives. *ECVD.* P 1-17.

<[2https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/173836/mod_resource/content/0/2017%20Food%20Allergy%20in%20Dogs%20and%20Cats.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/173836/mod_resource/content/0/2017%20Food%20Allergy%20in%20Dogs%20and%20Cats.pdf)>

Chehade M, Mayer L. 2005. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *J Allergy Clin Immunol.* 115(1):3-12; quiz 13.

<<https://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2004.11.008>.> <PMid: 15637539>

Cork MJ, Robinson DA, Vasilopoulos Y, Ferguson A, Moustafa M, MacGowan A, Duff GW, Ward SJ, Tazi-Ahnini R. 2006. New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: gene-environment interactions. *J Allergy Clin Immunol.* 118(1):3-21

<<https://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2006.04.042>. Epub 2006 Jun 9.> <PMid: 16815133>

Day MJ. 2005. The canine model of dietary hypersensitivity. *Proc Nutr Soc.* 64(4):458-64.

<<https://dx.doi.org/10.1079/pns2005455>.> <PMi: d16313687>

Daher S, Galvao C, Abe A, Cocco R. 2009. Diagnóstico em Doenças Alérgicas Mediadas por IgE. *Rev. bras. alerg. imunopatol.* 32(1):3-8

<http://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=172>

Dall'Agnol L, Souza PS, Bernhardt C, Ferrari F. 2021. Esofagite eosinofílica: uma revisão narrativa. *Arq Asma Alerg Imunol.* 5(2):135-141.

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.aras.2021.05.001>.>

DeBoer DJ, Marsella R. 2001. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII): the relationship of cutaneous infections to the pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 81(3-4):239-49.

<[https://dx.doi.org/10.1016/S0165-2427\(01\)00345-2](https://dx.doi.org/10.1016/S0165-2427(01)00345-2).> <PMid: 11553386>

Edwards KP, Martinez BA. 2014. Atopy patch testing for foods: a review of the literature. *Allergy Asthma Proc.* 35(6):435-43.

<<https://dx.doi.org/10.2500/aap.2014.35.3797>.> <PMid: 25584910>

Fernandes NP, Prates S. 2007. Qual o papel do patch test no diagnóstico da alergia alimentar? Revisão da literatura. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia.* 15(5): 377-385.

<https://www.spaic.pt/client_files/rpia_artigos/qual-o-papel-do-patch-test-no-diagnostico-da-alergia-alimentar-revisao-da-literatura.pdf>

Ferreira MD, Neto LP, Ribeiro RG. 2015. Alergia a alfa-gal: uma revisão sistemática. *Braz J Allergy Immunol.* 3(6):241-250.

<https://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=744>

Foster AP, Knowles TG, Moore AH, Cousins PD, Day MJ, Hall EJ. 2003. Serum IgE and IgG responses to food antigens in normal and atopic dogs, and dogs with gastrointestinal disease. *Vet Immunol Immunopathol*. 2003 May 12;92(3-4):113-24.
<[https://dx.doi.org/10.1016/s0165-2427\(03\)00033-3](https://dx.doi.org/10.1016/s0165-2427(03)00033-3)> <PMid: 12730012>

Fritsch DA, Allen TA, Dodd CE, Jewell DE, Sixby KA, Leventhal PS, Brejda J, Hahn KA. 2010. A multicenter study of the effect of dietary supplementation with fish oil omega-3 fatty acids on carprofen dosage in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc*. 236(5):535-9.
<<https://dx.doi.org/10.2460/javma.236.5.535>> <PMid: 20187817>

Greenhawt M. 2011. Oral food challenges in children: review and future perspectives. *Curr Allergy Asthma Rep*. 11(6):465-72.
<[doi: 10.1007/s11882-011-0219-2](https://doi.org/10.1007/s11882-011-0219-2)> <PMid: 21901306>

Hardy JL, Hendricks A, Loeffler A, Chang YM, Verheyen KL, Garden OA, Bond R. 2014. Food-specific serum IgE and IgG reactivity in dogs with and without skin disease: lack of correlation between laboratories. *Vet Dermatol*. 25(5):447-e70.
<<https://dx.doi.org/10.1111/vde.12137>> Epub 2014 Jun 1. <PMid: 24890097>

Hemida MBM, Salin S, Vuori KA, Moore R, Anturaniemi J, Rosendahl S, Barrouin-Melo SM, Hielm-Björkman A. 2021. Puppyhood diet as a factor in the development of owner-reported allergy/atopy skin signs in adult dogs in Finland. *J Vet Intern Med*. 35(5):2374-2383.
<<https://dx.doi.org/10.1111/jvim.16211>> Epub 2021 Jul 14. <PMid: 34258795>

Heine RG, Verstege A, Mehl A, Staden U, Rolinck-Werninghaus C, Niggemann B. 2006. Proposal for a standardized interpretation of the atopy patch test in children with atopic dermatitis and suspected food allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 17(3):213-7.
<<https://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3038.2005.00368.x>> <PMid: 16672009>

Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill P, Griffin C. 2015. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res*. 11:196.

<<https://dx.doi.org/10.1186/s12917-015-0515-5>> <PMid: 26260508>

Heratizadeh A, Wichmann K, Werfel T. 2011 Food allergy and atopic dermatitis: how are they connected? *Curr Allergy Asthma Rep.*11(4):284-91.

<<https://dx.doi.org/10.1007/s11882-011-0202-y>> <PMid: 21614611>

Horvatic LB, Chong-Silva DC, Riedi CA, Chong-Neto HJ, Rosário NA. 2018. Utilidade do teste de provocação oral aberto no diagnóstico de alergia alimentar. *Arq Asma Alerg Imunol.* 2(4):458-462

<https://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=954>

Johansen C, Mariani C, Mueller RS. 2017. Evaluation of canine adverse food reactions by patch testing with single proteins, single carbohydrates and commercial foods. *Vet Dermatol.* 28(5):473-e109.

<<https://dx.doi.org/10.1111/vde.12455>. Epub 2017 May 22.> <PMid: 28544017>

Lazzarini R, Duarte I, Ferreira AL. 2013. Patch tests. *An Bras Dermatol.* 88(6):879-88.

<<https://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20132323>> <PMid: 24474094>

Levy SA, DORTAS Junior SD, Pires AH, Abe AT, Valle SO, Coelho VP, Hahnstadt LR, França AT. 2012. Atopy patch test (APT) in the diagnosis of food allergy in children with atopic dermatitis. *An Bras Dermatol.* 87(5):724-8.

<<https://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962012000500009>> <PMid: 23044565>

Lindberg M, Matura M 2011. Patch Testing, p. 439-64. In: Johansen JD, Frosch PJ, Lepoittevin JP (Eds), *Contact Dermatitis*, 5th. ed. Verlag.

Lloyd DH 2014. The role os bacterial agents in the pathogenesis of canine atopic dermatites, p. 51-57. In: Noli C, Foster A, Rosenkrantz W (Eds), *Veterinary Alergy*. Wiley Blacwell, West Sussex, UK. <<https://dx.doi.org/10.1002/9781118738818.ch7>>

Maina E, Matricoti I, Noli C. 2018. An assessment of a Western blot method for the investigation of canine cutaneous adverse food reactions. *Veterinary Dermatology*. 29(3):217-e78.

<<https://dx.doi.org/10.1111/vde.12536>. Epub 2018 Apr 6>. <PMid: 29624757>

Mansouri M, Rafiee E, Darougar S, Mesdaghi M, Chavoshzadeh Z. 2018. Is the Atopy Patch Test Reliable in the Evaluation of Food Allergy-Related Atopic Dermatitis? *Int Arch Allergy Immunol*. 175(1-2):85-90.

<<https://dx.doi.org/10.1159/000485126>. Epub 2018 Jan 13.> <PMid: 29332097>

Marsella R. 2012. An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet Med (Auckl)*. 3:85-91. <<https://dx.doi.org/10.2147/VMRR.S28488>> <PMid: 30101088>

Matricoti I, Noli C. 2018. An open label clinical trial to evaluate the utility of a hydrolysed fish and rice starch elimination diet for the diagnosis of adverse food reactions in dogs. *Vet Dermatol*. 29(5):408-e134.

<<https://dx.doi.org/10.1111/vde.12680>. Epub 2018 Aug 23.> <PMid: 30141280>

Maurer D, Ebner C, Reininger B, Fiebiger E, Kraft D, Kinet JP, Stingl G. 1995. The high affinity IgE receptor (Fc epsilon RI) mediates IgE-dependent allergen presentation. *The Journal of Immunology*. 155(12):6285-90.

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7759866/>> <PMid: 7759866>

Miller WH, Griffin CE, Campbell KL. Muller & Kirk's. 2013. *Small Animal Dermatology*, 7^o ed. Elsevier/Saunders, St. Louis, p. 363-431.

Motta AA, Kalil J, Barros MT. Testes Cutâneos. *Revista brasileira de alergias e imunopatologia*. 2005; 2 (28): 73-83. http://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=365

Mueller RS, Olivry T. 2017. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (4): can we diagnose adverse food reactions in dogs and cats with in vivo or in vitro tests? *BMC Veterinary Research*. 13(1):275.

<[https://dx.doi: 10.1186/s12917-017-1142-0](https://dx.doi.org/10.1186/s12917-017-1142-0)> <PMid: 28854915>

Mueller RS, Tsohalis J. 1998. Evaluation of serum allergen-specific IgE for the diagnosis of food adverse reactions in the dog. *Veterinary Dermatology*. 9(3):167-171.
<[https://dx.doi: 10.1046/j.1365-3164.1998.00107.x](https://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3164.1998.00107.x)> <PMid: 34644944>

Mueller RS, Unterer S. 2018. Adverse food reactions: Pathogenesis, clinical signs, diagnosis and alternatives to elimination diets. *Veterinary Journal*. 236:89-95.
<[https://dx.doi: 10.1016/j.tvjl.2018.04.014](https://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.04.014). Epub 2018 Apr 25.> <PMid: 29871756>

Nowak-Wegrzyn A, Assa'ad AH, Bahna SL, Bock SA, Sicherer SH, Teuber SS. 2009. Adverse Reactions to Food Committee of American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. Work Group report: oral food challenge testing. *J Allergy Clin Immunol*. 123(6 Suppl):S365-83.
<[https://dx.doi: 10.1016/j.jaci.2009.03.042](https://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2009.03.042)> <PMID: 19500710>

Nuttal T, Harvey R, McKeever PK. 2010. Enfermedades Cutáneas del Perro y el Gato. *Servet, Zaragoza*. p.146 – 153.

Olivry T, Bizikova P. 2010. A systematic review of the evidence of reduced allergenicity and clinical benefit of food hydrolysates in dogs with cutaneous adverse food reactions. *Veterinary Dermatology*. 21(1):32-41.
<[https://dx.doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00761.x](https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00761.x)> <PMid: 19552700>

Olivry T, Marsella R, Iwasaki T, Mueller R. 2007. International Task Force On Canine Atopic Dermatitis. Validation of CADESI-03, a severity scale for clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*. 18(2):78-86.
<[https://dx.doi: 10.1111/j.1365-3164.2007.00569.x](https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3164.2007.00569.x)> <PMid: 17355421>

Olivry T, Mueller RS. 2019. Critically Appraised Topic on Adverse Food Reactions of Companion Animals (8): Storage Mites in Commercial Pet foods. *BMC Veterinary Research*. 15(1):385.
<[https://dx.doi: 10.1186/s12917-019-2102-7](https://dx.doi.org/10.1186/s12917-019-2102-7)> <PMid: 31672139>

Olivry T, Mueller RS, Prélaud P. 2015. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (1): duration of elimination diets. *BMC Vet Res.* 11:225.

<[https://dx.doi: 10.1186/s12917-015-0541-3](https://dx.doi.org/10.1186/s12917-015-0541-3)> <PMid: 26310322>

Olivry T, O'Malley A, Chruszcz M. 2022. Evaluation of the theoretical risk of cross-reactivity among recently identified food allergens for dogs. *Veterinary Dermatology.* 33(6):523-526.

<[https://dx.doi: 10.1111/vde.13110](https://dx.doi.org/10.1111/vde.13110). Epub 2022 Aug 31.> <PMid: 36043337>

Oppermann K, Cattani CAS, Bonamigo RR. 2021. Usefulness of dermoscopy in the evaluation of patch test reactions. *Anais Brasileiros de Dermatologia.* 96(6):706-711.

<[https://dx.doi: 10.1016/j.abd.2021.04.006](https://dx.doi.org/10.1016/j.abd.2021.04.006). Epub 2021 Oct 8.> <PMid: 34629194>

Pali-Schöll I, De Lucia M, Jackson H, Janda J, Mueller RS, Jensen-Jarolim E. 2017. Comparing immediate-type food allergy in humans and companion animals-revealing unmet needs. *Allergy.* 72(11):1643-1656.

<[https://dx.doi: 10.1111/all.13179](https://dx.doi.org/10.1111/all.13179). Epub 2017 May 22.> <PMid: 28394404.>

Picco F, Zini E, Nett C, Naegeli C, Bigler B, Rüfenacht S, Roosje P, Gutzwiller ME, Wilhelm S, Pfister J, Meng E, Favrot C. 2008. A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland. *Veterinary Dermatology.* 19(3):150-5.

<[https://dx.doi: 10.1111/j.1365-3164.2008.00669.x](https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3164.2008.00669.x)> <PMid: 18477331>

Possebom J, Cruz A, Gmyterco VC, de Farias MR. 2022. Combined prick and patch tests for diagnosis of food hypersensitivity in dogs with chronic pruritus. *Veterinary Dermatology.* 33(2):124-e36.

<[https://dx.doi: 10.1111/vde.13055](https://dx.doi.org/10.1111/vde.13055). Epub 2022 Jan 11.> <PMid: 35014738>

Proverbio D, Perego R, Spada E, Ferro E. 2010. Prevalence of adverse food reactions in 130 dogs in Italy with dermatological signs: a retrospective study. *J Small Anim Pract.* 51(7):370-4.

<[https://doi: 10.1111/j.1748-5827.2010.00951.x](https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2010.00951.x)> <PMID: 2056692>

Pucheu-Haston CM, Bizikova P, Eisenschenk MN, Santoro D, Nuttall T, Marsella R. 2015. Review: The role of antibodies, autoantigens and food allergens in canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 26(2):115-e30.

<[https://dx.doi: 10.1111/vde.12201](https://dx.doi.org/10.1111/vde.12201)> <PMID: 25728611>

Pucheu-Haston CM, Mougeot I. 2020. Serum IgE and IgG responses to dietary antigens in dogs with and without cutaneous adverse food reactions. *Vet Dermatol.* (2):116-127.

<[https://dx.doi: 10.1111/vde.12810](https://dx.doi.org/10.1111/vde.12810)> <PMID: 31749195>

Resende ERMA, Segundo GRS. 2010. Testes cutâneos de leitura tardia para alimentos - revisão da literatura. *Rev. bras. alerg. imunopatol.* 33(5):184-189.

<http://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=100>

Resende ERMA, Silva GB, Segundo RS. 2012. Testes cutâneos de leitura tardia para alimentos na dermatite atópica de difícil controle. *Rev. bras. alerg. Immunopatol.* 35(03):109-112. <<http://www.sbai.org.br/revistas/vol353/relato-de-caso.pdf>>

Rodrigues RN, Melo JF, Montealegre F, Hahnstadt RL, Pires MC. 2011. Evaluation of patch test with airborne allergic agents in patients with atopic dermatitis. *Anais Brasileiros de Dermatologia.* 86(1):37-43.

<[https://dx.doi: 10.1590/s0365-05962011000100004](https://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962011000100004)> <PMid: 21437520>

Rothenberg MC & Bousquet J. 2023. Food-specific IgG responses in nonallergic individuals related to dietary intake. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* March: 679-680.

Roudebush P. 2013. Ingredients and foods associated with adverse reactions in dogs and cats. *Veterinary Dermatology*. 24(2):293-4.

<<https://dx.doi.org/10.1111/vde.12014>. Epub 2013 Feb 18.> <PMid: 23413825>

Saridomichelakis MN, Olivry T. 2016. An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Veterinary Journal*. 207:29-37.

<<https://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.09.016>. Epub 2015 Sep 16.> <PMid: 26586215>

Simou C, Thoday KL, Forsythe PJ, Hill PB. 2005. Adherence of *Staphylococcus intermedius* to corneocytes of healthy and atopic dogs: effect of pyoderma, pruritus score, treatment and gender. *Veterinary Dermatology*. 16(6):385-91.

<<https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3164.2005.00484.x>.> <PMid: 16359305>

Shimakura H, Nasukawa T, Uchiyama J, Sugimoto R, Imanishi I, Oota S, Mizukami K, Fujimura M, Sakaguchi M. 2021. IgE reactivity to milk components in dogs with cutaneous adverse food reactions. *J Vet Med Sci*. 2;83(10):1509-1512.

<<https://dx.doi.org/10.1292/jvms.21-0162>. Epub 2021 Aug 9.> <PMid: 34373420.>

Solé D, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC, Pastorino AC, Weffort V, Moraes MB, Barreto BP, Oliveira JC, Castro APM, Franco JM, Chong Neto HJ, Rosário NA, Alonso MLO, Sarinho EC, Yang A, Maranhão H, Toporovski MS, Epifanio M, Wandalsen NF, Rubini NM. 2018 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 Imunol*. 2(1):7-38.

<http://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=851>

Solé D, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC, Pastorino AC, Weffort V, Moraes MB, Barreto BP, Oliveira JC, Castro APM, Franco JM, Chong Neto HJ, Rosário NA, Alonso MLO, Sarinho EC, Yang A, Maranhão H, Toporovski MS, Epifanio M, Wandalsen NF, Rubini NM. 2018. 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 Imunol. 2(1):39-82.

<http://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=865>

Solomon SEB, Farias MR, Pimpão CT, Myasava S, Oliveira TV. 2010. Piodermite bacteriana em cães com dermatite atópica- Revisão de literatura. MedVet Dermatol; 1(1): 57-62.

Spergel JM, Beausoleil JL, Mascarenhas M, Liacouras CA. 2002. The use of skin prick tests and patch tests to identify causative foods in eosinophilic esophagitis. J Allergy Clin Immunol. 109(2):363-8. <<https://dx.doi.org/10.1067/mai.2002.121458>> <PMid: 11842310>

Spergel JM, Brown-Whitehorn TF, Cianferoni A, Shuker M, Wang ML, Verma R, Liacouras CA. 2012. Identification of causative foods in children with eosinophilic esophagitis treated with an elimination diet. J Allergy Clin Immunol. 130(2):461-7.e5. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.05.021>. Epub 2012 Jun 27.> <PMid: 22743304>

Steinhoff M, Ahmad F, Pandey A, Datsi A, AlHammadi A, Al-Khawaga S, Al-Malki A, Meng J, Alam M, Buddenkotte J. 2022. Neuroimmune communication regulating pruritus in atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 149(6):1875-1898. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2022.03.010>. Epub 2022 Mar 23.> <PMid: 35337846.>

Turjanmaa K, Darsow U, Niggemann B, Rancé F, Vanto T, Werfel T. 2006. EAACI/GA2LEN position paper: present status of the atopy patch test. Allergy. 61(12):1377-84.

<<https://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2006.01136.x>> <PMid: 17073865>

Ungar B, Correa da Rosa J, Shemer A, Czarnowicki T, Estrada YD, Fuentes-Duculan J, Xu H, Zheng X, Peng X, Suárez-Fariñas M, Nowak-Węgrzyn A, Sampson HA, Krueger JG, Guttman-Yassky E. 2017. Patch testing of food allergens promotes Th17 and Th2 responses with increased IL-33: a pilot study. Exp Dermatol. 26(3):272-275.

<[https://dx.doi: 10.1111/exd.13148](https://dx.doi.org/10.1111/exd.13148). Epub 2017 Jan 10.> <PMid: 27488305>

Verlinden A, Hesta M, Millet S, Janssens GP. 2006. Food allergy in dogs and cats: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 46(3):259-73.

<[https://dx.doi: 10.1080/10408390591001117](https://dx.doi.org/10.1080/10408390591001117).> <PMid: 16527756>

Wang J, Sampson HA. 2011. Food allergy. *J Clin Invest*. 121(3):827-35.

<[https://dx.doi: 10.1172/JCI45434](https://dx.doi.org/10.1172/JCI45434). Epub 2011 Mar 1.> <PMid: 21364287>

Werfel T, Breuer K. 2004. Role of food allergy in atopic dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 4(5):379-85.

<[https://dx.doi: 10.1097/00130832-200410000-00009](https://dx.doi.org/10.1097/00130832-200410000-00009)> <PMID: 15349037>

Wilhelm S, Favrot C. 2005. Futtermittelhypersensitivitäts-Dermatitis beim Hund: Möglichkeiten der Diagnose [Food hypersensitivity dermatitis in the dog: diagnostic possibilities]. *Schweiz Arch Tierheilkd*. 147(4):165-71. German.

<[https://dx.doi: 10.1024/0036-7281.147.4.165](https://dx.doi.org/10.1024/0036-7281.147.4.165).> <PMid: 15861923>

CAPÍTULO 2

**Artigo científico a ser submetido à revista científica de publicação periódica:
Veterinary Dermatology**

Padronização de extratos de proteína bovina, suína, de frango e de soja para teste de contato e de sua acurácia no diagnóstico das reações adversas aos alimentos em cães com prurido crônico.

Raniere Gaertner*, Júlia Só Severo*, Rolnei Ruan Daros*, Marconi Rodrigues de Farias*.

*Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Escola de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR, Rua Imaculada Conceição, 1155, 80215-901 Curitiba-PR, Brasil.

Correspondência:

Marconi Rodrigues de Farias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Escola de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR, Rua Imaculada Conceição, 1155, 80215-901 Curitiba-PR, Brasil.

E-mail: marconi.puc@terra.com.br

Fontes de financiamento:

This work was supported in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Financed code 001.

Conflitos de interesse:

Não há conflitos de interesse no desenvolvimento deste estudo.

Introdução – Devido sua alta previsibilidade negativa, o teste de contato alérgico com alimentos (TCA) tem sua utilidade, na seleção de alimentos para compor dietas restritivas (DR), a não indicação do TCA para diagnóstico de reação adversa ao alimento (RAA) parece ser devido sua baixa previsibilidade positiva e falta de padronização do teste.

Objetivos - Avaliar as concentrações de alérgenos alimentares da proteína de frango, bovina, suína e soja, para utilização em teste de contato alérgico (TCA) em cães. Também avaliar sensibilidade (SE), especificidade (ESP), valores preditivos negativo (VPN) e positivo (VPP), a presença de reações aos adesivos e/ou contêntores, e a segurança do teste de contato alérgico com alimentos em cães.

Material e métodos – Realizou-se DR em 11 cães com dermatite atópica canina (DAC), avaliação da escala visual de prurido (pVAS) e escore lesional (CADESI-4) antes e depois da DR (dias 0 e 35), após a DR os cães foram submetidos ao TCA com proteína bovina, suína, de frango e de soja em quatro concentrações diferentes (100mg/0,2ml; 250mg/0,2ml; 500mg/0,2ml; 1000mg/0,2ml) em seguida os pacientes foram submetidos a teste de provocação oral (TPO), com todas as proteínas utilizadas no teste de contato alérgico, TPO positivo e TPO negativo foram realizados para avaliar valores de acurácia dos testes.

Resultados – Após 35 dias de DR, os 11 cães com DAC apresentaram redução no pVAS e CADESI-4 ($p<0,05$), no TCA esses cães reagiram as proteínas testadas. No TPO apresentaram aumento do prurido ($p<0,05$). Valores de acurácia: proteína bovina e frango nas concentrações de 500mg/0,2ml e 1000mg/0,2ml, e soja com 1000mg/0,2ml, apresentaram SE 100%, ESP 100%, VVP 100% e VPN 100%, proteína suína com 1g/0,2ml obteve SE 100%, ESP 83%, VPP 83% e VPP 100%.

Conclusão e Importância clínica – O TCA com proteína bovina, de frango na concentração de 500mg/0,2ml e 1000mg/0,2ml e de soja na concentração 1000mg/0,2ml, baseado nos resultados deste estudo, pode ser indicado para diagnóstico de RAA em cães com DAC.

INTRODUÇÃO

Prurido crônico, não sazonal e de início lesional em cães pode estar associado a reações adversas aos alimentos (RAAs), em aproximadamente 25% dos cães com dermatopatias alérgicas e de 30 a 76% em cães com dermatite atópica (DA).

1, 2, 3, 4

As RAAs em cães com dermatite atópica podem envolver respostas de hipersensibilidade imediatas mediadas por IgE, ou crônicas mediadas por células, a diferentes componentes do alimento, o que pode levar ao desenvolvimento de prurido e sinais clínicos contínuos e perenes nestes animais. 2, 5,6,7,8

Atualmente o “padrão ouro” para diagnóstico das RAAs em cães com prurido crônico consiste na instituição de dieta restritiva (DR), seguida do teste de provocação oral (TPO).^{2,9,10}

Entretanto, a DR por ser laboriosa, longa, de difícil execução e onerosa, são frequentemente associadas à desistência, o que torna necessário a busca de métodos diagnósticos acessíveis, rápidos e com bons índices de acurácia.¹¹

Atualmente inexiste na medicina veterinária testes laboratoriais que permitam o diagnóstico definitivo das RAAs.¹⁰ O teste de puntura tem se mostrado útil em humanos quando há prevalência de uma resposta de IgE na RAAs, porém, geralmente é associado a baixa especificidade e valores preditivos positivos.^{10,11,12}

O teste de contato alérgico com alimentos, na medicina, é utilizado há mais de 35 anos como exame auxiliar no diagnóstico da alergia alimentar (AA), especialmente em indivíduos com dermatite atópica (DA), na qual mecanismos não mediados por IgE compõem sua fisiopatologia.¹³

Entretanto, a falta de padronização e baixa especificidade do TCA têm feito com que este não seja amplamente recomendado na prática clínica¹⁴, sendo considerado um exame auxiliar para avaliar a relação de sintomas dermatológicos com AA em crianças com DA.¹⁵

Já em cães com prurido crônico, geralmente associados a dermatite atópica, quando o TCA é realizado de forma isolada ou em associação com o teste de puntura, este apresenta altos valores preditivos negativos (VPN), e seus resultados têm sido utilizados na escolha de componentes de dietas restritivas.¹⁰

Assim, a padronização das concentrações de alimentos utilizadas no TCA e de sua interpretação são necessárias para melhorar seus índices de acurácia e possibilitar sua utilização na prática clínica em cães com prurido crônico.^{13,16}

O objetivo do presente trabalho é determinar às concentrações de extratos de proteína de frango, bovina, suína e de soja para serem utilizados no teste de contato alérgico com alimentos (*Atopic patch test*) em cães com prurido crônico associado à RAA, e avaliar a sensibilidade (SE), especificidade (ESP), valores preditivos negativo (VPN) e positivo (VPP), inocuidade e segurança do exame.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para uso de Animais em Pesquisa (CEUA-PUCPR), sob o registro 02256.

O estudo teve caráter transversal, controlado e não aleatorizado.

Grupo experimental

Para avaliação das concentrações limiares irritativas de extratos alimentares foram triados cães, independente da raça e sexo, com idade superior a um ano e peso superior a 3 kg, os quais foram divididos em dois grupos de estudos. O grupo 1 foi composto por 20 cães hígidos, sem histórico mórbido pregresso de doenças dermatológicas e sistêmicas. O grupo 2 foi formado com 23 cães com histórico de prurido crônico, primário, perene, de intenso a grave, localizado em regiões interdigitais, axilar, abdominal, inguinal, tinham histórico de otite recorrente e, alguns com prurido perioral e perianal. De todos foi descartada a presença de dermatopatias pruriginosas de origem infecciosa, parasitária ou dermatite alérgica à pulgas através de provas diagnósticas complementares, como exame parasitológico de raspado de pele e citologia cutânea. Também somente foram incluídos no grupo 2, cães que apresentassem pelo menos seis dos oito critérios clínicos estabelecidos por Favrot et al. (2010).¹⁷

Todos os 43 cães apresentavam rigoroso controle de endoparasitas (praziquantel, febantel e pirantel uso oral, sem palatilizante, mensal durante o estudo) e ectoparasitas (fipronil tópico a cada 14 dias, durante o estudo) e protocolo vacinal atualizado, sendo triados a partir do atendimento da Clínica Veterinária Escola-PUCPR e da Clínica de Dermatologia Veterinária Pet Center, ambas no sul do Brasil.

Critérios de exclusão

Foram excluídos do grupo 2, cães na vigência de uso glicocorticóides sistêmicos até pelo menos quatro semanas antes do início do protocolo experimental; glicocorticóides tópicos e anti-histamínicos pelo menos duas semanas antes do protocolo experimental;¹⁰ cães com dermatite atópica crônica que apresentassem liquenificação na área a ser fixado o TCA. De ambos os grupos, foram excluídos cães que apresentasse reações de desconforto, prurido e alterações de comportamento com o TCA; cães que removeram os contensores e extratos alergênicos durante o

TCA e cães que os tutores que não seguiram os protocolos experimentais estabelecidos.

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Preparação dos grupos experimentais

Todos os responsáveis pelos cães do grupo 2 forneceram informações referentes ao grau de prurido, marcando um valor na escala visual analógica (pVAS - *Pruritus Visual Analogue Scale*)¹⁸ padronizada por Rybníček et al. (2009), onde 0 significa prurido inexistente e 10 significa prurido intenso. Logo após estes eram submetidos ao exame clínico e avaliação lesional de acordo com a escala CADESI-4 (*Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index*)¹⁹ elaborada e validada por Olivry et al. (2014).

Dieta restritiva

Todos os cães do grupo 2 a partir do dia 0 foram submetidos a uma dieta restritiva com um copo de 190 ml de lentilha e meio copo de 190 ml de batata doce, para cada 5kg²⁰ de peso vivo diariamente, e avaliados nos dias 0 e 35 de acordo com o cronograma do estudo.

A melhora clínica foi avaliada de acordo com os escores lesionais e de prurido pré estabelecidos em cada momento e ao final do tratamento, sendo a resposta da avaliação da escala pVAS, estabelecida como: (a) sem melhora; (b) redução até 50%: regular; (c) redução de 50.1 a 80%: boa; (d) redução de 80.1- 90%: muito boa e (e) redução do prurido acima de 90%: excelente.²¹

Teste de contato alérgico

Os cães de ambos os grupos foram submetidos ao TCA com extratos elaborados a partir de carnes cruas de bovino, suíno, frango e soja cozida, sendo os cães do grupo 1, a partir do dia 0, e os cães do grupo 2, após a DR.

Preparação dos extratos alimentares

Os extratos para o TCA foram elaborados a partir de carnes cruas de bovino, suíno, frango e de soja cozida, as quais eram processadas em um multi-processador de alimentos Philips Walita RI7636/750W (Philips Electronics Nederland B.V.,

Eindhoven, Netherlands)¹⁰ e homogeneizados em vaselina semi-sólida em quatro concentrações diferentes: a- 100mg/0,2ml, b- 250mg/0,2ml, c-500mg/0,2ml, d- 1000mg/0,2ml e, em seguida, acondicionados em seringas plásticas de 20 ml (10g de extrato em cada seringa).

Preparação dos contensores e teste de contato com extratos alimentares

Para preparação do TCA com extratos alimentares foram utilizadas câmaras contensoras com 10 poços de 8 mm de diâmetro aderidas a uma fita hipoalergênica (AlergoChamber®, neoflex, Sertãozinho-SP, Brasil) (Figura 1).

A primeira linha, no sentido dorso ventral, foi sempre composta por extratos bovinos, a segunda com suíno, a terceira com frango e a quarta com soja. O último poço da primeira coluna era preenchido com vaselina, como controle negativo.

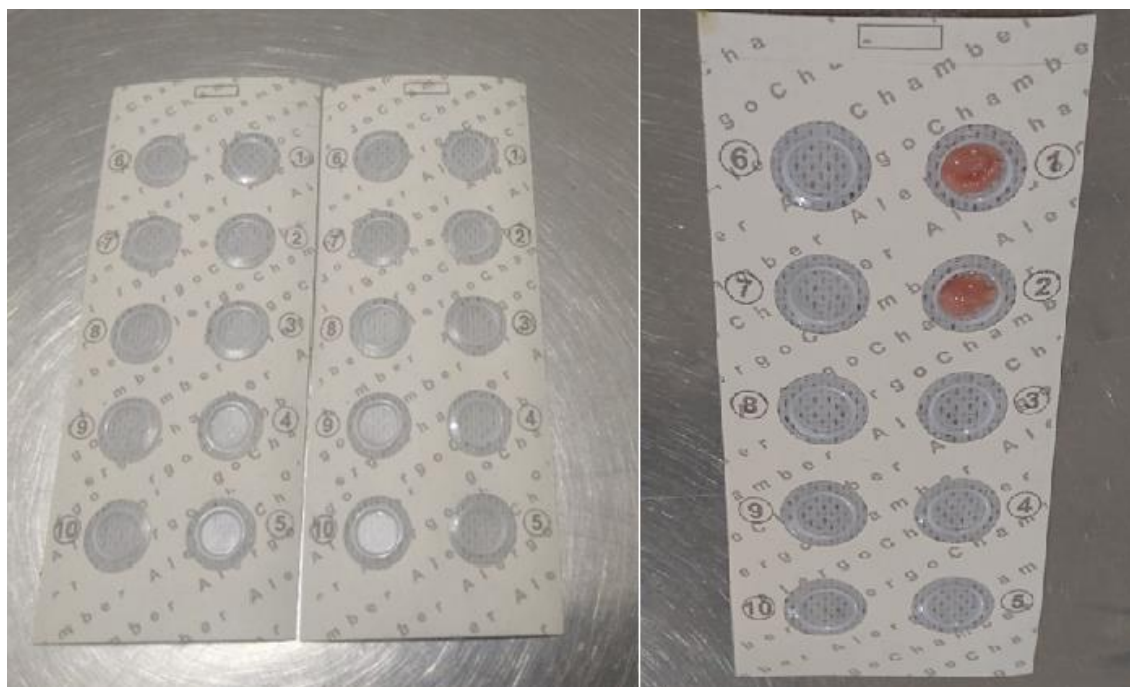


Figura 1. AlergoChamber®, neoflex, com câmaras contensoras de 8mm, utilizada para TCA com extratos alimentares.

Para execução dos TCA, os cães de ambos os grupos foram submetidos à tosa com lâmina 40, na região lateral torácica direita, em uma área aproximada de 20cmx15cm (Figura 2 A), 48 horas antes do teste, para minimizar reações irritantes.

16

No dia do teste, as câmaras eram preparadas e fixadas na pele após leve higienização com solução fisiológica. As fitas AlergoChambers eram fixadas dorso-

ventralmente, e dispostas lado a lado, para orientar a leitura das possíveis reações, de forma que, cada linha era composta por quatro poços, os quais eram preenchidos com extratos de concentrações crescentes de cada alimento testado (Figura 2 B).

Após a fixação, as AlergoChambers foram recobertas por ataduras de crepom de 12cm e esparadrapo 10cm sobre as ataduras (Figura 2 C). Em seguida, os cães foram vestidos por roupas cirúrgicas específicas, de acordo com seu peso (Figura 2 D).¹⁰



Figura 2. Teste de contato em cães com prurido crônico associado a DAC. A. Tricotomia da área reservada ao teste de contato. B. Fita hipoalergênica Alergochambers® com os extratos de alimentos aderida a pele do cão. C. Fixação do teste de contato alérgico com ataduras de crepom e esparadrapo. D. Roupas cirúrgicas para auxílio da fixação do teste de contato alérgico.

Interpretação do teste de contato com extratos alimentares

As câmaras AlergoChambers foram removidas após 48 horas, esperava-se de 15 a 30 minutos e, logo após, as reações eram interpretadas como previamente estabelecido por Bethlehem et al. (2012)¹⁶ (Tabela 1) (Figura 3 A, B, C, D, F).

Tabela 1. Pontuação das lesões em *patch test* em cães.

-0 = nenhuma reação visível ou irritação;
-1+ = eritema leve;
-2+ = eritema moderado;
-3+ = eritema intenso;
-4+ = eritema e placa;
-5+ = eritema com vesiculação e/ou pústulas, ou lesões mais intensas.

Modificado de Bethlehem et al., 2012.

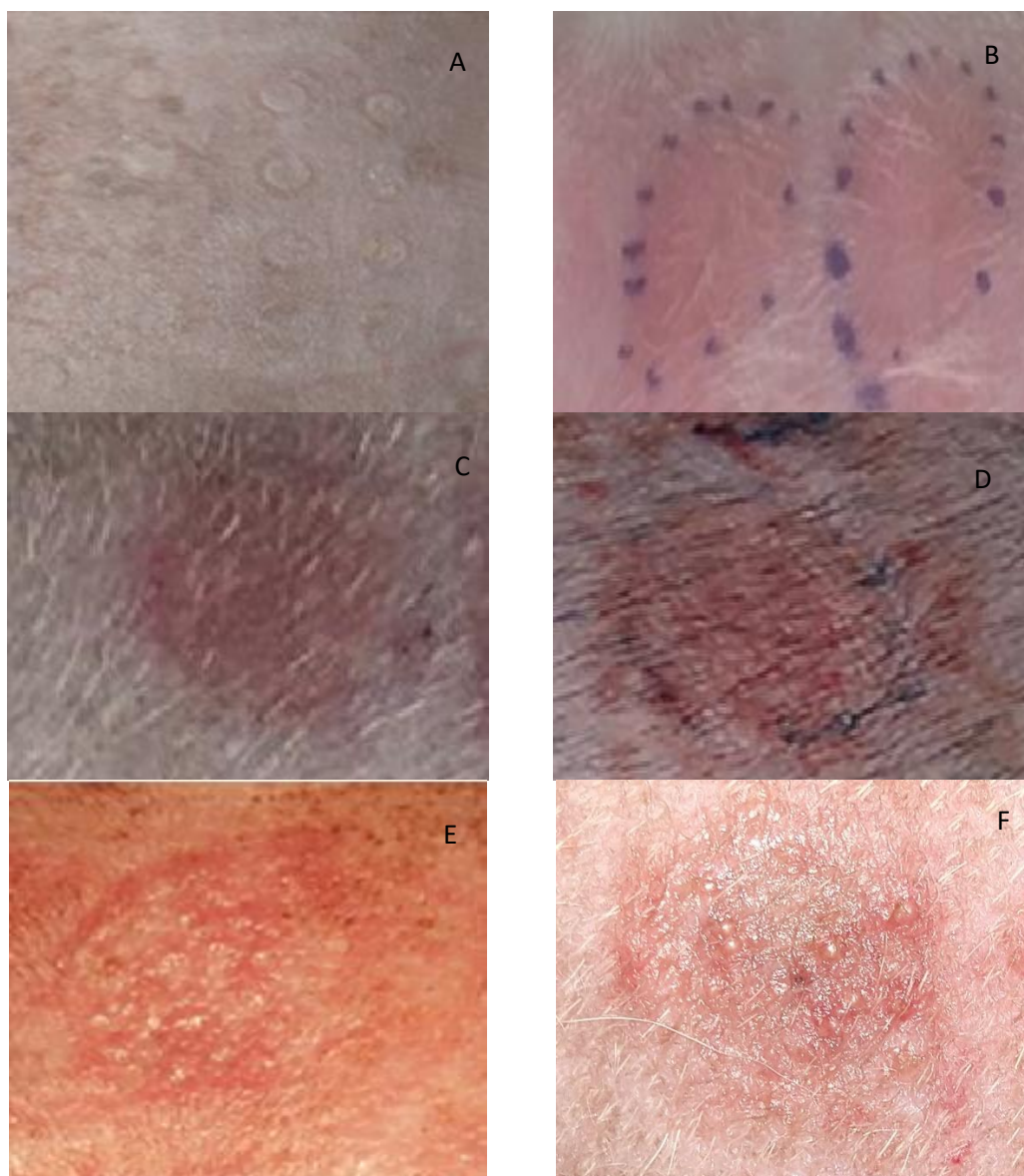


Figura 3. Reações ao teste de contato, A. Reação negativa. B. Eritema leve (1+). C. Eritema moderado (2+). D. Eritema intenso, (3+). E. Eritema e edema/placa (4+). F. Eritema com vesiculação e/ou pústulas, ou erosões (5+).

Teste de provocação oral (TPO) nos animais do grupo 2

Os cães do grupo 2, após as avaliações da resposta à DR e ao TCA, foram então submetidos ao TPO, com cada proteína testada, independente do resultado da reação do teste de contato, e avaliados até a recorrência dos sinais clínicos, ou, caso este não ocorresse, por um período máximo de 14 dias.

A proteína ofertada no TPO, era adicionada a DR, na quantidade aproximada de 10 a 20 gramas a cada refeição que o paciente realizava diariamente (duas a quatro refeições diárias, variando de paciente para paciente).

Ao apresentar recorrência dos sinais clínicos ao TPO, o alimento ofensor era suspenso, o paciente medicado com oclacitinib (Apoquel®, Zoetis; São Paulo, Brasil), na dose de 0,5mg/kg VO, a cada 12h por até três dias, e a DR sem a presença da proteína ofensora era reiniciada. Novo TPO somente era realizado após uma semana da interrupção do tratamento para o controle do prurido e melhora clínica do paciente.

Análise estatística

Dados demográficos incluindo, raça e sexo estão apresentados em valores absolutos e porcentagem. Dados referentes à idade estão apresentados em média e desvio padrão.

Dados relacionados ao TCA foram descritos em porcentagem de reações aos extratos alimentares.

Avaliações das escalas de prurido (pVAS) e lesional (CADESI-4) foram apresentadas como média e desvio padrão. A análise dos escores de ambas as escalas ao longo do tempo foram analisadas por meio de análise de variância com medidas repetidas, com intervalo de confiança a 95% e $p < 0,05$, usando teste t-pareado (*paired t-test*).

Medidas de desempenho diagnóstico (sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo) do TCA, com as quatro proteínas, nas quatro concentrações e diferentes reações consideradas positivas, foram calculadas utilizando tabelas de contingência.

As análises foram realizadas no software estatístico R (R Core Team, 2019).

RESULTADOS

Dados demográficos e epidemiológicos.

Não houve perda amostral dentre os 20 cães do grupo 1. Destes, nove (45%) eram mestiços e 11 (55%) de raça específica; a média etária foi de 7,95 anos e o desvio padrão de 3,65 anos, sendo 13 (65%) machos e sete (45%) fêmeas.

Em relação ao grupo 2, dos 23 cães que iniciaram o estudo, seis tutores não mantiveram a dieta restritiva e desistiram. Dos 17 cães que seguiram o estudo, dois eram mestiços (11,8%) e 15 de raça específica (88,2%), sendo nove (52,9%)

machos e oito (47,1%) fêmeas, a média de idade de 7,29 anos e desvio padrão de 2,58 anos.

Tabela 2: Dados demográficos dos cães incluídos no estudo.

Variável	Grupo 1 (N=20)	Grupo 2 (N=17)
Idade (Anos)		
Média	7,95	7,29
Desvio padrão	3,65	2,58
Raça	11 (55%)	15 (88,2%)
Mestiços	9 (45%)	2 (11,8%)
Sexo		
Macho	13 (65%)	9 (52,9%)
Fêmea	7 (35%)	8 (47,1%)

Reações observadas nos cães do grupo 1

Na avaliação das reações ao TCA com os quatro alimentos testados, nas várias concentrações, dos 20 cães hígidos, somente um cão (5%) apresentou reações identificadas como eritema leve (1+) a proteína bovina, nas concentrações de 500mg/0,2ml e de 1g/0,2ml.

Resposta a dieta restritiva dos cães do grupo 2

Dos 17 cães que seguiram com a dieta DR, quatro (23,52%) não obtiveram melhora significativa durante 35 dias de dieta. Suas médias de CADESI 4, no dia 0 e 35, foram de 16,75 e 17,25; e de pVAS foi 7,125 e 7,5 (onde $p > 0,05$; $p = 0,41$ no Pvas e $p = 0,77$ no cadesi-4).

Os outros 13 cães (76,5%) do grupo 2 apresentaram melhora percentual significativa, tanto do prurido (Gráfico 1) quanto do quadro lesional (Gráfico 2) em 35 dias.

A média do pVAS dos 13 cães no dia 0 da dieta foi de 8,61 e no dia 35 da dieta foi de 2,96, caracterizando uma redução percentual do prurido de 66% ($p < 0,05$, sendo $p = 2,651E-10$) (Tabela 3), considerada boa (entre 50,1% a 80%). Em avaliação individual, 4 cães (30,8%) tiveram redução até 50%, considerada regular; 6 (46,1%) reduziram o prurido entre 50,1% a 80%, considerada boa; 2 (15,4%) tiveram redução entre 80,1% e 90% considerada ótima, e 1 (7,7%) paciente teve redução entre 90,1% a 100% considerada excelente.

Já a média do CADESI-4 dos 13 cães com DA no dia 0 de dieta foi de 18,54 e no dia 35 de 8,46, caracterizando uma redução de 54,4% na pontuação da escala lesional ($p < 0,05$, onde $p = 2,90037E-09$).

Gráfico 1. Comparação da escala visual de prurido (pVAS) no dia 0 e no dia 35 de dieta restritiva, N:13.

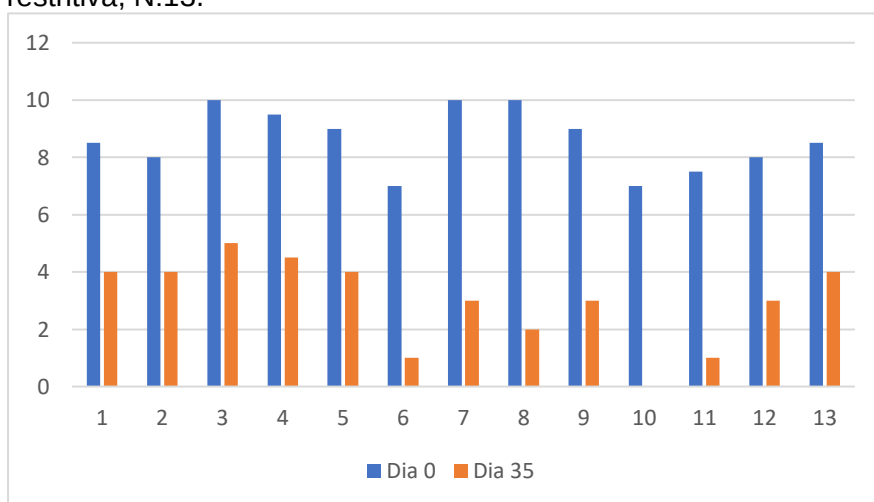


Gráfico 2. Comparação do quadro lesional (CADESI-4) no dia 0 e no dia 35 de dieta restritiva, N:13.

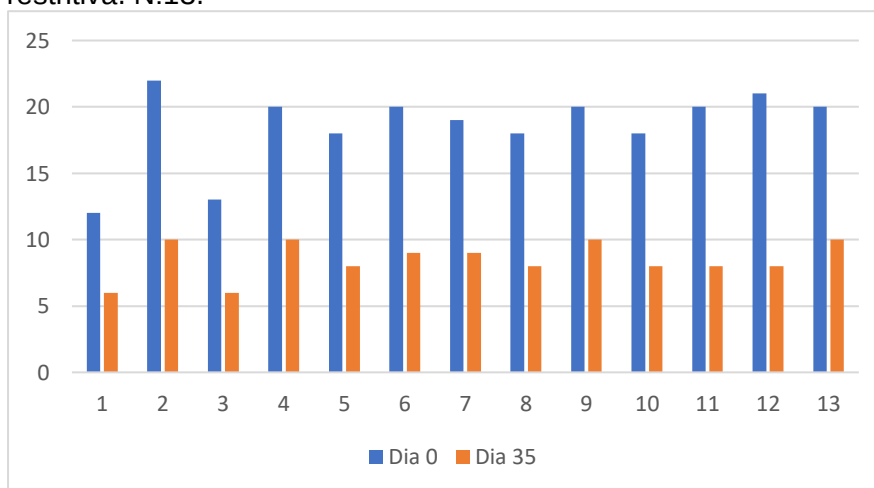


Tabela 3. Médias, porcentagem de redução e desvio padrão em relação ao T0 dos valores de CADESI-4 e de pVAS dos cães do grupo 2 (N-13).

Tempo	Pvas			CADESI 4		
	pVAS (média)	Porcentagem de redução (em relação ao T0)	pVAS (Dp)	CADESI (média)	Porcentagem de redução (em relação ao T0)	CASESI (Dp)
T0	8,61	-	1,040	18,54	-	2,818
T35	2,96	66%	1,473	8,46	54,4%	1,337

Reações ao teste de contato alérgico com alimentos nos animais do grupo 2 após a DR

Os quatro cães que não apresentaram melhora significativa com a DR foram submetidos ao TCA com alimentos e, após 48 horas, estes foram negativos para todas as proteínas testadas nas várias concentrações.

Dos 13 cães que melhoraram com a DR e foram submetidos ao TCA, dois apresentaram reações exacerbadas ao contensor, manifestando inquietação, desconforto e prurido intenso, sendo retirados do protocolo experimental e devidamente medicados (Figura 4 A).

Dentre os 11 cães que permaneceram no protocolo experimental, oito (72,72%) reagiram ao frango, oito (72,72%) reagiram a soja, seis (54,54%) reagiram a bovino e seis (54,54%) reagiram a suíno.

Observando a intensidade das reações positivas, num total de 79 reações, 55 (69,62%) foram eritemas leves (1+), 17 (21,52%) eritemas moderados (2+), quatro (5,06%) eritemas intensos (3+), um (1,26%) eritema intenso associado micropápulas e placa (4+) e dois (2,53%) eritemas intensos e microvesiculações (5+).

As proteínas de suíno e soja desencadearam reações mais leves, em todas as concentrações testadas.

A proteína de frango desencadeou o maior número de reações, totalizando 27, sendo que o eritema leve foi encontrado em 22 reações (81,48%).

A proteína bovina desencadeou 18 reações, seis eritemas leves (33,33%), seis moderados (33,33%) e três eritemas intensos (16,66%), e foi a única proteína associada à uma reação com eritema, micropápulas e placa (5,55%) e duas reações com eritema intenso e vesiculações (11,11%).

Dos 11 animais que completaram o protocolo experimental, oito (72,7%) reagiram a mais de uma proteína testada, sendo que três (27,3%) cães reagiram às

quatro proteínas, três (27,3%) reagiram a três proteínas, dois (18,2%) reagiram a duas proteínas e três (27,3%) reagiram somente a uma proteína testada.

Os escores reacionais a cada concentração dos alimentos testados estão dispostos na tabela 4.

Tabela 4. Escores reacionais a cada concentração (mg/0,2ml) dos alimentos (bovino, suíno, frango e soja) testados nos 11 cães avaliados que seguiram no estudo.

Proteína	Bovina				Suína			
	100	250	500	1000	100	250	500	1000
Reação								
1+	1	2	2	1		1	3	2
2+		1	2	3			2	4
3+		1	1	1				
4+		1						
5+			1	1				
Total	1	5	6	6		1	5	6
Proteína	Frango				Soja			
	100	250	500	1000	100	250	500	1000
Reação								
1+	4	7	6	5	1	6	7	7
2+			2	2				1
3+				1				
4+								
5+								
Total	4	7	8	8	1	6	7	8

Reações ao adesivo e aos contensores utilizados

Dentre os 17 cães que realizaram o TCA, seis (35,29%) apresentaram reações de contato irritante ao adesivo das AllergoChambers®, sendo observados eritema nos espaços entre as câmaras contensoras e demais pontos de contato do adesivo com a pele previamente tricotomizada (Figuras 4 A e B), e em três (50%) desses seis foram observadas reações aos contensores plásticos, caracterizadas por eritema associado a edema de configuração anular ou arciforme (Figura 4 C e D).

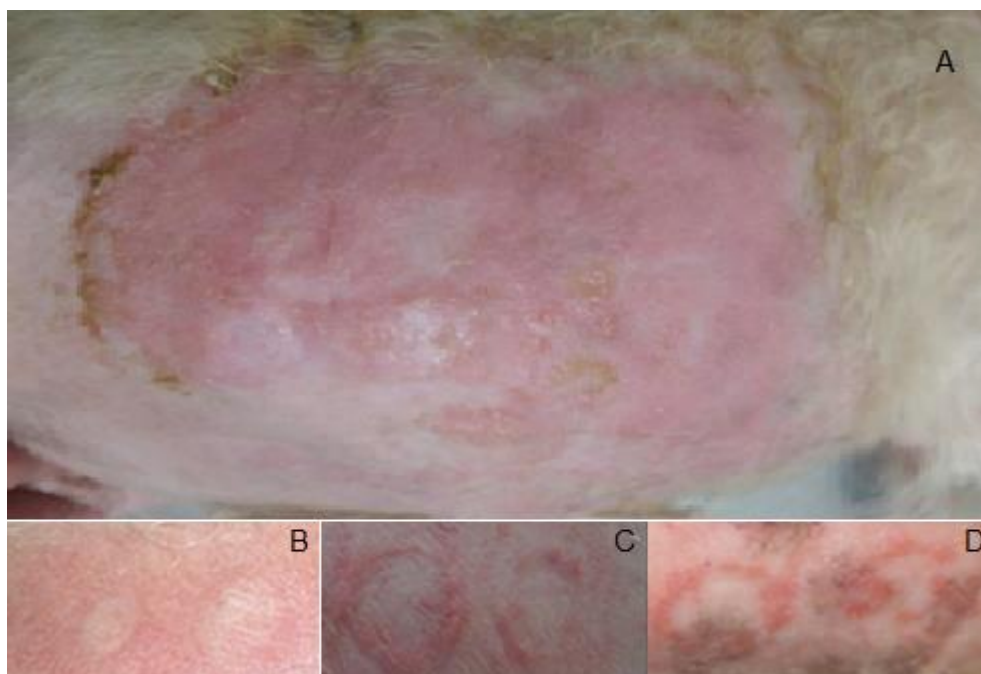


Figura 4. A. Eritema placar, edema e exsudação causado pelo contato com extratos alérgenos alimentares e adesivo do patch test. B. Eritema pelo contato com o adesivo do patch test. C. Lesões anulares causadas pelo contato com as margens dos contensores. D. Lesões arciformes causadas pelo contato com as margens dos contensores.

Avaliação do TPO nos pacientes do grupo 2

Nos quatro cães que não apresentaram melhora significativa com a DR e que não reagiram ao TCA, não foi possível realizar o TPO pela não adesão dos proprietários.

Todos os 11 cães que melhoraram com a DR e reagiram ao TCA, apresentaram recorrência dos sinais clínicos após a exposição aos alimentos aos quais reagiram ($p < 0,05$, onde $p = 4,12861E-06$), com exceção de um cão (9,09%) que reagiu a carne suína, e o TPO com esta foi realizado e estendido por 14 dias, sem recorrência dos sinais clínicos.

Os valores do pVas no dia 0 e no 35º dia de DR e após os TPOs, em média, desvio padrão, valores máximos e mínimos, estão demonstrados na Tabela 5.

Tabela 5. Média dos valores da escala visual de prurido (pVAS) no dia 0 e no dia 35 da dieta restritiva e média dos valores de TPO positivos (N:11).

Dia\dieta	Média	Desvio padrão	Mínima	Máxima
Dia 0	8,681	1,113	7	10
Dia 35	2,863	1,568	0	5
TPO +	6,918	0,791	5,5	8

Não houve recorrência dos sinais clínicos após o TPO em nenhum dos cães, quando estes foram desafiados por 14 dias com os alimentos com os quais foram negativos no teste de contato (Tabela 6).

Tabela 6. Número de animais e relação entre a proteína testada (independente da concentração), resultado do teste de contato alérgico com alimentos e do teste de provocação oral, nos 11 cães do grupo 2 que concluíram o estudo.

Proteína testada	Teste de contato positivo	TPO Positivo	Teste de contato negativo	TPO negativo
Frango	8	8	3	3
Soja	8	8	3	3
Bovino	6	6	5	5
Suíno	6	5	5	6

Avaliação dos índices de acurácia do teste de contato com alimentos

Nos 11 cães em que o TCA com alimentos foram positivos e recorreram os sintomas com o TPO, foram avaliados os índices de acurácia do teste.

A avaliação da SE, ESP, VPP e VPN, relacionando os escores reacionais e cada concentração dos alimentos testados estão demonstradas na tabela 7.

Tabela 7. Valores de acurácia para as quatro concentrações das proteínas bovina, suína, de frango e soja testadas, considerando positivo sequencialmente reação $\geq 1+$, $\geq 2+$, $\geq 3+$, $\geq 4+$, $\geq 5+$.

Proteína bovina positivo $\geq 1+$	SE%	ESP%	VPP%	VPN%
100mg/0,2ml	17(0, 64)	100(48,100)	100(3,100)	50(19,81)
250mg/0,2ml	83(36,100)	100(48,100)	100(48,100)	83(36,100)
500mg/0,2ml	100(54,100)	100(48,100)	100(54,100)	100(48,100)
1000mg/0,2ml	100(54,100)	100(48,100)	100(54,100)	100(48,100)
Proteína bovina positivo $\geq 2+$				
100mg/0,2ml	100(54,100)	0(0, 52)	55(23, 83)	NA*(0, 100)
250mg/0,2ml	50(12, 88)	100(48,100)	100(29,100)	62(24,91)
500mg/0,2ml	67(22, 96)	100(48,100)	100(40,100)	71(29,96)
1000mg/0,2ml	83(36, 100)	100(48,100)	100(48,100)	83(36, 100)
Proteína bovina positivo $\geq 3+$				
100mg/0,2ml	100(54,100)	0(0,52)	55(23,83)	NA*(0,100)
250mg/0,2ml	33(4,78)	100(48,100)	100(16,100)	56(21,86)
500mg/0,2ml	33(4,78)	100(48,100)	100(16,100)	56(21,86)
1000mg/0,2ml	33(4,78)	100(48,100)	100(16,100)	56(21,86)
Proteína bovina positivo $\geq 4+$				
100mg/0,2ml	100(54,100)	0(0,52)	55(23,83)	NA*(0,100)
250mg/0,2ml	17(0,64)	100(48,100)	100(3,100)	50(19,81)
500mg/0,2ml	17(0,64)	100(48,100)	100(3,100)	50(19,81)
1000mg/0,2ml	17(0,64)	100(48,100)	100(3,100)	50(19,81)

Proteína bovina positivo ≥ 5+				
100mg/0,2ml	100(54,100)	0(0,52)	55(23,83)	NA*(0,100)
250mg/0,2ml	100(54,100)	0(0,52)	55(23,83)	NA*(0,100)
500mg/0,2ml	17(0, 64)	100(48,100)	100(3,100)	50(19,81)
1000mg/0,2ml	17(0,64)	100(48,100)	100(3,100)	50(19,81)
Proteína suína positivo ≥ 1+	SE%	ESP%	VPP%	VPN%
100mg/0,2ml	100(48,100)	0(0,46)	45(17,77)	NA*(0,100)
250mg/0,2ml	0(0,52)	83(36,100)	0(0,97)	50(19,81)
500mg/0,2ml	80(28,99)	83(36,100)	80(28,99)	83(36,100)
1000mg/0,2ml	100(48,100)	83(36,100)	83(36,100)	100(48,100)
Proteína suína positivo ≥ 2+				
100mg/0,2ml	100(54,100)	0(0,52)	55(23,83)	NA*(0,100)
250mg/0,2ml	100(54,100)	0(0,52)	55(23,83)	NA*(0,100)
500mg/0,2ml	40(5,85)	100(54,100)	100(16,100)	67(30,93)
1000mg/0,2ml	80(28,99)	100(54,100)	100(40,100)	86(42,100)
Proteína de frango positivo ≥ 1+	SE%	ESP%	VPP%	VPN%
100mg/0,2ml	50(16, 84)	100(29,100)	100(40,100)	43(10, 82)
250mg/0,2ml	88(47,100)	100(29,100)	100(59,100)	75(19, 99)
500mg/0,2ml	100(63,100)	100(29,100)	100(63,100)	100(29,100)
1000mg/0,2ml	100(63,100)	100(29,100)	100(63,100)	100(29,100)
Proteína de frango positivo ≥ 2+				
100mg/0,2ml	100(63,100)	0(0, 71)	73(39,94)	NA*(0,100)
250mg/0,2ml	100(63,100)	0(0, 71)	73(39,94)	NA*(0,100)
500mg/0,2ml	25(3, 65)	100(29,100)	100(16,100)	33(7, 70)
1000mg/0,2ml	38(9, 76)	100(29,100)	100(29,100)	38(9, 76)
Proteína de frango positivo ≥ 3+				
100mg/0,2ml	100(63,100)	0(0, 71)	73(39, 94)	NA*(0, 100)
250mg/0,2ml	100(63,100)	0(0, 71)	73(39, 94)	NA*(0, 100)
500mg/0,2ml	100(63,100)	0(0, 71)	73(39, 94)	NA*(0, 100)
1000mg/0,2ml	12(0, 53)	100(29,100)	100(3, 100)	30(7, 65)
Proteína de soja positivo ≥ 1+	SE%	ESP%	VPP%	VPN%
100mg/0,2ml	12(0, 53)	100(29,100)	100(3,100)	30(7, 65)
250mg/0,2ml	75(35, 97)	100(29,100)	100(54,100)	60(5, 95)
500mg/0,2ml	88(47, 100)	100(29,100)	100(59,100)	75(19,99)
1000mg/0,2ml	100(63,100)	100(29,100)	100(63,100)	100(29,100)
Proteína de soja positivo ≥ 2+				
100mg/0,2ml	100 (63, 100)	0(0, 71)	73(39, 94)	NA*(0, 100)
250mg/0,2ml	100 (63, 100)	0(0, 71)	73(39, 94)	NA*(0, 100)
500mg/0,2ml	100 (63, 100)	0(0, 71)	73(39, 94)	NA*(0, 100)
1000mg/0,2ml	12(0, 53)	100(29,100)	100 (3, 100)	30(7, 65)

*não se aplica

DISCUSSÃO.

Grande importância tem-se dado aos alérgenos ambientais e microbianos como deflagradores do eczema em cães com prurido crônico associado à dermatite atópica, entretanto, tem-se observado em recentes estudos a importância dos trofoalérgenos na etiopatogenia da DA em cães, com trabalhos demonstrando que aproximadamente 67% dos cães com prurido crônico são co-sensibilizados aos alérgenos ambientais e trofoalérgenos e até 81% deles podem apresentar melhora parcial significativa com dietas restritivas.^{2,22,23}

Neste estudo, 76,5% de cães com prurido crônico apresentavam RAAs, sendo que todos eles apresentaram critérios diagnósticos para dermatite atópica e, 72,7% dos cães que finalizaram o protocolo experimental, eram sensibilizados a mais de uma proteína alimentar testada, o que sugere que cães com DA podem se sensibilizar aos alérgenos alimentares que se expõem regularmente, e que DR tem potencial de auxiliar significativamente no controle do prurido crônico e perene em cães.^{2,24} Lembrando que neste estudo não foram avaliados os alérgenos ambientais.

Os alimentos mais associados com eczema atópico no presente estudo foram frango e soja, seguidas de proteína bovina e suína, concordando com outro estudo realizado no Brasil.² O frango é uma fonte proteica frequentemente utilizada na composição de rações, e a proteína de soja um comum substituto de proteína animal nestas, o que pode ter favorecido aos maiores índices de sensibilização a essas proteínas.

Estudos em cães demonstraram que o TCA é associado a bons valores de SE e VPN e valores inferiores de VPP e ESP^{2,10,16}. Bethlehem et al. (2012)¹⁶ observaram valores de 96,7% de SE, 99,3% de VPN, 89% de ESP e 63% de VPP. Johansen et al. (2017)¹⁰ obtiveram para proteínas os valores de 100% para SE, 100% para VPN e 68,8% para ESP e 75% para VPP em 25 cães com RAA confirmada. Possebom et al. (2022)² observaram em 21 cães com prurido crônico não sazonal que a combinação do teste de puntura com o TCA resultou em valores de 80% para SE, 66,7% ESP, 66,7% VPP, 80% para VPN.

No presente estudo, um único resultado positivo do TCA em 20 cães hígidos denota boa especificidade do exame, sugerindo que reações positivas ocorra de forma

mais significativa em cães com DA, possivelmente por terem disfunções da barreira física tegumentar e hiper-reatividade da resposta imunológica.^{2,25,26,27}

Como no presente estudo, altas concentrações dos extratos não suscitaram reações positivas nos cães hígidos, os altos VPP e ESP observadas nos cães do grupo 2 aos extratos de bovino, frango e soja possivelmente representem reações imunoalérgicas e inflamatórias específicas nos cães com DA, não dermatite de contato irritante.¹³

Concentrações mais baixas, como 100mg e 250mg/0,2ml em todas as proteínas testadas neste estudo, tiveram grande variação nos valores de acurácia e apresentaram, de maneira geral, índices de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo inferiores aos alcançados com concentrações mais altas, o que sugere que essas concentrações (100mg e 250mg/0,2ml) não são indicadas para utilização em TCA em cães com prurido crônico.

Eritema leve correspondeu a 69,62% das reações positivas encontradas, seguido de eritema moderado com percentual de 21,52% de reações positivas, sugerindo que reações leves são as mais encontradas nos TCA para alimentos em cães.¹⁶

As proteínas bovina, de frango e de soja tiveram excelentes valores de SE, ESP, VPP e VPN, mesmo com reações leves, nas concentrações de 500mg ou 1000mg/0,2ml, o que sugere que estas concentrações são adequadas para o teste e que o TCA é um promissor teste para diagnóstico RAAs a estas proteínas em cães com prurido crônico.

Entretanto, ressalta-se que avaliar eritema leve em pacientes que reagem ao adesivo dos contensores, ou de pele mais escura, necessita de atenção, ambiente bem iluminado e auxílio de fonte luminosa para ser mais bem evidenciado, o que pode dificultar a interpretação do exame.

O aparecimento de reações mais fortemente positivas, por serem mais incomuns, foram associadas com menor sensibilidade, porém, nas concentrações mais altas, como de 500mg ou 1000mg/0,2ml, mantiveram altos os índices de especificidade e dos valores preditivos positivos do teste.

As relações entre os escores reacionais maiores e as concentrações variaram de acordo com a proteína testada, o que pode indicar que determinados alérgenos

alimentares podem necessitar de maiores concentrações para obterem melhores valores de especificidade e preditivo positivo.^{2,10}

Assim, considerando a reação de eritema leve como reação positiva, constatou-se que a proteína bovina e de frango nas concentrações de 500mg e 1000mg/0,2ml e a de soja na concentração de 1000mg/0,2ml parecem viáveis para serem utilizadas nos TCA, atingindo excelentes índices de SE, ESP, VPP e VPN.

Já a proteína suína, atingiu os maiores valores de SE, ESP, VPP e VPN na concentração de 1000mg/0,2ml, sendo associada a SE e VPN de 100%, porém, a ESP e VPP de 83%, respectivamente. Assim, nesta concentração, a proteína suína pode induzir resultados falso positivos,² sendo o resultado positivo apenas útil para sua seleção em DR.

Normalmente os alérgenos alimentares da carne suína associados a RAAs são a albumina sérica além do oligossacarídeo alfa- gal.^{28,29} Pode-se especular que esses alérgenos da carne suína sejam menos antigênicos, já que em outros trabalhos com TCA com as mesmas proteínas deste estudo, a proteína suína foi a menos reativa,² e talvez, aumentar a concentração do extrato alérgico desta proteína pode melhorar seus valores de acurácia no exame.

As concentrações mais altas das proteínas testadas, determinaram maior número de animais que reagiram e, reações com escores maiores. Artigos na medicina indicam considerar positivas, reações com eritema e infiltração, visando melhorar a acurácia e evitar resultados falsos positivos,³⁰ logo escores maiores parecem indicar um alto VPP para hipersensibilidade tardia ao alimento.¹³

Assim, a concentração para o TCA com os alimentos testados em cães que obteve escores maiores, maior número de reações e melhores valores de acurácia foi a de 1000mg/0,2ml para as quatro proteínas testadas.

Pode-se também se especular que concentrações menores de extratos alimentares poderiam obter reações com escores maiores, e bons valores de ESP e VPP, aumentando o tempo do TCA, já que alguns artigos determinam o tempo de oclusão de até 72 horas.³¹ Entretanto, manutenção do TC por mais tempo pode diminuir a adesão, causar irritação e dificultar sua inserção como prática diagnóstica ambulatorial.^{13,15,33,33,34,35}

Sobre a segurança do teste, cães hígdos não apresentaram nenhum desconforto, parecendo ser bem tolerado e seguro. Reações aos adesivos e

contensores foram observados em média de 1/3 dos cães com DA, e em 11,8% dos cães, os testes tiveram que ser removidos em função da reação exacerbada e desconforto. Isto sugere que cães com DA são mais suscetíveis a reações de contato irritante ao material utilizado no TCA, podendo levar a sua retirada precoce, impossibilitar a interpretação dos seus resultados ou favorecer resultados falso positivos.

A possibilidade de reações exacerbadas ao TCA pode ser um fator limitante de sua indicação.^{2,13} Assim, após sua colocação, devido à natureza reativa da pele atópica, o tutor deve ser orientado a reportar imediatamente a ocorrência de prurido local e desconforto.

Em humanos existem relatos de persistência do eritema algumas semanas após a remoção do teste e, de urticária, asma, rinoconjuntivite, reações anafilatóides e exacerbação da DA após a colocação do *Atopic Patch Test*,¹³ o que sugere a necessidade após sua fixação,³⁶ de observação ambulatorial do paciente de 20 a 30 minutos, para se verificar a tolerabilidade ao teste.³⁶

Um estudo na medicina demonstrou que o TCA tem bom valor diagnóstico nas reações tardias aos alimentos e, em pacientes humanos com DA, esse teste foi específico e confiável.

Baseado nos valores de acurácia obtidos no presente estudo, extratos de carne bovina, de frango e de farelo de soja, na concentração de 1000mg/0,2ml, permitiu o diagnóstico da RAAs a estas proteínas em cães com prurido crônico e, talvez, possa orientar uma precoce instituição de TPOs, evitando a instituição de longas dietas restritivas.

Referências

1. Matricoti I, Noli C. An open label clinical trial to evaluate the utility of a hydrolysed fish and rice starch elimination diet for the diagnosis of adverse food reactions in dogs. *Veterinary Dermatology*. 2018;(29): 408–e134.
2. Possebom J, Cruz A, Gmyterco VC, de Farias MR. Combined prick and patch tests for diagnosis of food hypersensitivity in dogs with chronic pruritus. *Veterinary Dermatology*. 2022; 33(2):124-e36.

3. Hensel P, Santoro D, Favrot C, *et al.* Canine atopic dermatitis: Detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res.* 2015; 11: 196-197.
4. Nuttall TJ., Marsella R., Rosenbaum MR., *et al.* Update on pathogenesis, diagnosis, and treatment of atopic dermatitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 2019; 254:11.
5. Olivry T, Bizikova P. A systematic review of the evidence of reduced allergenicity and clinical benefit of food hydrolysates in dogs with cutaneous adverse food reactions. *Veterinary Dermatology.* 2010; (21): 32–41.
6. Day MJ. The canine model of dietary hypersensitivity. *Proceedings of Nutrition Society.* 2005; 64(4):458 464.
7. Fritsch DA, Allen TA, Dodd CE, Jewell DE, Sixby KA, Leventhal PS. A multicenter study of the effect of dietary supplementation with fish oil omega-3 fatty acids on carprofen dosage in dogs with osteoarthritis. *Journal of American Veterinary Medical Association.* 2010; 236(5):535-539.
8. Bhagat RAS, Wazir VS, Mishra A, Maibam U. Food allergy in canines: A review. *J Entomol Zool St.* 2017; 5(6): 1522-1525.
9. Olivry T., Mueller R., Prelaud, P. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (1): Duration of elimination diets. *BMC Vet Res.* 2015; 11: 225.
10. Johansen C, Mariani, C, Mueller, RS. Evaluation of canine adverse food reactions by patch testing with single proteins, single carbohydrates and commercial foods. *Vet Dermatol* 2017; 28: 473-109.
11. Mueller RS, Olivry T. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (6): prevalence of noncutaneous manifestations of adverse food reactions in dogs and cats. *BMC Vet Res.* 2017;14(1):341.
12. Alcalá, COR., Avaliação do teste de puntura, dieta restritiva e desafio dietético no diagnóstico da alergia alimentar em cães com dermatite atópica. [Dissertação de Mestrado] Pontifícia Universidade Católica do Paraná; Mestrado em Ciência Animal. 2019.
13. Resende ERMA, Segundo GRS. Testes cutâneos de leitura tardia para alimentos - revisão da literatura. *Rev. bras. alerg. imunopatol.* 2010; 33(5):184-189.

14. Solé D, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC, et al. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: - Parte 2 - Diagnóstico, tratamento e prevenção. Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunologia. Arq Asma Alerg Imunol 2018; 2(1):39-82.
15. Mansouri M, Rafiee E, Darougar S, Mesdaghi M, Chavoshzadeh Z. Is the Atopy Patch Test Reliable in the Evaluation of Food Allergy-Related Atopic Dermatitis? Int Arch Allergy Immunol. 2018;175(1-2):85-90.
16. Bethlehem S, Bexley J, Mueller RS. Patch testing and allergen-specific serum IgE and IgG antibodies in the diagnosis of canine adverse food reactions. Veterinary Immunology and Immunopathology. 2012; (145): 582– 589.
17. Favrot C, Steffan J, Seewald W. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. Vet Dermatol. 2010; 21:v23- 31.
18. Rybníček J, Lau-Gillard PJ, Harvey R et al. Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. Vet Dermatol. 2009; 20: 115–122.
19. Olivry T, Saridomichelakis M, Nuttall T et al. Validation of the Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)-4, a simplified severity scale for assessing skin lesions of atopic dermatitis in dogs. Vet Dermatol. 2014; 25(2):77- 85.
20. Université de Montreal, Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire, Faculté de Médecine Vétérinaire. DIAGNOSTIC DE L'ALLERGIE ALIMENTAIRE CHEZ LE CHIEN, 2020. Disponível em: < <https://chuv.umontreal.ca/le-chuv/hopital-des-animaux-de-compagnie/ressources/allergie-alimentaire-chez-le-chien-diagnostic-et-traitement/>>
21. Pucheu-Haston CM, Mougeot I. Serum IgE and IgG responses to dietary antigens in dogs with and without cutaneous adverse food reactions. Vet Dermatol. 2020; (2):116-127.
<<https://dx.doi.org/10.1111/vde.12810>> <PMID: 31749195>.
22. Chesney CJ. Food sensitivity in the dog: a quantitative study. Journal of Small Animal Practice. 2002; 43:203-207.
23. Halliwell R. Revised nomenclature for veterinary allergy. Vet Immunol and Immunopathol. 2006; 114: 207–208.

24. Mueller RS, Olivry T, Prélaud P. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (2): common food allergen sources in dogs and cats. BMC Vet Res. 2016 Jan 12;12:9.
25. Marsella R, Papastavros V, Ahrens K, Santoro D. Decreased expression of caspase-14 in an experimental model of canine atopic dermatitis. Vet J. 2016; 209:201–3.
26. Reiter LV, Torres SM, Wertz PW. Characterization and quantification of ceramides in the nonlesional skin of canine patients with atopic dermatitis compared with controls. Vet Dermatol. 2009; 20(4):260–6.
27. Chermprapai S, Broere F, Gooris G, Schlott et al. Altered lipid properties of the stratum corneum in Canine Atopic Dermatitis. Biochim Biophys Acta. Biomembr. 2018; 1860(2):526–33.
28. Ferreira MD, Neto LP, Ribeiro RG. Alergia a alfa-gal: uma revisão sistemática. Braz J Allergy Immunol. 2015; 3(6):241-250.
29. Solé D, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC, Pastorino AC, et al. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: Parte 1 - Etiopatogenia, clínica e diagnóstico. Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunologia. Arq Asma Alerg Imunol. 2018; 2(1):7-38.
30. Darsow U, Laifaoui J, Kerschenlohr K, Wollenberg A, Przybilla B, Wüthrich B, et al. The prevalence of positive reactions in the atopy patch test with aeroallergens and food allergens in subjects with atopic eczema: a European multicenter study. Allergy. 2004 Dec;59(12):1318-25.
31. Daher S, Galvao C, Abe A, Cocco R. Diagnóstico em Doenças Alérgicas Mediadas por IgE. Rev. bras. alerg. imunopatol. 2009; 32(1):3-8
32. Fernandes NP, Prates S. Qual o papel do *patch test* no diagnóstico da alergia alimentar? Revisão da literatura. Revista Portuguesa de Imunoalergologia. 2007; 15(5): 377-385.
33. Caglayan Sozmen S, Povesi Dascola C, Gioia E, Mastroilli C, Rizzuti L, Caffarelli C. Diagnostic accuracy of patch test in children with food allergy. Pediatr Allergy Immunol. 2015; 26(5):416-22.

34. Levy SA, Dortas Junior SD, Pires AH, Abe AT, Valle SO, Coelho VP, Hahnstadt LR, França AT. Atopy patch test (APT) in the diagnosis of food allergy in children with atopic dermatitis. *An Bras Dermatol*. 2012; 87(5):724-8.
35. Johansen JD, Aalto-Korte K, Agner T, Andersen KE, Bircher A, Bruze M, et al. European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing - recommendations on best practice. *Contact Dermatitis*. 2015 Oct;73(4):195-221.
36. Ungar B, Correa da Rosa J, Shemer A, Czarnowicki T, Estrada YD, Fuentes-Duculan J, et al. Patch testing of food allergens promotes Th17 and Th2 responses with increased IL-33: a pilot study. *Exp Dermatol*. 2017; 26(3):272-275.

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando que a reação adversa a alimento afeta em torno de 30% dos cães com dermatite atópica, 15 a 20% dos cães com prurido crônico, apresentando os alérgenos alimentares como importante gatilhos na deflagração de prurido e piora do quadro lesional desses cães, a determinação de concentrações de alérgenos alimentares viáveis para a utilização em testes de contato ou *patch test* para alimentos visando o diagnóstico de reações adversas ao alimento em cães com dermatite atópica, prurido crônico não sazonal, alergia alimentar, é de grande interesse, uma vez que oferece a possibilidade de evitar longas e muitas vezes sequenciais dietas restritivas e testes de provocação oral, procedimentos que podem ser desconfortáveis, de difícil conclusão para os tutores além de onerosos, o que leva a frustração, falha e abandono do protocolo diagnóstico e consequente controle inadequado do paciente e redução de qualidade de vida do paciente e da família tutora.

O presente estudo avaliando quatro proteínas alimentares em quatro concentrações diferentes no teste de contato ou *patch test* em cães com dermatite atópica, conjuntamente com realização de dieta restritiva e teste de provocação oral permitiu, dentro das condições de um N de 11 pacientes, identificar em que concentrações e a partir de que reação considerada positiva o teste teria a melhor performance diagnóstica, levando-se em consideração sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo.

Obteve-se no presente estudo, usando a partir de eritema leve como reação positiva, valores percentuais de 100% em sensibilidade, especificidade, valor preditivo

positivo e negativo com a proteína bovina e de frango nas concentrações de 500mg/0,2ml e 1000mg/0,2ml e para proteína de soja, esses valores foram atingidos apenas com a concentração de 1g/0,2ml, esses valores sugerem testes diagnósticos viáveis na prática, a proteína suína na concentração de 1g/0,2ml teve valores percentuais de sensibilidade e valor preditivo negativo de 100% e de especificidade e valor preditivo positivo de 83%, permitindo falhas diagnósticas.

A irritação tegumentar determinada pelo contato com adesivo foi identificada em 36,36% dos cães com dermatite atópica e a reação aos contêntores em 27,27% desses cães, esses percentuais indicam a necessidade de aperfeiçoamento e adequação desses materiais visando reduzir o contato irritante, levando em conta a epiderme de natureza reativa dos cães com dermatite atópica.

Novas pesquisas, aumentando o N amostral e o número de alérgenos alimentares se fazem necessárias para confirmar ou refutar os resultados obtidos no presente estudo.

ANEXO 1.



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais

PARECER CONSUBSTANCIADO DA CEUA

TÍTULO DA PESQUISA	Avaliação do limiar irritativo de extratos alérgicos alimentares para teste de contato (patch test) em cães.		
Nº DO PARECER / VERSÃO	02256		
PESQUISADOR RESPONSÁVEL	Marconi Rodrigues de Farias		
ESPECIE DO ANIMAL	canis familiaris	Nº DE ANIMAIS	30
NOME COMUM DO ANIMAL	canina	Nº S18BIO (animais de vida livre)	Não se aplica
SEXO / IDADE / PESO	M e F / 1 ano / 5kg.	ATIVIDADES (animais de vida livre)	Não se aplica
ORIGEM DO ANIMAL	Pacientes da Clínica Pet Center	GP TAXONÔMICOS (animais de vida livre)	Não se aplica
DATA DE INÍCIO DA PESQUISA	01/01/2021 – Animais: 01/07/2022	LOCAL (IS) (animais de vida livre)	Não se aplica
DATA DE TÉRMINO DA PESQUISA	26/10/2022	Nº S18GEN	Não se aplica
APRESENTAÇÃO DO PROJETO			
OBJETIVO DA PESQUISA	O objetivo do presente trabalho será determinar o limiar irritativo e as concentrações de extratos de alérgenos alimentares da proteína de frango, bovina, suína e de soja para serem utilizados futuramente em patch test em cães com DAC que desenvolvam RAA. Objetivos específicos a- Avaliar a presença de reações aos contêntores utilizados no teste de contato alérgico; b- Padronizar os sinais clínicos de reações positivas e negativas aos extratos utilizados nos testes de contato alérgico; c- Avaliar a inocuidade e segurança da utilização do teste de contato em cães.		
RISCOS E ATITUDES MITIGATÓRIAS			
CONSIDERAÇÕES SOBRE A PESQUISA			
CONSIDERAÇÕES SOBRE OS TERMOS DE APRESENTAÇÃO OBRIGATORIA			
RECOMENDAÇÕES	Anexar novamente a autorização da clínica assinada pela Heloisa K. Gaertner, pois a mesma veio incompleta, provavelmente por alguma falha na digitalização.		
CONCLUSÕES OU PENDÊNCIAS E LISTA DE INADEQUAÇÕES	Todas as pendências foram atendidas pelo pesquisador.		
CONSIDERAÇÕES FINAIS	O colegiado da CEUA certifica que este protocolo que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794/2018 e Decreto nº 6.899/2009, e com as normas editadas pelo CONCEA sendo aprovado pela CEUA - PUCPR em reunião de colegiado. Se houver mudança do protocolo o pesquisador deve enviar uma emenda à CEUA descrevendo de forma clara e sucinta, a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas. Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciar antes de receber a autorização formal para a sua realização.		
SITUAÇÃO DO PARECER	APROVADO		

CURITIBA, 25 de maio de 2022

PROF. DR. SÉRGIO LUIZ ROCHA

Coordenador CEUA-PUCPR

A validade deste documento pode ser confirmada pelo e-mail ceua@pucpr.br informando o número do parecer.

Rua Imaculada Conceição, 1155 Prado Velho CEP 80.215-901 Curitiba Paraná Brasil
Telefone: (41) 3271-2292 www.pucpr.br

ANEXO 2.

TERMO DE CONSENTIMENTO DO USO ANIMAL

Eu, _____ (proprietário do animal) e RG: _____, estou permitindo a participação do meu animal em um estudo denominado: Avaliação do limiar irritativo de extratos alérgicos alimentares para *patch test* em cães hígidios.

Recebi os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo, levando-se em conta que é uma pesquisa, e os resultados positivos ou negativos somente serão obtidos após a sua realização. De forma geral, como em qualquer outro procedimento médico veterinário, existe o risco de reações alérgicas aos fármacos empregados nos testes, assim como essas reações, apesar de raras, podem ser severas colocando em risco a vida do animal (anafilaxia).

Estou ciente de que o meu animal será atendido, respeitado e receberá os cuidados necessários, como qualquer outro elemento submetido da mesma forma a procedimentos onde não estejam sendo utilizados para fins de pesquisa.

Também fui informado de que posso recusar a participação do meu animal no estudo.

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são o Professor Dr. Marconi Rodrigues de Farias e o doutorando Raniere Gaertner, vinculados à Pontifícia Universidade Católica do Paraná e com eles poderei manter contato pelo telefone (41) 327143-61 e (47)9 9967-2733.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em permitir a participação do mesmo, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico a receber, pela participação do meu animal.

Curitiba - PR , __ de ____ de ____.

Nome e assinatura do proprietário do animal da pesquisa

Nome(s) e assinatura(s) do(s) pesquisador(es) responsável (responsáveis)

ANEXO 3

FICHA CLÍNICA DO PROJETO

FICHA CLÍNICA PROJETO

Data:...../...../.....

Proprietário:Nome:.....nasc.....

Endereço:

Cidade:.....rua:.....número.....

Apto:.....fones:.....

Doc. id ou cpf:.....

Paciente:Nome;.....

Espécie ()canino

Raça:Peso:

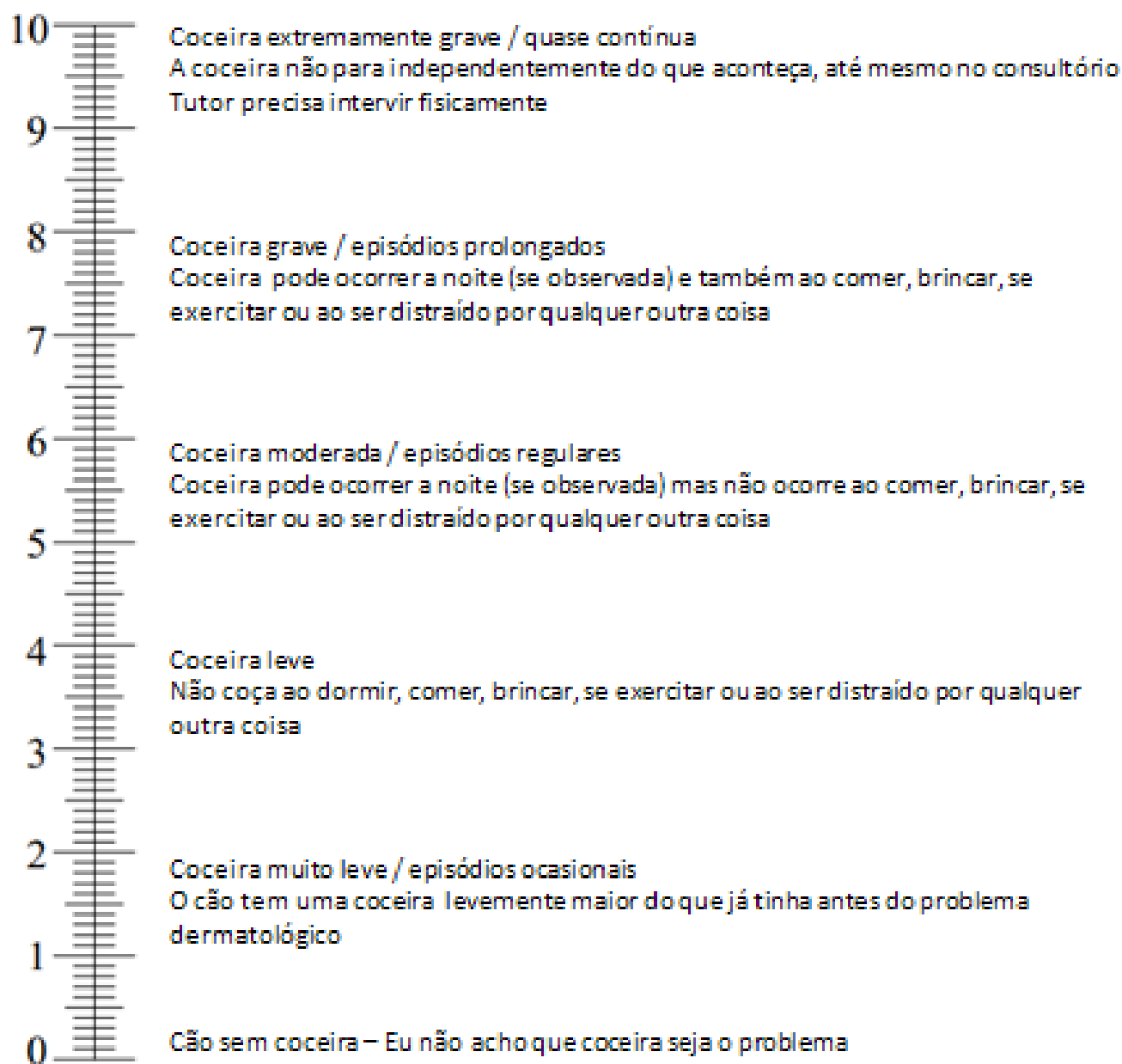
Sexo:.....data de nascimento:.....

Pelo: () longo, () médio, () curto, cor:.....

Anamnese e exame clínico

[illegible]

Anexo 4. Escala Visual de prurido (pVAS)



Fonte: RYBNICEK et. al., 2009.

ANEXO 5. Escore lesional CADESI-4.

CADESI-04 (ICADA)			Erythema	Lichenification	Excoriations and/or Alopecia	TOTAL
Perilabial Area <i>(left and right combined)</i>		1				
Medial Pinnae <i>(concave pinnae)</i>	Left	2				
	Right	3				
Axillae	Left	4				
	Right	5				
Front Paws <i>(dorsal and palmar sides combined)</i>	Left	6				
	Right	7				
Hind Paws <i>(dorsal and plantar sides combined)</i>	Left	8				
	Right	9				
Cubital Flexor <i>(elbow folds)</i>	Left	10				
	Right	11				
Palmar Metacarpal <i>(from carpal to metacarpal pads)</i>	Left	12				
	Right	13				
Flanks	Left	14				
	Right	15				
Inguinal Areas <i>(groin)</i>	Left	16				
	Right	17				
Abdomen		18				
Perineum <i>(from vulva/scrotum to anus)</i>		19				
Ventral Tail <i>(proximal)</i>		20				
grade each site and each lesion type: none: 0; mild: 1; moderate: 2; severe: 3			TOTAL Score (20 x 3 x 3 = 180)			

Fonte: Olivry et al. 2015

ANEXO 6

FICHA DE RESULTADOS DE *PATCH TEST* DO PROJETO

FICHA
CLÍNICA PROJETO

Data:...../...../.....

Proprietário:Nome:.....nasc.....

Endereço:

Cidade:.....rua:.....número.....

Apto:.....fones:.....

Doc. id ou cpf:.....

Paciente:Nome;.....

Espécie () canino

Raça:Peso.....

Sexo:.....data de nascimento:.....

Pelo: () longo, () médio, () curto, cor:.....

Lesões encontradas

Alérgeno	controle -	100mg\0,2ml	250mg\0,2ml	500mg\0,2ml	1000mg\0,2ml
Bovina					
Suíno					
Frango					
Soja					

Pontuação das lesões:

-0 = nenhuma reação visível ou irritação;

-1+ = eritema leve;

-2+ = eritema moderado;

-3+ = eritema exuberante;

-4+ = eritema e edema (pápulas);

-5+ = eritema com vesiculação e/ou pústulas, ou lesões mais exuberantes.