



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

CECÍLIA IVONE REIS RODRIGUES

***PADRÕES CLÍNICOS E LABORATORIAIS DE
REACTIVIDADE CRUZADA ENTRE
AEROALÉRGENOS/ALÉRGENOS ALIMENTARES
EM IDADE PEDIÁTRICA***
ARTIGO CIENTÍFICO

ÁREA CIENTÍFICA DE ALERGO-PEDIATRIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
DRª SÓNIA LEMOS**

MARÇO/2012

Artigo Científico

**PADRÕES CLÍNICOS E LABORATORIAIS
DE REACTIVIDADE CRUZADA ENTRE
AEROALÉRGENOS/ALÉRGENOS ALIMENTARES
EM IDADE PEDIÁTRICA**

Cecília Ivone Reis Rodrigues¹

¹ Aluno de 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Medicina da
Universidade de Coimbra
Consulta de Alergologia do Hospital Pediátrico Carmona da Mota

Endereço:

Morada: Estrada de Santa Clara nº140, 9300-163 Câmara de Lobos, Madeira
Email: ceciliaivone@hotmail.com

Orientador: Dr.^a Sónia Lemos

Resumo

Introdução - A existência de reactividade cruzada entre aeroalérgenos e alérgenos alimentares é conhecida. A síndrome ácaros-marisco caracteriza-se pelo aparecimento de alergia a marisco em doentes sensibilizados a ácaros e a síndrome pólenes - frutos por alergia a frutos e vegetais frescos em doentes sensibilizados a pólenes. As manifestações destas alergias podem ir de sintomas localizados e ligeiros, como na síndrome de alergia oral, até casos graves de anafilaxia. O risco de desenvolver alergia a alimentos com reactividade cruzada em doentes sensibilizados a alérgenos ambientais é uma questão pertinente para pais e profissionais de saúde, pela necessidade de aconselhar medidas de evicção alimentar.

Objectivo – Identificar padrões clínicos e/ou laboratoriais sugestivos de desenvolvimento de alergia a frutos e vegetais frescos e alergia a mariscos, em doentes sensibilizados a pólenes e a ácaros, respectivamente.

Métodos - Em doentes com prováveis síndromes de reactividade cruzada alimentos/aeroalérgenos, foram analisados dados da história pessoal, os valores de IgE específicas a frutos/vegetais, ácaros e pólenes e IgEs específicas para componentes alergénicos através da técnica de microarray.

Resultados – Metade dos doentes apresentavam asma, rinite e dermatite atópica aquando do aparecimento da alergia alimentar. Metade tinha história de outras alergias ou sensibilizações a outros alimentos. Os valores de IgEs específicas a pólenes e ácaros eram baixas. Apesar de reacções graves, as IgE específicas para os frutos e mariscos eram baixas, especialmente no caso das frutas. A determinação de IgEs específicas para componentes alergénicos comprovou reactividade cruzada em 7/14 doentes podendo antecipar nestes a possibilidade de desenvolverem alergia a frutos/ vegetais frescos ou marisco.

Conclusão– Valores baixos de IgEs específicas a ácaros, pólenes, marisco e frutos/vegetais não afasta o risco de desenvolver alergia alimentar. Embora com algumas limitações, a utilização do diagnóstico molecular através da técnica de microarray permite identificar doentes com risco de alergia alimentar.

Palavras-chave: Síndromes de reactividade cruzada, alergia frutos/vegetais frescos, alergia ao marisco, diagnóstico molecular, panalérgeno.

Abstract

Introduction: The existence of cross-reactivity between aeroallergens and food allergens is known. The seafood-mite syndrome is characterized by appearance of seafood allergy in patients sensitized to dust mites and the fruits-pollen syndrome by allergy to fresh fruits and vegetables in patients sensitized to pollens. The manifestations of these allergies can range from mild and localized symptoms, such as oral allergy syndrome, to severe cases of anaphylaxis. The risk of developing food allergy with cross-reactivity in patients sensitized to environmental allergens is a relevant issue for parents and health professionals, who need to advise food avoidance measures.

Objectives: Investigate clinical patterns and/or laboratory findings, suggestive of developing allergies to fruits and vegetables and seafood allergy, in patients sensitized to pollens and mites, respectively.

Methods: In patients with probable food/aeroallergens cross reactivity syndromes, we have analyzed data from personal history, specific IgE values of fruit/vegetables, mites and pollens and specific IgE antibodies against allergenic components were measured via microarray technique.

Results: Half of the patients had concomitant asthma, rhinitis and atopic dermatitis on occurrence of food allergy. Half had history of other allergies or sensitization to food and/or aeroallergens. The specific IgEs values to mites and pollens were low. Specific IgEs to food were low, even with severe reactions, especially in the case of fruits. The determination of specific IgE antibodies against allergenic components demonstrated cross reactivity in 7/14 patients, meaning that in those cases we can anticipate a possible occurrence of allergy to fresh fruits and vegetables or to seafood.

Conclusion: The low values of specific IgEs in the serum to aero and food allergens does not eliminate the risk of developing food allergy. Although with some limitations, the use of microarray technique can identify patients at higher risk of food allergy.

Keyword: Cross-reactive syndromes, food allergy, fresh fruits/vegetables allergy, seafood allergy, molecular diagnosis, panallergen.

Introdução

A alergia alimentar (AA) é definida como uma reacção anormal a proteínas alimentares, mediada imunologicamente. Nas reacções alérgicas IgE mediadas, a IgE específica reconhece uma curta cadeia de aminoácidos (epitopo) da proteína alimentar e não a proteína inteira. Compreende-se assim, que duas proteínas diferentes, mas que se assemelhem num número pequeno de aminoácidos consecutivos idênticos, possam ser reconhecidas pelo mesmo anticorpo IgE. A este fenómeno imunológico dá-se o nome de reactividade cruzada (RC) [Carvalho F (1997)]. Uma proteína tem potencial para induzir RC se partilhar 75% de semelhança com um fragmento de 80 aminoácidos ou se for completamente idêntica a um peptídeo com 6-8 aminoácidos de outra proteína [García BE, Lizaso MT (2011)]. Recentemente, têm sido descritas proteínas designadas de panalérgenos, que pela função importante que desempenham, quer no reino animal, quer vegetal, foram conservadas ao longo da evolução das espécies. Uma vez que partilham grande semelhança estrutural e sequencial, são responsáveis por RC entre espécies filogeneticamente distantes e não relacionadas taxonomicamente entre si [Hauser M *et al* (2010)]. A maior parte dos panalérgenos implicados nas síndromes de RC, podem ser agrupados em famílias de proteínas que, independentemente da fonte, partilham uma notável semelhança estrutural. As famílias mais estudadas e que apresentavam uma maior relação com a RC são: non-specific lipid transfer proteins (nsLTPs), pathogenesis-related protein family 10 (PR-10 proteins), profilinas

(Bet v 2 homologues), storage proteins (2S albumina, 7S/11S globulina), cross-reactive carbohydrate determinants (CCDs) e tropomiosinas [Vieira T *et al* (2011)].

A RC entre aeroalérgenos e alérgenos alimentares é reconhecida desde meados do século XX e a AA daí resultante classificada como pertencentes à classe II [Carvalho S *et al* (2010)]. Neste caso, o alérgeno alimentar não causa sensibilização primária, contudo causa sintomas, devido à homologia com o sensibilizador primário, o alérgeno ambiental [Metcalf DD *et al* (2008)].

Estão descritos diferentes síndromes de RC. A síndrome ácaros-marisco (SAM) caracteriza-se pelo aparecimento de alergia ao marisco em doentes sensibilizados a ácaros, e a síndrome pólenes – frutos (SPF) por alergia a frutos e vegetais frescos em doentes sensibilizados a pólenes. As manifestações destas síndromas podem ir de sintomas localizados e ligeiros como na síndrome de alergia oral (SAO), a casos graves de anafilaxia.

A técnica de microarray consiste num método de biologia molecular, que ao avaliar a presença de IgE específicas a múltiplos componentes alergénicos permite reconhecer perfis individuais de sensibilização [Sanz ML *et al* (2011)]. Um diagnóstico mais preciso de sensibilização alérgica pode antecipar perigos associados a certas sensibilizações e no caso de síndromes de RC aeroalérgenos/ alérgenos alimentares avaliar o risco de reacção à exposição a diferentes fontes do alérgeno alimentar, instituir antecipadamente medidas de evicção alimentar e impedir reacções alérgicas a alimentos [Goikoetxea MJ *et al* (2010)]. O

diagnóstico molecular também permite revelar se a sensibilização é primária, ou se é devida a RC a proteínas com estrutura semelhante [Sastre J (2010)].

O risco de desenvolver alergia a marisco ou frutas em doentes sensibilizados/alérgicos a ácaros ou pólenes é uma questão pertinente para pais e profissionais de saúde, sobretudo pela necessidade de aconselhar medidas de evicção alimentar.

Objectivos

Verificar se há padrões clínicos e/ou laboratoriais preditivos do desenvolvimento de alergia a frutos e vegetais frescos, e alergia a marisco em doentes sensibilizados a pólenes e ácaros, respectivamente.

Material e métodos

Analisaram-se, retrospectivamente, os dados de todas as crianças e adolescentes, observados na Consulta de Alergologia do Hospital Pediátrico Carmona da Mota entre Janeiro e Dezembro 2011, com quadros clínicos sugestivos de síndromes de reactividade cruzada (RC): Síndrome ácaros-marisco (SAM) e Síndrome pólenes-frutos (SPF). A possibilidade de uma síndrome de RC teve por base a presença simultânea de alergia a marisco e alergia/sensibilização a ácaros ou a presença simultânea de alergia a frutas e vegetais frescos e sensibilização/alergia a pólenes. A AA foi definida por manifestações de

alergia, após exposição ao alimento (por ingestão, contacto cutâneo ou inalação), na presença de testes cutâneos (prick test ou prick-prick test) positivos e/ou IgE específica $\geq 0,35$ KUI/l, para o alimento em causa. Os testes cutâneos foram realizados de acordo com a metodologia recomendada, sendo a leitura efectuada aos 20min. O resultado foi considerado positivo, se o diâmetro médio da pápula for ≥ 3 mm, em relação ao controlo negativo. As IgEs específicas foram medidas por fluoroimunoensaio.

O diagnóstico molecular por microarray é um teste *in vitro* que permite a determinação semi-quantitativa de anticorpos IgE específicos, em plasma ou soro humano. Os componentes alergénicos estão fixos num substrato sólido e são incubados com amostras de plasma ou soro humano para detectar anticorpos IgE específicos. A ligação dos anticorpos IgE específicos aos componentes alergénicos imobilizados é detectada pela adição de um anticorpo IgE secundário, marcado por fluorescência. Através de um leitor de microarray consegue-se uma imagem que permite através, da intensidade de fluorescência, obter o resultado do teste, o qual é analisado com um *software* específico dedicado - MIA (*Microarray Image Analysis Software*). Os resultados são expressos em *ISAC Standardized Unites* (ISU), sendo o cut-off de positividade 0,3 ISU.

Foram analisados a idade de aparecimento da AA e suas manifestações clínicas, a presença de alergias ou sensibilizações a outros alérgenos alimentares, a existência de outras doenças alérgicas aquando do aparecimento da alergia alimentar (asma, rinoconjuntivite e eczema atópico), valores de IgE específicas a frutas, vegetais, mariscos, ácaros e pólenes. Nos doentes que realizaram diagnóstico molecular foi analisado o perfil de sensibilização de acordo com sensibilização a componentes alérgicos considerados marcadores de RC ou componentes alérgicos específicos da espécie (marcadores identificativos da fonte alérgica).

Resultados

Os 23 doentes incluídos no estudo tinham entre 5,4 e 16,8 anos (mediana 10,15 anos e desvio padrão 3,5), 15 do sexo masculino e oito do sexo feminino (relação M:F de $\approx 2:1$). Onze doentes apresentavam quadro clínico sugestivo de SPF, 11 quadro clínico sugestivo de SAM e um quadro clínico sugestivo das duas síndromes simultaneamente (doente 3). A idade de aparecimento da AA variou entre 2,3 e 16 anos (mediana de 3,5 anos e desvio padrão 4,14) sendo ligeiramente mais precoce na alergia a frutas (mediana 3 anos e desvio padrão 4,35) do que na alergia a marisco (mediana 3,8 anos e desvio padrão 4,15). Aquando do aparecimento da AA, 19 doentes tinham rinite, 17 asma e 15 dermatite atópica. Tinham os três diagnósticos 12/23 (52%) doentes. Nos quadros 1 e 2 registam-se as manifestações da AA, os alimentos

implicados, resultados de testes cutâneos e de IgEs específicas. Kiwi, pêsego, maçã foram os mais implicados na alergia a frutos; camarão, polvo e lulas, na alergia ao marisco. Setenta por cento dos doentes (16/23) tiveram reacções anafilácticas, 5/23 urticária e/ou angioedema, 3/23 SAO, um esternutos com exposição ao vapor do marisco, e um vómitos. Doze doentes (52%) tinham AA presentes ou passadas a outros alimentos, os mais frequentes foram: leguminosas (amendoim-4, soja-1, grão de bico-1, feijão-1) frutos secos (noz-3, pinhão-2, avelã-1, caju-1), ovo-5, glúten-2 e leite de vaca-2.

A média dos valores de IgE específicas foi: 13,1KUI/L para pólenes, 49,5KUI/L para ácaros, 2,7 KUI/L para as frutas e 24 KUI/L para marisco.

Quadro 1 - Características dos 12 doentes com alergia a frutas ou vegetais frescos no contexto de provável SPF

Idade (A)/Sexo	Clínica alimentar	Alergia ou sensibilização a frutos ou vegetais frescos [IgE (KUI/L) / TC]		Aeroalérgenos [IgE (KUI/L) / TC]		Alergias ou sensibilizações a outros alimentos *
1	7; M Kiwi: A Melão: SAO Pêssego: SAO	Kiwi	2,18/+	Pólenes gramíneas g12	1,92/+	Glúten Ovo
		Melão	0,48/+	Pólenes gramíneas g14	7,77/+	
		Pêssego	0,45	Ácaros	15,5/+	
		Limão	0,55	Gato	5,11/+	
		Laranja	0,42	Cão	20/+	
		Morango	0,44	Aspergillus fumigatus	2,4	
		Banana	1,07	Alternaria alternata	10,6	
2	11,6; M Kiwi: A	Kiwi	0,63/+	Pólenes gramíneas	+	Ovo
				Ácaros	+	
				Gato	+	
				Cão	+	
3	5,4; M Kiwi: A Ananás: SAO	Kiwi Ananás	8,45 / 1,42/+	Pólenes gramíneas (gx3)	3,59/+	Leite de vaca
				Ácaros	>100/+	
4	13; F Kiwi: A	Kiwi	0,5/+	Pólenes gramíneas (gx3)	0,4 /+	
				Ácaros	74,2/+ +	
5	16,8; F Kiwi: A	Kiwi	+	Pólenes gramíneas	+	
				Ácaros	+	
6	13,5; M Kiwi: A	Kiwi	0,42/+	Pólenes gramíneas (gx3)	4,02/+	Ovo Amendoim
				Ácaros	86,2/+	
7	9,4; F Pêssego, pêra e maçã com casca: U + Angioedema	Pêssego	7,18/+	Pólenes gramíneas	+	Noz Avelã
		Pêra	+	Pólenes árvores	+	
		Maçã	+			
8	15,6; M Maçã e pêssego com casca: A	Maçã	1,24	Pólenes gramíneas (gx3)	0,69/+	
		Pêssego	2,17	Pólenes oliveira	0,83	
				Cão	+	
				Ácaros	4,23/+	
9	12,1; F Tomate: A	Tomate	2,73	Pólenes gramíneas (gx3)	40,5	Amendoim Soja
10	14; M Kiwi: A	Kiwi	3,5/+	Pólenes gramíneas (gx3)	cl 2/ +	
				Ácaros	cl 6/ +	
11	6; F Kiwi: A	Kiwi	3,99	Pólenes gramíneas (gx3)	42,9	Ovo Amendoim
12	7,1; M Kiwi: A	Kiwi	+	Pólenes gramíneas (gx3)	28,5	

M: masculino; F: feminino; A: anafilaxia; SAO: síndrome de alergia oral; U: urticária; Pólenes gramíneas g12: secale cereale (centeio); Pólenes gramíneas g14: avena sativa (aveia); Pólenes gramíneas (gx3): feno, azevem, rabo de gato, centeio, erva lanar. * Realçados a negrito a alergia confirmada, os restantes são sensibilizações.

Quadro 2 - Características dos 12 doentes com alergia ao marisco no contexto de provável SAM.

	Idade (A)/Sexo	Clínica alimentar	Alergia ou sensibilização mariscos [IgE (KUI/L) / TC]		Aeroalérgenos [IgE (KUI/L) / TC]		Alergia ou sensibilização a outros alimentos *
3	5,4;M	Camarão: U	Camarão	0,5/+	Ácaros Pólenes gramíneas (gx3)	100/+ 3,59/+	Leite de vaca
13	9,5;M	Camarão: U	Camarão Caranguejo	18,7/+ +	Ácaros Pólenes gramíneas (gx3) Pólenes árvores (tx7) Ervas daninhas (wx1) Cão Gato	c15/+ 76,7/+ 11,8/+ 6,81/+ 3,25/+ 15,5/+	Peixes
14	10,8;M	Camarão: espirros com o odor	Camarão	11,7/+	Ácaros Pólenes gramíneas (gx3) Cão	39,2 3,82 2,04	Ovo Grão-de-bico Feijão branco Noz Caju Pinhão
15	8,3;M	Camarão: U+ Angioedema	Camarão	0,71	Ácaros	1,39	
16	16,6;M	Camarão: A	Camarão	2,65	Ácaros Pólenes gramíneas	+ +	Glúten
17	6,9;M	Lula: vômitos Polvo: vômitos	Lula Polvo	3,44 1,72	Ácaros	50,6	Pinhão Amendoim
18	5,4; F	Camarão e percebes: A	Camarão Mexilhão	5,66 1,37	Ácaros	20	
19	12,1;M	Polvo: A	Polvo Amêijoia Camarão	+ + +	Ácaros Cão Gato	+ + +	Noz
20	8,1;M	Camarão: SAO	Camarão	8,43	Ácaros	+	
21	13,9;F	Camarão: A	Camarão Peixes	11,1 13,7	Ácaros Gato	72,5 0,37	
22	13; F	Camarão e lula: angioedema palpebral	Camarão Lula Caranguejo	100 90 80	Ácaros		Leite de vaca
23	12,7;M	Camarão: A	Camarão Caranguejo Lula	+ + +	Ácaros	+	

M: masculino; F: feminino; A: anafilaxia; SAO: síndrome de alergia oral; U: urticária; Pólenes gramíneas gx3:

feno, azevem, rabo de gato, centeio, erva lanar; Pólenes árvores (tx7): olea europaea, salix caprea, pinus strobus, eucalyptus

spp, acácia longifolia, melaleuca leucadendron; Pólenes ervas daninhas (wx1): erva de santiago, artemisia, tanchagem, pé de ganso, barrilha espinhosa; * Realçados a negrito a alergia confirmada, os restantes são sensibilizações.

O diagnóstico molecular foi possível em 14 dos 23 doentes (Quadro 3). Confirmou-se RC aeroalérgenos /alérgenos alimentares em sete situações (cinco doentes com SAM, um doente com SPF e um doente com SAM e SPF). Um estava sensibilizado a nsLTPs com RC entre si (doente 8) e dois só a proteínas específicas da espécie alimentar mas não de RC (doentes 2 e 3). Nos restantes não foram encontradas IgE específicas para componentes alergénicos nem da espécie alimentar nem de RC.

Nos doentes com SPF confirmada, um apresentava RC a **nsLTPs** do pêssago e pólen de artemisia outro **CCD – bromelina**. Nos doentes com alergia marisco confirmou-se RC a **tropomiosinas** do marisco e ácaros em 5/7. Foram ainda encontradas situações de RC entre outros panalérgenos (doentes 13 e 14) não relacionadas com marisco ou frutos e vegetais.

Quadro 3 – Resultados do Diagnóstico Molecular por Técnica de Microarray

Diagnóstico molecular		
Síndrome pólenes-frutos		
1	Trigo (nTri a aA-tl) ovo (nGal d 1, nGal d 2, nGal d 3) gato (rFel d 1, rFel d 4) cão (rCan f 1, rCan f 2), grama (nCyn d 1) alternaria (rAlt a 1)	
2	Kiwi (nAct d 1) grama (nCyn d 1) rabo de gato (rPhel p 1, rPhel p 2, rPhel p 4, rPhl p 5, rPhel p 11) oliveira (nOle e 1) cedro (nCry j 1), cipreste (nCup a 1) látex (rHevb5), carpa (rCyp c 1) gato (rFel d 1) cão (rCan f 1) alternaria (rAlt a 1) ácaros (nDer p 1, nDer f 1, nDer p 2, nDer f 2, rEur m 2)	IgE específica kiwi
3	Kiwi (nAct d 1) grama (nCyn d 1) rabo de gato (rPhl p 1) gato (rFel d 1) ácaros (nDer p 1, nDer f 1, nDer p 2, rDer f 2, rEur m 2), bromelina (nAna c 2), tropomiosinas camarão (rPen a 1, nPen i 1, nPen m 1), tropomiosinas ácaros (rDer p 10), tropomiosina anisakis (rAni s 3)	IgE específica Kiwi RC Bromelina RC tropomiosinas do camarão e ácaros
4	Kiwi (nAct d 1) rabo de gato (rPhl p 1) ácaros (nDer p 1, nDer f 1, nDer p 2, rDer f 2, rEur m 2)	IgE específica Kiwi
5	Oliveira (nOle e 1) ácaros (nDer p 1, nDer f 1, nDer p 2, rDer f 2, rEur m 2)	
6	Amendoim (nAra h 2) grama (nCyn d 1) rabo de gato (rPhl p 1) gato (rPhel d 1) ácaros (nDer p 1, nDer f 1, nDer p 2, rDer f 2, rEur m 2)	
7	Kiwi (nAct d 1) grama (nCyn d 1) rabo de gato (rPhl p 1, rPhl p 2, rPhl p 4, rPhl p 5, rPhl p 6, rPhl p 11) oliveira (nOle e 1) alternaria (rAlt a 1) ácaros (nDer p 1, nDer f 1) pêssego (nPru p 3) avelã (rCor a 8) artemísia (nArt v 3)	RC nsLTPs (pêssego, avelã, artemísia)
8	Rabo de gato (rPhl p 1) oliveira (nOle e 1) gato (rFel d 1) pêssego (nPru p 3)	RC nsLTPs pêssego
Síndrome Ácaros-marisco		
3	Kiwi (nAct d 1) grama (nCyn d 1) rabo de gato (rPhl p 1) gato (rFel d 1) ácaros (nDer p 1, nDer f 1, nDer p 2, rDer f 2, rEur m 2), bromelina (nAna c 2), tropomiosinas camarão (rPen a 1, nPen i 1, nPen m 1), tropomiosinas ácaros (rDer p 10), tropomiosina anisakis (rAni s 3)	IgE específica Kiwi RC Bromelina RC tropomiosinas do camarão e ácaros
13	Grama (nCyn d 1) rabo de gato (rPhl p 1, rPhl p 2) oliveira (nOle e 1) carpa (rCyp c 1) gato (rFel d 1) rato (mMus m 1) ácaros (nDer p 1, nDer f 1, nDer p 2, rDer f 2, rEur m 2), pêssego (nPru p 3) avelã (rCor a 8) artemísia (nArt v 3) tropomiosinas camarão (rPen a 1, nPen i 1, nPen m 1) tropomiosinas ácaros (rDer p 10)	RC tropomiosinas do camarão e ácaros RC nsLTPs pêssego/avelã/artemísia mas sem alergia
14	Kiwi (nAct d 1) amendoim (nAra h 1) soja (nGly m 5) grama (nCyn d 1) rabo de gato (rPhl p 1) cão (rCan f 1) ácaros (nDer p 2, rDer f 2, rEur m 2), soja (rGly m 4), amendoim (rAra h 8) pêssego (nPru p 3) vidoeiro (rBet v2) oliveira (nOle e 2) latex (rHev b 8) dedaleira (rMer a 1) rabo de gato (rPhl p 12) Tropomiosina camarão (rPen a 1, rPen i 1, rPen m 1) tropomiosinas ácaros (rDer p 10) barata (nBlag g 7) anisakis (rAni s 3)	RC tropomiosinas do camarão e ácaros RC PR-10 (soja ,amendoim) mas sem alergia RC profilinas RC ns LTP de pêssego mas sem alergia
15	Rabo de gato (rPhl p 1) tropomiosinas camarão (rPen a 1, rPen i 1, rPen m 1) tropomiosinas ácaros (rDer p 10) barata (nBlag g 7) anisakis (rAni s 3)	RC tropomiosinas do camarão e ácaros

16	Trigo (rTri a 10.0101) grama (nCyn d 1) rabo de gato (rPhl p 4) plátano (nPla a 2) cedro(nCry j 1) cipreste (nCup a 1)	
17	Cão (rCan f 2) ácaros (nDer p 1, nDer f 1, nDer p 2, rDer f 2, rEur m 2)	
18	Rabo gato (nPhl p 4, rPhl p 11) gato (rFel d 1) ácaros (nDer p 1, nDer f 1, nDer p 2, rDer f 2, rEur m 2) tropomiosinas camarão (rPen a 1, nPen i 1, nPen m 1) tropomiosinas ácaros (rDer p 10) tropomiosinas barata (nBlag g 7) e tropomiosinas anisakis (rAni s 3)	RC tropomiosinas do camarão e ácaros

*Os alérgenos implicados na RC estão realçados a negritos.

Discussão

Com este estudo pretendeu-se, a partir de um grupo de 23 doentes pediátricos com provável SAM ou SPF, identificar características clínicas e/ou laboratoriais que após o diagnóstico da alergia/sensibilização pólenes ou ácaros, poderiam prever risco de desenvolver alergia a frutos/vegetais frescos ou marisco.

O facto de metade dos doentes apresentarem AA a outros alimentos, presentes ou passadas e a outra metade não, leva a crer que este não é um factor de risco de alergia ao marisco ou aos frutos, nos doentes sensibilizados a ácaros ou pólenes. Por outro lado, também só metade apresentava asma, rinite e eczema atópico aquando do aparecimento da alergia a marisco ou frutos frescos. O valor desta constatação como factor de risco de AA num contexto de RC é difícil de avaliar. Sabe-se que AA é um factor de risco de desenvolvimento de asma e rinite, como o indica a marcha alérgica, mas o contrário não. Contudo salientamos como limitação do estudo o pequeno número de doentes estudados. Também a realização de IgE específicas para diferentes mariscos ou frutos não parece ser vantajoso, pois mesmo

valores baixos não permitem afastar a possibilidade de AA – neste grupo, doentes desencadearam reacções, por vezes graves, com IgE específicas a frutas (média 2,7 KUI/l) e marisco (média 24 KUI/l) baixas. O mesmo raciocínio se aplica no doseamento de IgE para pólenes ou ácaros - valores baixos ou moderados não impediram o desenvolvimento de AA. A realização de provas de provocação oral, utilizando os alimentos descritos como tendo RC poderia ser uma alternativa, no entanto este método é demasiado moroso e com risco de reacções adversas, incluindo anafilaxia [Vieira T *et al* (2011)]. Portanto, prever AA em doentes sensibilizados/alérgicos a ácaros ou pólenes, com base na história pessoal e nos métodos laboratoriais mais tradicionais de diagnóstico de AA é praticamente impossível.

Através do diagnóstico molecular foi confirmada RC aeroalérgenos/alérgenos alimentares em sete situações. Não foi possível confirmar RC nas restantes, questionando a definição de SAM e SPFV com base em critérios clínicos e presença de IgE específicas. Polissensibilizações a aeroalérgenos e a alérgenos alimentares podem acontecer, de forma independente, sem intervenção do fenómeno de RC [Lopata AL, Lehrer SB (2009)]. A explicação para a ausência de sensibilização a proteínas específicas de frutas ou mariscos ou envolvidas na RC, em cinco doentes, poderá ser justificada pela ausência, no painel testado, de determinados componentes alérgénicos. A negatividade do teste molecular, por exemplo no doente 1 para o kiwi, poderá dever-se à ausência no painel testado de componentes

alergénicos específicos do kiwi, nomeadamente os alérgenos Act d 9 (Profilina) e Act d 10 (nsLTPs).

A SPF tem por base fenómenos de RC classicamente atribuídos a panalérgenos, entre os quais as **nsLTPs**. As nsLTPs são proteínas presentes em frutas e vegetais, associadas a reacções graves a frutos pertencentes à família Rosáceas, como o pêsego e a maçã e sua presença constitui um marcador de gravidade [Hauser M *et al* (2010)]. Pelas suas características (elevada resistência ao calor e às proteases) são habitualmente consideradas alérgenos alimentares completos, produzindo sensibilização por via oral [Fernandez Rivas M (2003)]. Estudos recentes, indicam que também pode ocorrer sensibilização por via inalatória, reconhecendo-se dois tipos de doentes: os que só reconhecem nsLTPs da família das Rosáceas e os que também reconhecem nsLTPs do pólen de artemísia. Na última situação, são frequentes reacções alimentares graves e o aumento progressivo do número de alimentos envolvidos [García BE, Lisazo MT (2011)]. Neste estudo, nos dois doentes sensibilizados a nsLTPs, um apresentava RC com pólen de artemísia e outro não. O doente 7 com urticária e angioedema após ingestão de pêra, pêsego e maçã, apresentava RC entre três nsLTPs (nArt v3 da artemísia, rCor a 8 da avelã e nPrup p 3 do pêsego). Tinha também alergia à noz, avelã e amendoim, reforçando a multialergia alimentar descrita para estes casos [García BE, Lisazo MT (2011)]. O doente 8 que apresentou reacções anafilácticas após a ingestão de pêsego e maçã frescos com casca, estava sensibilizado a nPrup p 3, uma nsLTPs encontrada no

pêssego. Neste caso a sensibilização foi por via oral ao pêssigo e alergia a maçã resultou de RC com proteínas do pêssigo. As nsLTPs localizam-se preferencialmente na casca dos frutos e menos na polpa, o que pode explicar a maior tolerabilidade aos frutos descascados [Borges JP *et al* (2006)]. O diagnóstico molecular ao confirmar, nestes doentes, sensibilização a nsLTPs, traz implicações em termos de dietas de evicção, que podem passar simplesmente por aconselhar a comer fruta descascada. [Hauser M *et al* (2010)]. O doente 13 apesar de não ter alergia a frutas/vegetais está sensibilizado a avelã (rCor a 8) pêssigo (nPrup p 3) e artemísia (nArt v3). O risco futuro de desenvolver alergia aos alimentos a que está sensibilizado mas ainda tolera, não é preditível. Também neste caso é necessário que família e doente sejam instruídos do risco de AA e fazer evicção alimentar [García BE, Lisazo MT (2011)].

A **Bromelina** é uma proteína encontrada em membros da família *Bromeliaceae* de que fazem parte o ananás e abacaxi. É um marcador de RC a determinantes carboidratados (CCD). Foi confirmada RC entre bromelina e pólenes das gramíneas [Nettis E *et al* (2001)]. A sensibilização está raramente associada a sintomatologia grave, mas está demonstrado que pode causar reacções graves (para o aipo, tomate e abobrinha), numa minoria dos pacientes. No doente 3, sensibilizado pólenes de gramíneas, a alergia ao ananás poderá dever-se a RC entre bromelina e pólenes, enquanto que a alergia ao kiwi ser devida a um componente específico da espécie (nAct d 1).

A SAM tem por base fenómenos de RC, classicamente atribuída ao panalérgeno – **Tropomiosina**. A tropomiosina constitui o alérgeno major do camarão, de outros crustáceos (lagosta, gamba e caranguejo) e moluscos. Na AA aos crustáceos, a homologia entre as tropomiosinas é tão elevada que, para os alérgicos a uma determinada espécie de crustáceos, o risco de reacção a uma segunda espécie é de aproximadamente 75% [Carrapatoso I *et al* (2008)]. A presença de IgE para as tropomiosinas, é responsável por uma variedade de reacções alérgicas graves ao marisco. Foram encontradas IgE específicas a tropomiosinas em 5/7 doentes com alergia a ácaros e marisco. Portanto o diagnóstico molecular teria tido implicações em termos de dietas de evicção nestes cinco doentes.

Em resumo, neste grupo de doentes, o conhecimento antecipado de sensibilização a tropomiosinas nos doentes sensibilizados a ácaros ou de nsLTP e bromelina nos sensibilizados a pólenes, poderiam prever o risco de AA e se medidas de evicção alimentar adequadas fossem tomadas, teriam sido evitadas reacções, algumas graves.

Conclusão

O risco de desenvolver alergia ao marisco ou a frutos/vegetais frescos em doentes previamente sensibilizados a ácaros ou a pólenes, num contexto de provável RC, com base na história pessoal e nos métodos mais convencionais de alergia alimentar, não é possível. O

diagnóstico molecular permite a detecção precoce de risco de AA em alguns doentes, mas não em todos. Nos doentes incluídos neste estudo poderiam ter sido evitadas reacções alérgicas alimentares em 7/14 doentes, com medidas adequadas de evicção alimentar. Contudo, algumas limitações impõem cautela na interpretação dos resultados..

Limitações

O estudo possui algumas limitações importantes: (I) o pequeno número de doentes incluídos no estudo - estudos de maiores dimensões poderiam ser úteis para chegar a mais conclusões; (II) a ausência de um grupo controlo - comparar características de doentes que desenvolvem AA com aqueles que não desenvolvem, por certo traria resultados mais completos e compreensíveis; (III) analisar outras variáveis como a história de alergia alimentar nos familiares (IV) limitações do diagnóstico molecular que impõe cautela na interpretação de dados. (V) Um alargamento a um maior número de componentes alergénicos no painel testado poderá ajudar a melhorar a sua utilidade clínica do diagnóstico molecular por microarray.

Bibilografia

1. Borges JP, Jauneau A, Bruce C, Culerrier R, Barre A, Didier A, Rouge P: The lipid transfer proteins (LTP) essentially concentrate in the skin of Rosaceae fruits as cell surface exposed allergens. *Plant Physiol Biochem* 2006 44:535-542;
2. Carvalho F. Alergêneos e reactividade cruzadas. *Cadernos de Imuno-Alergologia Pediátrica*, 1997; Vol 12: N°1/2;
3. Carvalho S et al. ImmunoCAP ISAC ®: Microrray techonology in the study of the role of cross reactivity in food allergy. *Rev Port Imunoalergologia* 2010; 18(4) 331-352;
4. Carrapatoso I, Rodrigues F, Geraldés L, Faria E, Todo-Bom A, Loureiro C *et al* Padrões clínicos e laboratoriais na hipersensibilidade ao camarão e reactividade cruzada com *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, 2008; 16(5): 449-466
5. Egger M, Mutschlechner S, Wopfner N, Gadermaier G, Briza P, Ferreira F. Pollen-food syndromes associated with weed pollinosis: an update from the molecular point of view. *Allergy* 2006 61: 461-476;

6. García BE, Lizaso MT. Cross-reactivity Syndrome in food Allergy. *J Investing Allergol Clin Immunol*, 2011, Vol.21 (3): 162-170;
7. Goikoetxea MJ, Cabrera FP, Sanz ML, Fernández BM. The importance of in vitro component-resolved diagnosis in pediatrics patients. *Allergol Immunopathol* 2010; 38 (1): 37-40;
8. Hauser M, Roulias A, Ferreira F, Egger M. Pannallergens and their impact on the allergic patient. *Asthma & Clinical Immunology* 2010, 6:1;
9. Fernández Rivas M. Reactividade cruzada en frutas y vegetables. *Allerg et Immunopathol* 2003; 31 (3): 141-6;
10. Lopata AL, Lehrer SB. New insights into seafood allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*.2009; 9:270-7
11. Metcalfe DD, Sampson HA, Simon RA. Food Allergy: Adverse Reactions to Food Additives. Fourth edition Blackwell Publishing Ltd.; 2008; 133-143;

12. Nettis E, Napoli G, Ferrannini A, Tursi A. IgE-mediated allergy to bromelina. *Allergy*. 2001; 56(3): 257-8
13. Sanz ML, Blázquez Ab, Garcia BE. Microarray of allergenic component-based diagnosis in food allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011; 11: 204;
14. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clinical et Experimental Allergy* 2010; 40: 1442-1460;
15. Vieira T, Lopes C, Pereira A.M, Araújo L, Moreira A, Delgado L. Microarray based IgE detection in poly sensitized allergic patient with suspected food allergy – an approach in four clinical cases. *Allergol Immunopathol* (Madrid). 2011

Agradecimentos

Aqui ficam os meus agradecimentos para as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho:

Para a minha orientadora, Sónia Lemos, Assistente de Pediatria da FMUC;

Para o laboratório Phadia;

E ainda para os meus colegas de curso e familiares, pelo apoio que me deram.