



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

CÁTIA INÊS TEIXEIRA DA SILVA COSTA

Alergia a Peixe

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE IMUNOLOGIA CLÍNICA

Trabalho realizado sob a orientação de:
PROFESSOR DOUTOR CELSO PEREIRA
DRA ISABEL CARRAPATOSO

JANEIRO DE 2018

Alergia a peixe

Cátia Inês Teixeira da Silva Costa

Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

c-ines@hotmail.com

Coimbra, Janeiro de 2018

Índice de figuras

Figura 1 - Mecanismos imunológicos de tolerância oral e sensibilização	23
Figura 2 - Mecanismo de sensibilização por via gastrointestinal	24
Figura 3 - Estrutura tridimensional da parvalbumina de três espécies.....	31

Índice de tabelas

Tabela 1: Parvalbuminas listadas pela WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-committee ..	30
Tabela 2: Proteínas de <i>Anisakis</i> listadas pela WHO/IUIS	38

Índice

Índice de figuras	5
Índice de tabelas	5
Lista de abreviaturas/siglas	9
Resumo.....	11
Abstract	13
Introdução.....	15
Materiais e métodos	17
Resultados	19
Demografia e prevalência.....	19
Clínica.....	22
Alergénios.....	27
Exposição ocupacional	38
Reações não mediadas por ige e diagnóstico diferencial	39
Meios complementares de diagnóstico.....	42
Tratamento.....	45
Discussão.....	49
Conclusão	53
Agradecimentos.....	55
Referências bibliográficas	57

Lista de abreviaturas/siglas

USD	United States Dollar
TGF β	Transcription Growth Factor β
IL	Interleucina
IDO	Indoleamina-2,3-dioxigenase
pI	Ponto Isoelétrico
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
SPT	Skin Prick Test
SPPT	Skin Prick-Prick Test
ADN	Ácido desoxirribonucleico
PCR	Polimerase chain reaction

Resumo

Este artigo de revisão bibliográfica pretende revisitar os conhecimentos sobre a alergia ao peixe à luz das novas evidências científicas, discutir a problemática do diagnóstico diferencial e o seu impacto na tomada de decisão e inferir o rumo da ciência no que toca a novas formas de diagnóstico e tratamento de modo a oferecer aos doentes uma resposta que se coadune às dificuldades diárias de uma doença com tanto impacto no seu dia-a-dia.

O aumento global do consumo de peixe, relacionado com a promoção de estilos de vida saudáveis e da expansão da cozinha internacional, levou ao aumento das reações alérgicas reportadas pelos consumidores. Estima-se que a alergia a peixe afete 0,1 a 0,4% da população colocando-o na lista dos 8 alimentos mais alergénicos.

As parvalbuminas são proteínas responsáveis pela grande maioria das reações específicas mediadas por IgE. A polisensibilização a várias espécies habitualmente relacionada com reatividade cruzada ou o conteúdo total de parvalbuminas no tecido muscular do peixe são fatores a considerar no enquadramento desta patologia. Não obstante, outras proteínas poderão estar envolvidas como a vitelogenina, enolases e aldolases.

A principal via de sensibilização é a ingestão, no entanto a via respiratória ou o contato por manuseamento direto devem também ser equacionadas, promovendo um leque muito vasto de manifestações clínicas que variam desde rinite, angioedema, dor abdominal, urticária e até mesmo anafilaxia.

Dada a multiplicidade dos sinais e sintomas impõe-se o diagnóstico diferencial com um vasto leque de entidades clínicas. O *Anisakis* é um parasita que infecta os humanos através do consumo de peixe cru ou de cefalópodes que o contenham no seu terceiro estado larvar causando uma reação imune à tropomiosina, paramiosina ou inibidores da protéase e provocando sintomas sobreponíveis aos verificados na alergia a peixe. Por outro lado, mecanismos não imunológicos podem causar reações a bactérias, vírus, toxinas marinhas ou

aminas biogénicas como é o caso da intoxicação escombróide contribuindo para a heterogeneidade de patologias potencialmente equacionáveis como causadoras do quadro clínico.

O diagnóstico é essencialmente clínico podendo ainda recorrer-se a testes cutâneos (*prick e prick-prick* com peixe cru e cozinhado), a quantificação de IgE específica por *ImmunoCAP* ou técnicas de *immunoblotting* ou ao *gold standard* que será o teste de provocação controlado por placebo.

A imunoterapia poderá ser promissora no futuro relegando atualmente para primeiro plano terapêutico a evicção das espécies de peixes alergizantes, do risco de contaminação cruzada e o tratamento das reações agudas pós-exposição.

Palavras chave: alergia a peixe, parvalbumina, tropomiosina, enolase, anisakis

Abstract

This review article aims to revisit the knowledge about fish allergy under the clinical evidence available so far, to discuss the problematical differential diagnosis and its impact on decision making and to deduce the course of scientific outbreaks in the management, diagnostic and treatment of these patients.

The global increase of fish consumption, mainly related to the awareness of benefits arising from a healthy lifestyle and also because of the expansion of international cuisine, led to an increase in self-reported allergic reactions. Fish allergy is estimated to affect between 0,1 and 0,4% of worldwide population ranking it as one of the 8 major food allergens.

Parvalbumins are fish proteins responsible for the vast majority of clinical reactions mediated by specific IgE. Poli sensitization to several species, usually related to cross reactions, or the total amount of parvalbumin in the fish's muscle are two factors to take into account when trying to understand this pathology's framework. Nevertheless, other proteins may be involved including vitelogenin, enolases and aldolases.

The main route of sensitization is through ingestion although the respiratory pathway or skin contact must be considered, promoting a wide range of clinical manifestations that vary from rhinitis, angioedema, abdominal pain, urticaria or even anaphylaxis.

Due to the multiplicity of symptoms and signs, the differential diagnosis is challenging and includes several clinical identities. Anisakis is a parasite which infects humans after the ingestion of poorly cooked or raw fish containing its third larvar stage, causing an immune reaction to tropomyosine, paramyosine or protease inhibitors. Ultimately, it leads to a clinical setting than can be misguided as fish allergy. On the other hand, non immune reactions such as the ones caused by bacteria, viruses, marine toxins or biogenic amines contribute to the heterogeneity of potential causative pathologies of the same clinical setting.

The diagnosis is essentially clinical although some complementary exams may be performed such as cutaneous tests (prick and prick-prick with raw and cooked fish) and specific IgE quantification using ImmunoCAP or immunoblotting techniques. The placebo controlled oral provocation remains as the gold standard for diagnosis.

Immunotherapy may play a role in the future therapeutics leaving the eviction of causative species and the treatment of acute reactions as the first approach to fish allergy.

Keywords: fish allergy, parvalbumin, tropomyosin, enolase, anisakis.

Introdução

A alergia alimentar, patologia inerente a uma resposta imune específica a dado alimento, tem um impacto negativo significativo na qualidade de vida dos doentes e suas famílias. O espectro de sinais e sintomas é muito vasto, sendo mais comuns as reações cutâneas, respiratórias e gastrointestinais. A gravidade do quadro clínico é também muito variável abrangendo pequenas reações locais e autolimitadas até graves e potencialmente ameaçadoras de vida. [1]

O peixe pertence ao grupo dos oito alergénios alimentares *major* que inclui: leite, ovo, amendoim, nozes, trigo, soja e marisco. Epidemiologicamente é mais comum a alergia a peixe manifestar-se nos primeiros anos de vida. Não obstante, os casos de início da expressão clínica em idade adulta são frequentes e valorizáveis. Habitualmente as reações alérgicas ao peixe são do tipo I, mediadas por IgE e de apresentação imediata. No entanto, o peixe pode provocar outro tipo de hipersensibilidade nomeadamente por imunocomplexos ou mecanismos não imunológicos como intoxicações ou intolerância a algumas proteínas. [1,2]

Muitos passos têm sido dados no sentido de identificar os mecanismos fisiopatológicos que estarão na base da sensibilização e resposta imunológica específica aos alimentos assim como as consequentes manifestações dessa cascata de eventos nos diversos sistemas e órgãos. No entanto, o conhecimento da prevalência exata de cada tipo de alergia, métodos estimativos para avaliar a gravidade da doença nos indivíduos afetados, critérios para diagnóstico diferencial com outras entidades nosológicas ou o impacto dos estilos de vida das populações na gravidade e na heterogeneidade de manifestações desta patologia, são ainda temas que merecem investigação e discussão pública. [1,3]

A nível nacional e internacional existem medidas que pretendem minimizar o impacto da alergia alimentar na vida dos doentes. Entre elas destaca-se o grande avanço que constituiu a obrigatoriedade da listagem dos alergénios em alimentos/refeições. Não obstante, durante a

produção e manipulação dos mesmos existe o risco de contaminação cruzada com outras substâncias não mencionadas nos rótulos. Esta contaminação acontece mesmo sob padrões de higiene e segurança muito rígidos. Segundo dados da *US Food and Drug Administration* os produtos de pastelaria, doces e *snacks* embalados contabilizam os alimentos com mais perigo de contaminação responsabilizando-se por 31%, 10% e 12,16% de acidentes alimentares respetivamente. Foram registados 4 óbitos entre 1986 e 2011 relativos a acidentes alimentares em indivíduos alérgicos a peixe. [2]

A alergia alimentar é uma doença crónica com um impacto substancial na vida do doente e da sua família. A evicção dos alimentos alergizantes exige um grande controlo a nível do consumo em espaços públicos de restauração, cantinas escolares, hospitais e mais especificamente a nível da confeção e consumo doméstico. A alergia a peixe não é exceção e as suas particularidades não menos desafiantes, sendo um superalimento cujo consumo tem vindo a aumentar nos últimos 15 anos. Segundo os últimos dados do Instituto Nacional de Estatística em 2015 registou-se um acréscimo de 5,6% na produção da pesca nacional face ao ano transato. Para este aumento contribuiu também a emergência da cozinha internacional, possível através da globalização e da mercantilização de produtos locais oriundos de vários países. Cada vez mais o indivíduo comum é exposto a alimentos com diferentes propriedades e características tornando a lista de potenciais alimentos causadores de alergia muito vasta e complexa. [4]

O objetivo deste trabalho foi rever e unificar conceitos-chave da alergia a peixe, explorar os seus diagnósticos diferenciais e resumir as principais linhas de diagnóstico e tratamento inferindo as possíveis mudanças que a investigação poderá reiterar.

Materiais e métodos

Realizou-se uma revisão da literatura atual sobre alergia a peixe utilizando a PUBMED e livros de referência da especialidade de Imunoalergologia.

Da pesquisa no motor de busca científica PUBMED foram selecionadas publicações dos últimos 10 anos, escritas em inglês, com informação considerada relevante para o tema. Foram ainda consideradas publicações mais antigas apenas para definir conceitos gerais e para mencionar avanços históricos no conhecimento desta patologia.

Pretendeu-se revisitar os conceitos gerais da alergia alimentar e em particular a etiologia da alergia a peixe, fisiopatologia, entidades moleculares envolvidas, diagnóstico e tratamento.

Inicialmente foi feita uma pesquisa sumária para melhor entender a situação atual do conhecimento do tema utilizando as palavras-chave supracitadas: alergia a peixe/ fish allergy, parvalbumina/parvalbumin, tropomiosina/tropomyosin, enolase/enolase, anisakis/anisakis.

Posteriormente, os conceitos pesquisados foram alargados incluindo: filogenia, caracterização molecular e novas terapêuticas.

Foi efetuada uma avaliação crítica de todas as publicações nomeadamente da sua pertinência e qualidade científica. Foram apenas selecionados os que preencheram os critérios anteriores e que poderão contribuir positivamente para o conhecimento atual da alergia a peixe.

Resultados

Demografia e Prevalência

O peixe é um dos alimentos mais importantes na cultura gastronómica portuguesa. Ele é uma fonte muito importante de aminoácidos essenciais, minerais, vitamina D e tem a vantagem de fornecer ácidos gordos polinsaturados e ómega 3 e 6 essenciais à saúde. O seu consumo tem aumentado devido à promoção de estilos de vida saudáveis e à facilidade no acesso a este alimento mesmo em zonas geográficas onde a pesca não é uma atividade desenvolvida e com expressão significativa no sector económico. [5]

Estima-se que a prevalência de alergia alimentar esteja a aumentar nos países ocidentais no entanto a sua quantificação exata ainda não está estabelecida. Os dados de que a comunidade científica dispõe são obtidos maioritariamente através de inquéritos populacionais. [2]

A *World Allergy Organization* refere uma prevalência de alergia alimentar em 20 a 30% da população mundial com 5% e 2% de crianças e adultos respetivamente com alergia a peixe e/ou a marisco. Já especificamente a peixe os dados afirmam 0,2% de casos na população mundial. [6,7]

A prevalência varia geograficamente, de acordo com o escalão etário e com o método de avaliação. Nos adultos europeus estimam-se taxas entre 1,5% na Grécia e 0,2% na Dinamarca; no continente americano entre 2,7% nos EUA e 0,12% no Canadá; 2,1% na Austrália e 1,2% em Taiwan, sendo que todos estes valores foram obtidos a partir de inquéritos. Na Ásia, tal como esperado devido a questões dietéticas, culturais e económicas, encontraram-se taxas de incidência elevadas como indica um estudo com inquéritos em Singapura calculando existirem 4,1% de indivíduos com potencial alergia a peixe. Em provas de sensibilização, os resultados são um pouco diferentes com um estudo alemão mostrando 2,9% dos indivíduos com sensibilização a cavala. Já em testes de provocação oral apenas um

estudo em adultos foi realizado na Dinamarca com 0,1% de indivíduos a reagirem a bacalhau. Na população infantil verifica-se maior heterogeneidade de resultados relativamente ao local geográfico. Isto é, a nível europeu em estudos com inquéritos, na Noruega 3% das reações alérgicas em crianças até 2 anos são atribuídas a peixe colocando-o em equidade com a alergia a ovo. Em testes de provocação, duplo cegos e controlados por placebo, os resultados variaram entre 0,3% na Islândia e 0% na Dinamarca, Turquia e Reino Unido. Por sua vez nos EUA e na Austrália, em estudos retrospectivos, obteve-se 0,2% e 5,6% respetivamente. Os países asiáticos apresentam taxas de prevalência mais elevadas entre as crianças, ponderando-se serem consequência da introdução do peixe na dieta em idade tão precoce como os 7 meses. Em Singapura confirmou-se a sensibilização em 13% das crianças. Estudos subsequentes indicaram maior prevalência no sexo feminino e com espécies de anchova e cavala que são o primeiro e o quinto peixe respetivamente mais capturado a nível mundial. [6-8]

Os fatores de risco na alergia a peixe incluem os fatores transversais a todas as alergias alimentares como a presença de outras doenças alérgicas, pais ou irmãos com a mesma patologia ou elevado estrato socioeconómico, mas também fatores de risco específicos como a exposição a peixe em idades precoces e habitação em países com grande atividade industrial de processamento de peixe. Não foram encontrados fatores de prognóstico com impacto relevante. [8]

Relativamente aos fatores de risco específicos, a maior prevalência de indivíduos alérgicos em países como Austrália, da Ásia e da Europa mediterrânica e báltica sugerem que o consumo elevado de peixe e exposição precoce sejam fatores a favor. Um estudo do Kuwait com 865 estudantes verificou que 60% dos indivíduos reportando alergia a peixe, afirmam que esta teria ocorrido muito cedo na infância nomeadamente durante o primeiro ano de vida. Estes dados entram em conflito com a idade típica do início da sintomatologia e podem ter a sua explicação na exposição precoce das crianças do Golfo Pérsico a peixe e mariscos e com

um consumo *per capita* de aproximadamente 17 kg/ano, um valor considerado muito elevado. A exposição industrial, especialmente com peixe processado pós-confeção é particularmente observada como fator de risco de alergia em alguns microambientes. De facto, foi verificada a presença de asma ocupacional em aproximadamente 8% dos trabalhadores da indústria e reações de hipersensibilidade retardada em 3 a 11%. [6,9,10]

O impacto da adaptação à doença e das consequentes mudanças comportamentais no dia-a-dia ramifica-se pela dimensão financeira, laboral, escolar e interpessoal do indivíduo e seus cuidadores. Um estudo publicado em 2013 por Gupta *et al* afirma que as perdas económicas na família de um indivíduo com alergia alimentar contemplam custos diretos do sistema de saúde por consultas, urgências, hospitalizações e medicação que se estima perfazerem cerca de 724 USD por doente anualmente, mas também perda de produtividade em cerca de 130 USD anuais. Analisando o total dos custos diretos e indiretos, um doente com alergia alimentar pode custar ao estado e à sua família em média 4184 USD anualmente. [4]

A nível interpessoal, a alergia a peixe tem repercussões evidentes a nível da dinâmica familiar desencadeando níveis de *stress* e ansiedade superiores comparativamente a famílias com todos os indivíduos saudáveis. Os padrões dietéticos recomendados são geralmente cumpridos, sendo que grande parte das famílias impõem mesmo dietas mais restritas do que o que foi recomendado. Não obstante, os acidentes alimentares e contaminações são frequentes e diagnosticados em mais de 20% das crianças com alergia a peixe confirmada por profissionais de saúde. Apesar da adoção de comportamentos alimentares adequados, os casos de acidentes variam entre simples reações alérgicas facilmente controladas até reações de anafilaxia a alimentos cuja contaminação não seria de todo expectável. Kuehn *et al.* publicaram um caso de um rapaz de 12 anos com rinite alérgica e asma que desenvolveu anafilaxia após a ingestão de *marshmallows* contendo gelatina de peixe. [6,11]

Clínica

A resposta imune a um alérgeno que induz produção de IgEs específicas sem, no entanto, causar manifestações clínicas chama-se sensibilização. A sensibilização a alimentos é uma resposta anormal do corpo humano a antígenos inócuos. A genética é um determinismo importante que contribui na diferença da reação de tolerância oral ou de sensibilização em indivíduos não suscetíveis e suscetíveis respectivamente. Por outro lado, o aumento da prevalência da alergia alimentar nas crianças vem contribuir para a valorização que os estilos de vida e o ambiente desempenham na frequência de indivíduos sensibilizados. Outros fatores envolvidos nesta dicotomia são a idade, o estado da barreira mucosa, propriedades físicas do antígeno, dose e frequência de exposição e a flora comensal. [2,7]

A sensibilização via gastro intestinal conduz a alergia alimentar de classe I. Em indivíduos saudáveis existem reações de tolerância oral que impedem a sensibilização, ou seja, existe uma resposta sistêmica não imune aos antígenos encontrados por esta via. Os antígenos alimentares levam à produção de células T reguladoras específicas incluindo *Foxp3*⁺ assim como T reguladoras com peptídeo associado a latência *Foxp3*⁻. Ambas as linhas celulares são supressoras de reação por vias dependentes de *TGF-β*. As células T reguladoras são induzidas no trato gastrointestinal na estrita dependência de uma população especializada de células dendríticas que adquirem o antígeno na lâmina própria e o apresentam nos nódulos linfáticos mesentéricos. As células dendríticas CD103⁺ induzem as T reguladoras pela produção de *TGF-β*, ácido retinóico e a enzima IDO. Os antígenos também conseguem migrar pelas células caliciformes sendo adquiridos subsequentemente pelas CD103⁺ que produzem mucina MUC2 e por sua vez contribuem para a tolerância oral. A nível intestinal também contribuem os fatores Csf2 produzidos por células linfóides inatas no trato gastro intestinal.

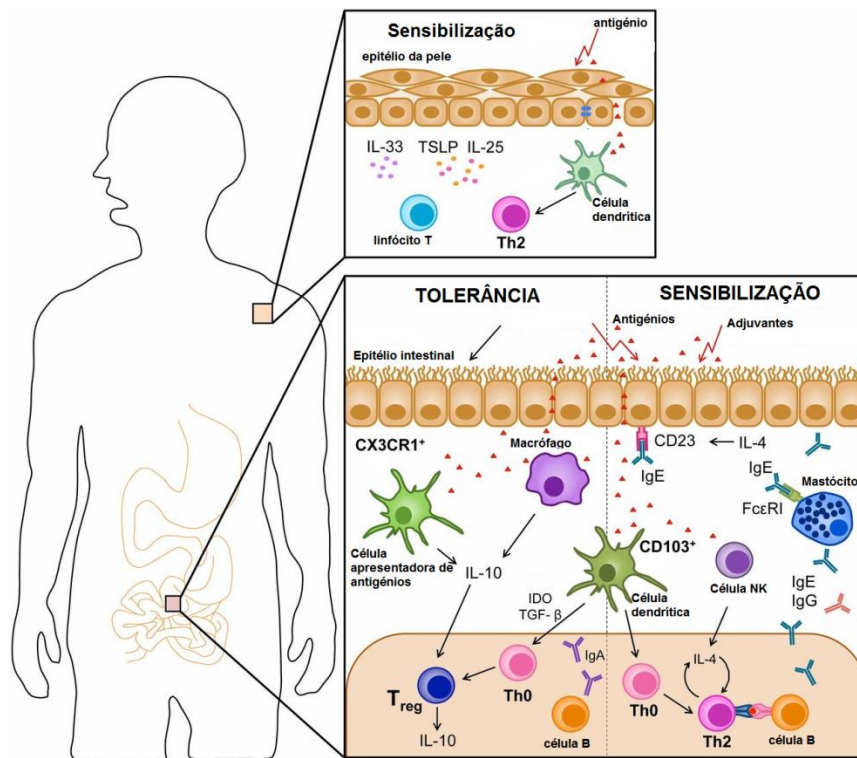


Figura 1 - Mecanismos imunológicos de tolerância oral e sensibilização. *TSLP* - linfopoetina estromal tímica, *IL33* - interleucina 33, *IL25* - interleucina 25, *CX3CR1* - recetor de fractalquina, *IL4* - interleucina 4, *IL10* - interleucina 10, *IDO* - indoleamina 2,3 dioxigenase, *TGF β* - fator de transcrição β, *FcεRI* – recetor de IgE de alta afinidade, *Treg* - célula T reguladora. *Adaptado de Johnston L, Chien K, Bryce P. [63]*

Em indivíduos suscetíveis, este processo é alterado. As proteínas internalizadas pelas células dendríticas e levadas até aos nódulos linfáticos são degradadas em peptídeos e apresentadas pelo antígeno major de histocompatibilidade presente na sua superfície a células T CD4⁺. Este processo conduz à indução de células Th2 com produção de citocinas particularmente IL4, IL5, IL9 e IL13. As células B ativadas expandem também a resposta anterior e agem ainda como células apresentadoras de antígenos ativando ainda mais células Th2. As moléculas de IgE produzidas pelas células B ativadas estão ligadas a recetores de IgE de alta afinidade - FcεRI - nos mastócitos e basófilos. Perante uma reexposição ao alérgeno existe uma ligação imediata a moléculas de IgE nos mastócitos conduzindo a desgranulação, libertação de mediadores de inflamação como histaminas, citocinas, quimiocinas e lípidos inflamatórios provocando reações da fase aguda. Esta é a forma *major* de sensibilização ao

peixe confirmada por estudos com bacalhau em modelos animal e em humanos. Este estudo revelou ainda a interferência dos níveis de pH no suco gástrico, sendo que a prescrição de medicação anti ácida resulta na digestão incompleta e consequente exposição aumentada aos peptídeos alergénicos. Verificou-se biodisponibilidade dos alergénios apenas 10 minutos após a ingestão. Conclui-se portanto que os alergénios de peixe são muito estáveis e rapidamente absorvidos por esta via.[2,6,7,12]

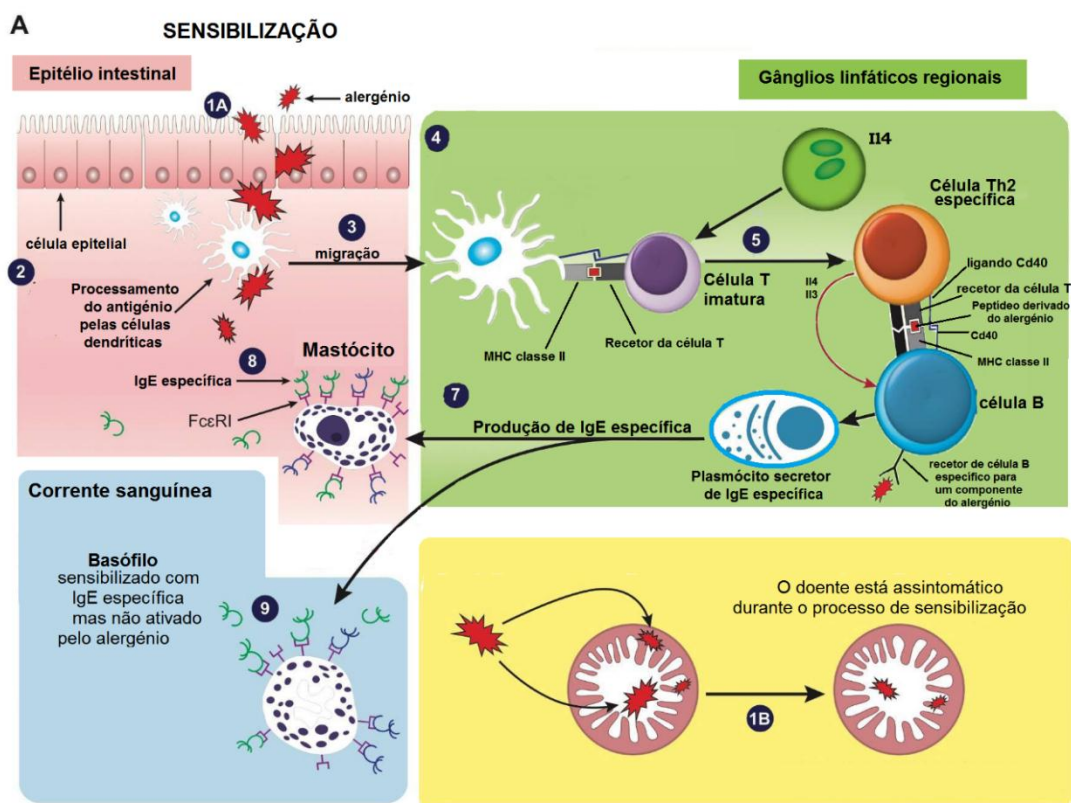


Figura 2 - Mecanismo de sensibilização por via gastrointestinal. *IL3* - interleucina 3, *IL4* - interleucina 4, *FcεRI* - recetor de IgE de alta afinidade, *MHC* - complexo *major* de histocompatibilidade. Adaptado de National Academies of Sciences, Engineering and Medicine. [1]

Para além da sensibilização por via digestiva, determinadas proteínas são também capazes de sensibilizar através das vias inalatória e cutânea. Tratando-se de alergénios potentes, resistentes à ação de temperaturas elevadas são capazes de desencadear sintomas não só pela ingestão mas também pela inalação e contacto. Desta forma, estabelece-se a alergia alimentar de classe II como aquela que envolve a sensibilização secundária a proteínas

que apresentam reatividade cruzada com alérgenos inalatórios responsáveis pela sensibilização primária pela via respiratória. Este mecanismo é uma importante via tanto a nível doméstico como ocupacional. James *et al* publicou um estudo que revelou que 11% das crianças estudadas apresentaram reações alérgicas repetidas após inalação de peixe. Esta reação era provocada tanto pela inalação direta como pela inalação dos vapores de confeitaria. Salvatore *et al* foi ainda mais longe, descrevendo casos de crianças tolerando peixe por via oral e reagindo clinicamente por via inalatória. Lopata *et al* registou 30% de indivíduos alérgicos com clínica após processamento e inalação em ambiente doméstico. Este tipo de sensibilização pode ser a resposta para os casos de alergia de novo em adultos que consumiram peixe durante a sua infância sem nunca terem apresentado sinais clínicos. [13-15]

A exposição cutânea é uma outra via de sensibilização contribuindo em conjunto com a via respiratória como causa mais frequente de sensibilização através de exposição ocupacional. Não obstante, existem casos de exposição doméstica como relatado por Fujimoto *et al* num caso com exposição através de cremes de cosmética contendo uma proteína de peixe da família do colagénio com 3.5 a 4.5 kDa, perfeitamente capaz de penetrar o estrato córneo em modelos animais. Esta via de sensibilização é mais frequente em doentes com patologia dermatológica subjacente como a dermatite atópica tal como descreve Sano *et al* em dois casos de trabalhadores com essa patologia que desenvolveram urticária por exposição percutânea ocupacional na indústria do peixe. Fontenelle *et al* descreveram ainda a sensibilização epicutânea e intraperitoneal com antígenos larvares de parasitas de peixes contribuindo para o conhecimento da heterogeneidade de alérgenos capazes de provocar alergia em indivíduos que manuseiam peixe no seu contexto profissional. [16-18]

Para além de alergia alimentar mediada por IgE, as proteínas de algumas espécies de peixe foram implicadas em reações de hipersensibilidade do tipo III. A avaliação de um doente com manifestações clínicas, cujo estudo complementar revelou negatividade na reação

aos testes cutâneos, quantificação negativa de IgE específica e consumo de complemento coloca sob principal suspeita o diagnóstico deste tipo de reação mediada por imunocomplexos. [19]

No ambiente profissional, a alergia ocupacional foi registada para espécies como: truta, salmão, sardinha, anchova, solha, pescada, atum, arinca e bacalhau. A asma ocupacional tem uma prevalência de 7 a 36% e a dermatite de contacto de 3 a 11%. Jebhay *et al* conduziram um estudo em ambiente ocupacional no sul de Africa. Foi detetada atopia em 36% dos indivíduos estudados sendo que 7% da população total estava sensibilizada a pelo menos uma espécie de peixe. Os níveis de exposição superiores a 30ng/m³ apresentaram correlação estatística com sensibilização e prevalência de asma ocupacional. [6,20]

Clinicamente a resposta depende de uma variedade de fatores que incluem a sensibilidade dos indivíduos afetados, a natureza do alimento, o processamento a que foi submetido antes da ingestão, outros componentes do alimento, entre outros. A gravidade pode variar entre ligeira, moderada ou grave incluindo esta última os casos de anafilaxia. A sensibilização ocorre geralmente durante a infância após introdução de peixe na dieta da criança e grande parte dos indivíduos permanecem alérgicos de forma crónica. Apenas 10% dos doentes recuperam a tolerância oral durante a idade adulta. [6,21]

A exposição por via oral através da ingestão de peixe cru, cozinhado ou processado no meio doméstico pode conduzir a angioedema, rinite, síndrome de alergia oral, urticária, anafilaxia, náusea, vômitos e diarreia. Esta associação causal foi verificada em estudos com dourada, pargo, enguia, sardinha, salmão e bacalhau. [22-24]

Por contacto epicutâneo através do manuseamento sem proteção e preparação de peixe foi verificado tanto em contexto doméstico como ocupacional provocando urticária, angioedema e conjuntivite. Estes foram correlacionados com mais evidência em espécies como bacalhau, sardinha e peixe-espada. [25-27]

A sensibilização através da inalação de aerossóis derivados de processos como o corte da cabeça, a remoção das vísceras ou a cozedura do peixe foi verificada em ambiente doméstico, mas mais frequentemente e com maior impacto em meio ocupacional. Os peixes comprovadamente implicados nesta situação são a solha, salmão, pescada, sardinha, anchovas, atum, truta e linguado. Clinicamente traduzem-se com grande frequência em casos de asma, rinite e *rash* cutâneo. [6]

Um estudo que acompanhou crianças durante 7 anos, relativamente a manifestações clínicas da alergia a peixe, revelou que as mais comuns eram as cutâneas perfazendo 83,78% dos casos (eritema em 18,91%, angioedema em 10,81%, prurido em 67,57%) seguindo-se os sintomas gastrointestinais como náusea, vômito e diarreia; os sintomas neurológicos como aura, irritabilidade, letargia e desorientação; os sintomas cardiovasculares em quarto lugar com hipotensão, hipoperfusão, taquicardia em menos de 5,41% das crianças. Em último lugar verificaram-se as alterações respiratórias que foram as primeiras manifestações em apenas 2,70% dos casos. Não se verificaram diferenças entre os grupos de indivíduos alérgicos a peixe marinho e de rio. [28]

Alergénios

Os alimentos que provocam reações alérgicas são-no em primeira instância porque contêm moléculas que atuam como alergénios. Esta propriedade imunológica é determinada por fatores específicos relacionados com a função e atividade de diversas proteínas. Para além de estarem presentes em quantidades suficientes no alimento para gerarem reação, têm também a capacidade de serem altamente estáveis a processos físicos e químicos que as possam alterar como a digestão e o processamento. [6,7]

A estabilidade estrutural foi atribuída a propriedades como a ligação intrínseca, as ligações dissulfito intramoleculares e a capacidade de formarem agregados extremamente

estáveis. Embora algumas proteínas sejam sensíveis a processos físicos e químicos que as degradem em fragmentos ou alterem as suas ligações intramoleculares, mantêm a capacidade de reconhecimento pelos anticorpos IgE específicos. Os alergénios de origem animal agrupam-se em três classes principais: caseínas, tropomiosinas e um grupo de proteínas ligantes de cálcio composto quase inteiramente por parvalbuminas. [2,7]

A especificidade molecular dos alergénios do peixe é muito complexa face a outros alimentos uma vez que é um produto consumível muito diversificado na sua composição molecular e que compreende um vasto número de espécies envolvidas na patologia em estudo. Os peixes são animais aquáticos cuja subdivisão filogenética se pode estabelecer em três grupos: *Agnatha*, peixe sem mandíbula e sem barbatanas pareadas que compreende 50 espécies incluindo as lampreias e as feiticeiras; *Chondrichthyes*, peixes cartilagosos como os tubarões, as raias assim como cerca de mais 600 espécies e por fim os *Osteichthyes*, ou peixes com esqueleto ósseo, a maior das três classes e a que compreende mais de 30000 espécies entre as quais a grande maioria das que fazem parte da alimentação humana. O consumo de peixe depende em grande escala da disponibilidade e distribuição regional das diversas espécies. A nível geral os mais consumidos pertencem à ordem dos clupeiformes (sardinha), salmoniformes (salmão e truta), cypriniformes (carpas), gadiformes (bacalhau) e perciformes (perca, cavala e atum). A heterogeneidade e diversidade de espécimes marinhos capturados e incluídos na alimentação humana é tão elevada que apenas 0,5% de todas as espécies de peixes foram já analisadas quanto aos seus alergénios a nível molecular.

As parvalbuminas são os alergénios mais frequentes e prevalentes na alergia ao peixe. Pertencem a uma família de proteínas ligantes de cálcio que contêm 12 resíduos de alças longas que estão envolvidas na ligação de iões metálicos divalentes. A extremidade de ligação N-terminal destas proteínas é um domínio não funcional enquanto os outros dois são locais de ligação de iões cálcio e magnésio. Fisiologicamente encontram-se no músculo e regulam a

concentração de cálcio intracelular durante o processo de relaxamento muscular. Devido à ligação e libertação dos iões infere-se que a parvalbumina tenha uma elevada capacidade de reajustamento estrutural. [6,7,29]

A família molecular das parvalbuminas pode dividir-se filogeneticamente em dois subtipos: alfa e beta. Estas diferem em múltiplos parâmetros estruturais primários como por exemplo nos seus pontos isoelétricos (pI) - alfa $pI > 5$ e beta $pI < 4.5$ - sublinhando as diferenças a nível das propriedades que adquirem pela estrutura que apresentam. A nível fisiológico podem encontrar-se em vários órgãos no sistema nervoso central e músculo-esquelético de várias espécies de animais. Nos anfíbios estão presentes os dois tipos de parvalbumina, enquanto que o tipo alfa foi, ao contrário do beta, encontrado em espécies de mamíferos e aves. Nos peixes, o tipo alfa é encontrado mais frequentemente nos peixes cartilagosos enquanto o beta nos peixes com espinha. [6,7,29,30]

Até hoje, a alergenicidade só foi comprovada para o subtipo beta. O subtipo alfa foi correlacionado com a alergia a carne de sapo e implicado em reações cruzadas com as proteínas homólogas do peixe em indivíduos sensibilizados a alfa-parvalbuminas provenientes deste último. Por outro lado, um estudo sobre alergia a alfa-parvalbumina de galinha identificou o reconhecimento de IgE específica tanto para a alfa-parvalbumina de galinha como para a sua homóloga de peixe apesar de não haver suspeita clínica de reação cruzada na história pessoal do indivíduo testado. Não obstante, a sequenciação das proteínas homólogas apenas foi idêntica em menos de 55% do seu total deixando em aberto a possibilidade ou não de haver reação cruzada de IgE. [31,32]

A beta-parvalbumina em peixes foi identificada pela primeira vez no início dos anos 70 em amostras de bacalhau do báltico e denominada de *Gad c 1*. Seguiram-se estudos em salmão, carpa, atum, cavala e sardinha que a definiram como um pan-alergénio. Até hoje, a base de dados de alergénios da *World Health Organization* contém 27 parvalbuminas

registadas, pertencentes a 12 espécies de peixe diferentes (Tabela 1). A *Allergome*, uma base de dados criada para fornecer informações relevantes selecionadas de publicações científicas pertinentes sobre alérgenos e reações mediadas por IgE, lista mais de 218 entradas sobre parvalbuminas e suas isoformas. [33]

Tabela 1: Parvalbuminas listadas pela WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-committee

Denominação comum	Espécie	Alérgeno	Peso molecular (kDa)
Arenque do Atlântico	<i>Clupea harengus</i>	<i>Clu h 1</i>	12
Carpa comum	<i>Cyprinus carpio</i>	<i>Cyp c 1</i>	12
Bacalhau do Báltico	<i>Gadus callarias</i>	<i>Gad c 1</i>	12
Barramundi	<i>Lates calcefer</i>	<i>Lat c 1</i>	11,5
Areeiro	<i>Lepidorhombus whiffiagonis</i>	<i>Lep w 1</i>	11,5
Truta	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	<i>Onc m 1</i>	12
Cavala da Índia	<i>Rastrellinger kanagurta</i>	<i>Ras k 1</i>	11,3
Salmão do Atlântico	<i>Salmo salar</i>	<i>Sal s 1</i>	12
Sardinha do Pacífico	<i>Sardinops sagax</i>	<i>Sar s 1</i>	12
Peixe vermelho	<i>Sebastes marinus</i>	<i>Seb m 1</i>	11
Atum	<i>Thunnus albacares</i>	<i>Thu a 1</i>	11
Peixe-espada	<i>Xiphias gladius</i>	<i>Xip g 1</i>	11,5

As beta-parvalbuminas são altamente estáveis, têm baixo peso molecular (10 -12 kDa) e são comuns no músculo do peixe. Estas proteínas citosólicas, pequenas em tamanho - 106 a 113

aminoácidos - têm estrutura globular tridimensional (Figura 3) e contêm grande proporção de ácido glutâmico, aspártico e fenilalanina que as colocam no espectro de absorção de 280nm. Cerca de 90% dos doentes alérgicos a peixe reagem a estas proteínas. [30,33]

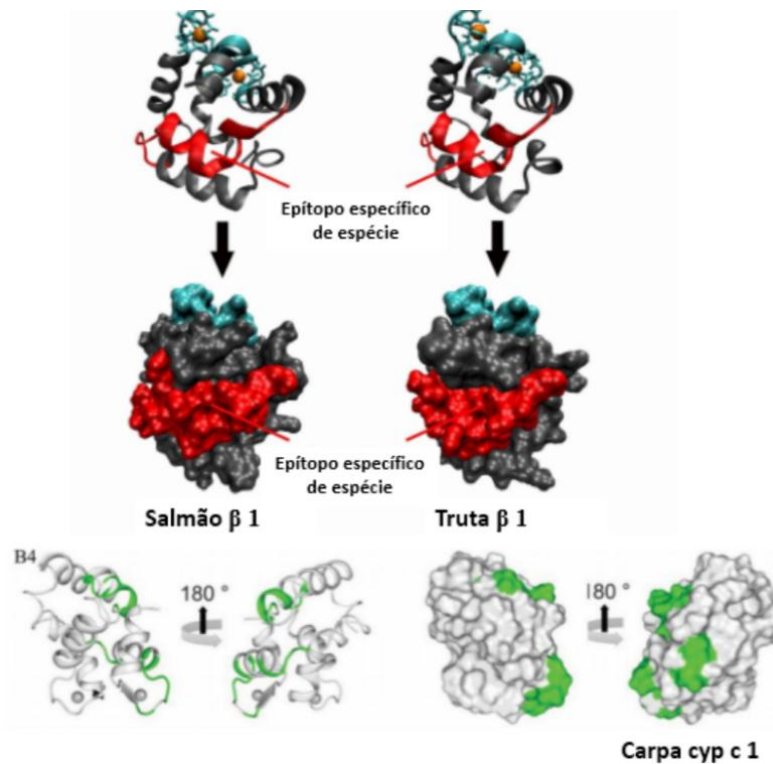


Figura 3 - Estrutura tridimensional da parvalbumina de três espécies. *Adaptado de Kuehn A, Swoboda I, Arumugam K, Hilger C, Hentges F. e de Bublin M, Kostainova M, Fuchs J, et al [7, 64]*

A maioria dos peixes expressa duas ou mais isoformas cuja designação é beta seguida do algarismo correspondente à ordem da sua descoberta. A sequência de aminoácidos apresenta variações entre 55 e 95% nas várias espécies de peixe estudadas, no entanto têm alta semelhança na sua estrutura secundária e terciária. Isto traduz-se em doentes alérgicos a uma isoforma de parvalbumina e não a outra explicando o fato da probabilidade de reação cruzada entre tipos diferentes de peixe ser de 50%, muito inferior à verificada nas espécies de marisco que ronda os 75%. Os epítotos de ligação das IgE estão localizados em regiões conservadas de ligação de cálcio verificado pela menor ligação de IgE após alteração de um único

aminoácido nesta localização molecular. A análise dos epítomos de ligação de IgE humanas só foi realizado para algumas parvalbuminas de bacalhau (*Gad c 1*), carpa (*Cyp c 1*), cavala (*Sco j 1*) e salmão (*Sal s 1*). Estes apresentam tanto epítomos lineares como conformacionais sendo que não partilham resíduos idênticos. Não obstante, não foi encontrado um padrão de péptidos plausível para definir uma região de ligação das IgE específicas das parvalbuminas. Infere-se que os epítomos das células B estão distribuídos por toda a área da estrutura primária da proteína. Uma possível explicação é a resposta B policlonal em doentes alérgicos que é promovida pelos seus hábitos alimentares levando a uma heterogeneidade das formas de alérgenos expostos - processados, fritos, fumados - dos vários tipos de peixe. Concluiu-se que os 4 tipos de parvalbuminas têm epítomos de ligação das IgE muito diferentes. [6,7,33,34]

A nível constitucional o músculo dos peixes divide-se em dois tipos: claro e escuro diferindo na sua composição, estrutura e função. Peixes com esqueleto têm músculo claro para produzir movimentos rápidos e músculo escuro para nado contínuo. Peixes mais ativos e capazes de nadar grandes distâncias como o atum e o peixe-espada têm maior quantidade de músculo escuro do que peixes predadores que necessitam de movimentos rápidos para atacar e por esse motivo contêm maior proporção de músculo claro. A expressão de parvalbuminas é mais elevada no músculo claro. Isto é compatível com a menor capacidade alérgica de peixes como o atum que são naturalmente mais ricos em músculo escuro, o que contém menor teor de parvalbuminas. Existe correlação entre a concentração de parvalbumina e a capacidade alérgica como se verifica com a carpa que contém cerca de 100 vezes mais parvalbumina do que o atum e a cavala e é muito mais alérgica do que estas últimas. [6,7,35,36]

Em 2010 foi quantificada a parvalbumina em 8 espécies de peixe diferentes em estado cru e sem processamento. A análise em *SDS-PAGE* dividiu os resultados em três grupos de quantidade de proteína por grama de peixe: inferior a 0,5 mg na cavala, 0,5 - 2mg no salmão e truta e superior a 2mg no bacalhau, carpa, arenque e peixe vermelho. Na análise com técnicas

ELISA e em ordem decrescente de conteúdo por grama de peixe, o arenque continha 4,75mg, a carpa 3,75mg, o peixe vermelho com 2,5mg, o salmão com 2,2mg e o atum com 0,03mg. [35]

Para a maioria dos doentes existe evidência de reação cruzada entre as várias espécies de peixe. A maior parte dos sensibilizados reagem positivamente a múltiplas espécies taxonomicamente distintas. Mais ainda, estudos serológicos e da reatividade cutânea por testes *prick* sugerem elevada sensibilização cruzada - 70 a 90% - enquanto reatividade cruzada clinicamente aparente foi apenas confirmada em 50 a 70% dos casos. No entanto, foram já identificadas espécies que provocam mono sensibilidade inferida através dos relatos clínicos, não havendo uma justificação imunológica para o observado. Mais recentemente foram identificadas IgE específicas que apenas reconhecem um único iso alergénio da parvalbumina, beta 1 parvalbumina, presente numa espécie de salmão. [6,30,33]

Em 2009 realizou-se um estudo que pretendeu inferir se haveria reatividade cruzada entre vários tipos de peixes que diferiam na quantidade de músculo claro que possuíam. Comparou-se a ligação de IgE em soro de doentes alérgicos com extratos de bacalhau, linguado e peixe-espada. Este último foi utilizado como representante dos peixes ricos em músculo escuro e os outros dois como os representantes do peixe mais consumido localmente. Concluiu-se que havia reatividade cruzada entre as formas de parvalbumina das três espécies testadas e que a sequenciação mostrava similitude de 70% dos aminoácidos. Foi ainda confirmada a baixa concentração de parvalbumina no peixe-espada. [35]

Sorensen *et al* realizaram em 2017 a primeira prova de provocação oral num ensaio duplo cego e controlado por placebo. Participaram 35 indivíduos com alergia a peixe diagnosticada por profissionais de saúde e submetidos a provocação oral com bacalhau, cavala e salmão. Verificou-se que os participantes não tolerantes a nenhuma espécie apresentavam valores séricos de IgE específica para parvalbumina dos extratos superior aos participantes com tolerância parcial. Contabilizou-se que 29% dos participantes eram

tolerantes a pelo menos uma das três espécies testadas. Mais de metade dos doentes não apresentaram sinais objetivos e cerca de um terço registavam sintomas subjetivos a pelo menos uma das espécies. As doses mínimas necessárias para provocar reação demonstraram-se ser inferiores no bacalhau comparativamente às outras duas espécies.

Ainda o estudo de um caso em Viena de uma mulher de 36 anos que desenvolveu anafilaxia após ingerir peixe-gato riscado. Os testes de *skin prick* comerciais (*SPT*) foram negativos para bacalhau, cavala e sardinha. Após a realização de testes *prick-prick* (*SPPT*) com peixe-gato riscado e espécies taxonomicamente relacionadas, os resultados foram claramente positivos. Este caso vem apoiar o fato de indivíduos poderem ser alérgicos a parvalbuminas de uma gama de espécies muito restrita. [36-38]

Conclui-se que existe reatividade cruzada em alguns doentes, no entanto, a mono sensibilidade também é comum. Doentes que tolerem algumas espécies devem ser testados de forma a poderem fazer evicção alimentar apenas das espécies a que reagem. Depreende-se ainda que as parvalbuminas variam no potencial alérgico entre diferentes espécies de peixe e que os isoalergénios presentes no mesmo peixe podem ser variáveis provocando uma multiplicidade de possibilidades de reatividade e sensibilização cruzada. [36, 37]

Não só a quantidade de proteína tem influência na imunogenicidade mas também os processos físicos e químicos que alterem a sua composição e a estrutura têm influência na capacidade alérgica através do aumento ou diminuição da capacidade de ligação das IgE e desencadeamento da cascata de reação imunológica.

A desnaturação dos epítomos de IgE foi considerada uma explicação possível para a reduzida alergenicidade no peixe processado industrialmente. A desnaturação extensa pode ser causada por processamento através de baixo pH, elevada pressão e alta temperatura. Kuehn *et al* estudaram amostras alimentares acidificadas por *pickles*, enlatados e fumados de forma a identificar os níveis de parvalbuminas. Nas amostras processadas comercialmente

verificou-se que o conteúdo em parvalbumina era 60% inferior ao verificado nas amostras cruas talvez devido à destruição dos epítomos reconhecidos pelos anticorpos murinos. A solubilidade das parvalbuminas processadas é também inferior pela interação com a matriz dos outros ingredientes e a formação de agregados proteicos de alto peso molecular. [35]

Por outro lado, o aquecimento da parvalbumina foi associado em várias publicações a maior reatividade imunológica à proteína. Um ensaio com técnica de *immunoblotting* procurou caracterizar alergénios no arenque e encontrou moléculas termoestáveis e termolábeis. As parvalbuminas foram incluídas no primeiro grupo revelando moléculas de 12, 18, 24, 38 e 51 kDa termorresistentes. O mecanismo de aumento da alergenicidade é semelhante ao encontrado no amendoim. Em modelos com sardinha submetida a altas temperaturas verificou-se um aumento da resposta de citocinas das células Th2 e da resposta IgE específica face a amostras cruas. [2,6,39]

Como já descrito anteriormente, a parvalbumina foi definida como o alergénio *major* do peixe. No entanto, a prevalência de IgE específica para parvalbumina nos doentes alérgicos é muito variável a nível geográfico. A descoberta de que a sensibilização a alguns peixes tropicais faria despoletar reações de IgE específicas para outros alvos que não a parvalbumina levou ao reconhecimento de outras moléculas alergénicas no peixe. [7]

Inicialmente, a atividade mediada por IgE a enolases e aldolases de peixe foi descrita somente em algumas espécies. Em 2013, enolases de 50 kDa e aldolases de 40 kDa foram reconhecidas como importantes alergénios no bacalhau, salmão e atum. Ambas estão presentes no tecido muscular, participam em processos de glicólise e são lábeis a altas temperaturas. A ligação de IgE específicas foi detetada recentemente em ensaios, sendo que grande parte dos doentes testados estavam também sensibilizados a parvalbuminas. Este facto deixa em aberto a relevância da positividade dos mesmos em doentes não reativos a parvalbumina. [7,40]

O colagénio mostrou a capacidade de desencadear reação de IgE específica em 5 de 8 doentes alérgicos a atum. Numa *coorte* de 36 japoneses alérgicos a peixe, 50% possuíam IgE específica para o colagénio de cavala. A gelatina de peixe foi proposta como um dos alergénios do peixe e é um colagénio do tipo I. Este composto é muito utilizado na indústria alimentar e farmacêutica. Um estudo em 30 doentes alérgicos a bacalhau submetidos a *SPT* identificou 3 indivíduos com reação positiva à gelatina. Em provas de provocação oral, 1 destes 3 apresentou reação. A importância da gelatina de peixe como alergénio é mais evidente perante o relato de vários casos de anafilaxia após consumo de doces contendo várias gramas desta molécula. Também foi investigada a relação entre a gelatina presente na bexiga do peixe, utilizada para filtrar bebidas com cevada, e reações alérgicas em indivíduos sensibilizados que beberam cerveja. Não obstante, não se verificaram reações cruzadas com gelatina de mamíferos e a contaminação em ensaios e nos casos reportados com parvalbuminas é uma possibilidade a equacionar. [6,7,41]

Em 2013 foi pela primeira vez identificada a tropomiosina como alergénio em indivíduos sensibilizados por tilápia, peixes ciclídeos de água doce, verificando-se ser 80% homóloga à tropomiosina humana. A sua participação no mecanismo fisiopatológico da autoimunidade ainda não está totalmente esclarecido nomeadamente na doença inflamatória intestinal uma vez que a maioria dos doentes sensibilizados apresentavam essa comorbilidade. [7]

Outros alergénios foram identificados nas últimas décadas baseados na reatividade de IgE. No entanto, a relevância clínica e epidemiológica dos mesmos ainda não foi completamente esclarecida. Entre estes estão proteínas: de 25 kDa no peixe-espada, 40 kDa na enguia, 94 a 105 kDa no atum, 29 a 54 kDa em espécies tropicais e 18 a 45 kDa na tilápia. Potenciais alergénios descritos incluem ainda a aldeído fosfato isomerase no bacalhau, triose-fosfato isomerase, fucose-bis-fosfato isomerase e albumina sérica no salmão e a creatina

cinase e beta enolase no atum. A vitelogenina foi identificada em caviar de várias espécies de peixe incluindo beluga. [6,7]

Não só os antigénios intrínsecos do peixe são os responsáveis por reações IgE específicas após o consumo de uma refeição com este alimento. A exposição a proteínas derivadas de *Anisakis* vivo ou morto pode causar reações imunológicas do mesmo tipo. Este nemátodo, parasita cujo ciclo de vida inclui invertebrados e peixe como intermediários, tem nos mamíferos e pássaros o seu hospedeiro final. O consumo humano de peixe cru ou mal cozinhado contendo o seu terceiro estado larvar pode conduzir a anisakiasis e a resposta alérgica. A incidência estimada é de 2000 casos por ano no Japão, 200 na Coreia do Sul e 500 no conjunto dos países europeus. A União Europeia tem vindo a registar cada vez mais casos pelo aumento do consumo de peixe cru em restaurantes da especialidade e consequente exposição às proteínas implicadas. [42]

Os 13 alergénios identificados no parasita compreendem antigénios somáticos, produtos de excreção e proteínas cuticulares, alguns deles termoestáveis e resistentes a pepsina. As proteínas alergénicas major são a *Ani s 1*, *Ani s 2*, *Ani s 3*, *Ani s 7*, *Ani s 12*, *Ani s 13*, *Ani s 14* e *Ani s 11-like* (Tabela 2). A sensibilização foi descrita pela primeira vez em 1990 num doente japonês com urticária após o consumo de cavala. Um estudo de 2017 em 443 crianças italianas demonstrou que 4,5% eram genuinamente sensibilizadas a *Anisakis* provando que em zonas endémicas como a região da costa do Adriático e do Tirreno, a sensibilização é igualmente frequente nos adultos e nas crianças. Nas crianças, a sensibilização é mais frequente a *Ani s 3*, proteína termoestável, pelo consumo de peixe com pouca espinha como o peixe-gato e solha. Nos adultos os peixes mais sensibilizantes são as anchovas, o verdinho e pescada. [43,44]

Tabela 2: Proteínas de *Anisakis* listadas pela WHO/IUIS

Proteína	Função bioquímica	Peso molecular (SDS-Page)
<i>Ani s 1</i>	Desconhecida	24
<i>Ani s 2</i>	Paramiosina	97
<i>Ani s 3</i>	Tropomiosina	41
<i>Ani s 4</i>	Inibidor da cisteína protease	9
<i>Ani s 5</i>	Família SXP/RAL-2	15
<i>Ani s 6</i>	Inibidor da serina protease	Desconhecido
<i>Ani s 7</i>	Desconhecido	139
<i>Ani s 8</i>	Família SXP/RAL-2	15
<i>Ani s 9</i>	Família SXP/RAL-2	14
<i>Ani s 10</i>	Desconhecida	21kDa
<i>Ani s 11</i>	Desconhecida	27kDa
<i>Ani s 12</i>	Desconhecida	31kDa
<i>Ani s 13</i>	Hemoglobina	37kDa
<i>Ani s 14</i>	Desconhecida (terceiro estado larvar)	24 (reduzida); 27

O *Anisakis* está ainda implicado na sensibilização ocupacional provocando hiperatividade brônquica e dermatite. Em alguns nichos da indústria pesqueira, a sensibilização a *Anisakis* (8%) é mais frequente do que a peixe (6%). [42]

Não foi ainda demonstrada reatividade cruzada com os alérgenos do peixe. No entanto, verificaram-se algumas reações a antígenos homólogos em *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum*, *Hysterothylacium aduncum*, *Toxocara canis* e ainda alguns artrópodes. Esta associação foi mais significativa entre proteínas somáticas do que em produtos de excreção que são moléculas mais específicas do parasita. [6,45]

Exposição ocupacional

A exposição ocupacional é uma situação de particular importância. A via de sensibilização é geralmente a inalatória e a percutânea. A anafilaxia é rara mas a dermatite e a

hiperreactividade brônquica são sinais cardinais muito comuns. As populações em risco incluem os pescadores, vendedores, trabalhadores da indústria dos enlatados e processados e da restauração.

Estudos em ambientes ocupacionais com sardinha e anchova explicitam 7% de trabalhadores com reações alérgicas ao peixe incluindo 2,6% deles com rinoconjuntivite e 1,8% com asma. Na indústria do salmão em exposições superiores a 75ng/m³ de *Sal s I*, 50% dos trabalhadores desenvolveram sintomas respiratórios após iniciarem as atividades laborais.

Os alergénios implicados na via inalatória ainda não estão completamente identificados mas incluem formas monoméricas e oligoméricas da parvalbumina, com menor peso molecular tornando possível a sua aerossolização, a gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, a tropomiosina e proteínas do *Anisakis*. [6,30]

Já a nível percutâneo os alergénios mais frequentes são a parvalbumina e o colagénio. Não obstante, um caso clínico publicado em 2017 lançou pela primeira vez a suspeita de uma sensibilização a alfa-actinina-3 num trabalhador da restauração que manuseava congro, deixando em aberto a identificação de novos alergénios. A atopia e a integridade da barreira cutânea são fatores com impacto na sensibilização. As localizações preferenciais resultantes de urticária de contacto a proteínas e dermatite são as mãos, pulsos, braços e a face. [30,46]

Reações não mediadas por IgE e diagnóstico diferencial

Para além das reações alérgicas, existem muitas outras reações adversas ao consumo de peixe mediadas por mecanismos não imunológicos. Podem ser desencadeadas por compostos intrínsecos do peixe ou ainda por contaminantes, bactérias, parasitas, vírus, toxinas marinhas ou aminas biogénicas. Todos estes quadros clínicos podem ser potencialmente candidatos ao diagnóstico diferencial com alergia a peixe.

Entre eles destaca-se a intoxicação escombróide, também conhecida como intoxicação histaminérgica, que é a causa mais comum de intoxicação alimentar relacionada com a má conservação do peixe. Fisiopatologicamente é um processo inerente à ação de bactérias entéricas como a *Escherichia coli*, *Proteus morganii*, *Morganella morganii* e *Proteus vulgaris* no músculo de peixe mal conservado, produzindo elevados níveis de histamina pela quebra do aminoácido histidina. Consequentemente, os peixes com maior produção de histamina serão também aqueles com maior concentração de histidina e histidina descarboxilase. Esta concentração varia entre 1g/kg no arenque até 15g/kg no atum. Apesar de o processo ocorrer sob ambiente de má conservação, todos os seus componentes desde microorganismos a enzimas fazem parte da flora natural do peixe. As espécies mais implicadas neste quadro clínico pertencem às famílias que incluem o atum, cavala, bonito, verdinho, sardinha e anchova. No caso do atum, a intoxicação pode mesmo acontecer após o consumo de enlatados. Clinicamente provoca cefaleias, sensação de ardor oral e na orofaringe, náusea e sintomas neurológicos. Menos frequentemente: eritema difuso na face, pescoço e zona superior do tórax, vômitos, diarreia, cólica abdominal, arritmias, hipotensão, broncoespasmo e colapso cardiovascular. Os sintomas iniciam-se minutos após a ingestão e duram aproximadamente 8 a 12 horas. Deve suspeitar-se perante a história clínica de vários indivíduos afetados após terem consumido a mesma refeição. Por outro lado, os peixes mais implicados nesta patologia são no caso da alergia ao peixe os menos prováveis de desencadear reações IgE específicas. O diagnóstico é geralmente efetuado pela história clínica dispensando-se exames complementares de diagnóstico. A quantificação de níveis séricos de histamina, se efetuada, deve ser realizada nas 4 horas subsequentes à ingestão. A intoxicação não é uma patologia crónica, considerando-se perfeitamente seguro a ingestão de peixe da espécie provocadora após a resolução do quadro clínico. O tratamento é de suporte uma vez que a intoxicação escombróide é autolimitada e responde muito bem a corticosteróides,

carvão ativado e bloqueadores da histamina. A forma de prevenção mais eficaz é o acondicionamento do peixe imediatamente após a captura em sistemas de arrefecimento adequados. [47-50]

A anisakiasis é uma doença infecciosa causada pelo parasita *Anisakis* que invade a mucosa gastrointestinal após a ingestão de peixe mal cozinhado. A incidência tem vindo a aumentar nos países ocidentais pelo aumento do consumo de cozinha asiática. O quadro clínico caracteriza-se essencialmente por vómitos, diarreia e epigastralgias. O diagnóstico baseia-se na recolha de uma história clínica completa com pesquisa de refeições recentes de peixe mal cozinhado e do tempo intercorrido entre a ingestão e o início dos sintomas. A confirmação pode ser feita através da visualização direta da larva por endoscopia ou colonoscopia. Os exames laboratoriais mais sugestivos incluem leucocitose, moderada eosinofilia e evidências de desgranulação mastocitária. Não obstante, todos estes achados podem também ser encontrados na alergia a proteínas do *Anisakis* e só distinguíveis pela semiologia e exames complementares de diagnóstico mais específicos. [45]

A intoxicação com metais pesados presentes no tecido muscular pode ainda concorrer a diagnóstico diferencial da alergia a peixe apesar de se tratar na maioria dos casos de situações clínicas com uma diátese temporal superior e sintomas progressivos. Os metais mais frequentemente implicados são o chumbo, o mercúrio, o cádmio e o crómio. Este último tem especial relevância por poder causar dermatites irritativas e de contacto mas também hiperreatividade brônquica e asma. O mercúrio foi associado ao desenvolvimento de alterações encefálicas, mais graves em crianças, devido à capacidade de penetrar na barreira hemato-encefálica e aí se acumular provocando hiperreflexia, surdez, cegueira e paralisia cerebral. Após serem estudadas 149 crianças de Câmara de Lobos (Região Autónoma da Madeira) entre os 6,4 e os 7,4 anos verificou-se que a elevada concentração de mercúrio por

exposição através da ingestão de peixe-espada estava associada a defeitos neurofisiológicos aferidos por exames de potenciais evocados auditivos e visuais. [51,52,53]

Transversalmente o diagnóstico diferencial faz-se entre reações alérgicas a peixe ou outro alimento, doenças metabólicas na idade infantil, reações de intoxicação que incluem a intoxicação escombróide, efeitos químicos como a rinite gustativa, síndrome auriculotemporal, reações farmacológicas a cafeína e álcool no adulto, síndromes infecciosas como a anisakiasis e reações idiossincráticas. [6]

Meios Complementares de Diagnóstico

O diagnóstico da alergia a peixe é complexo e por vezes moroso com um diagnóstico diferencial feito com uma multiplicidade de entidades nosológicas desde gastroenterites, intoxicações alimentares e alergias a diferentes alimentos. Inicialmente uma história clínica extremamente completa e com o registo de todos os alimentos ingeridos é devesas importante. Aqui também se inclui a exposição ambiental e fatores desencadeantes.

Os exames complementares de diagnóstico que podem ser equacionados para esclarecimento da etiologia específica deste quadro clínico dividem-se em dois tipos de ensaio: *in vivo* e *in vitro*. Os exames *in vivo* incluem os testes cutâneos por *Prick* e os testes *prick-prick*. Os *SPT* são frequentemente utilizados numa primeira abordagem por serem rápidos, seguros e baratos. No entanto, o seu valor preditivo positivo é de apenas 50% e nem sempre se dispõem de extratos comerciais para todos os peixes implicados. De forma a analisar uma possível melhoria na especificidade e sensibilidade do teste, comparou-se o *SPT* com parvalbuminas naturais e recombinantes de salmão, bacalhau e escamudo em 10 doentes. Apenas um dos dez doentes reconheceu a forma recombinante em contraste com as naturais que foram reconhecidas por nove dos dez doentes. Estes resultados fazem equacionar a possibilidade de grande número de falsos negativos pelo uso de proteínas recombinantes nos

SPT. Por outro lado, é frequente existirem sensibilizações cruzadas clinicamente irrelevantes dando origem a falsos positivos. Um estudo em 2016 que comparou o *SPT* com testes de *radioimunoensaio* em vários tipos de alergias alimentares verificou que o alimento com mais sensibilidade nos *SPT* era o peixe comparativamente a leite, amendoim e ovo. [2,6,30,33]

A falta de preparações comerciais de algumas espécies para teste pode ser contornada com *SPPT* utilizando amostras naturais de peixe. O *SPPT* é tão eficaz quanto o *SPT* embora não tão seguro devido ao facto de não ser estandardizado. Não obstante, foi apenas registado um caso de anafilaxia a peixe após a sua execução. [54]

Relativamente ao espectro de testes *in vitro*, estes permitem uma boa avaliação da sensibilização a uma determinada espécie pela demonstração da presença de anticorpos IgE específicos. No entanto, a sensibilização pode não ser clinicamente relevante. Para algumas espécies, a correlação entre nível de IgE e apresentação clínica pode apresentar um valor preditivo positivo superior a 95%. Exemplo disso é o bacalhau, cujos níveis de IgE superiores a 20kU/L podem prever reatividade clínica com uma confiança superior a 95%. Não obstante, foram detectados níveis de 1kU/l de IgE em doentes com reações anafiláticas a anchovas e sardinha deixando em aberto a relevância da quantificação de IgE no contexto da prática clínica.

A nível comercial estão disponíveis o *ImmunoCAP* e o *immunoblotting* para identificação e quantificação de IgE específicas. O *ImmunoCAP* oferece uma gama de 27 alergénios de diferentes espécies de peixe e ainda dois alergénios recombinantes para carpa e bacalhau. Apesar de oferecer um estudo bastante vasto, as amostras contêm diferentes concentrações de parvalbumina induzindo algum viés nos resultados. Kuehn *et al* analisou 7 amostras de reagentes de *ImmunoCAP* e verificou uma concentração de parvalbumina dez vezes inferior no atum relativamente ao bacalhau ponderando-se então uma discrepância na sensibilidade do teste entre as várias espécies a analisar.

O *gold standard* para diagnóstico de alergia a peixe continua a ser a prova de provocação oral num ensaio duplo cego e controlado por placebo. Apesar de altamente sensível e específico requer alguma ponderação a nível de riscos e custos imputados ao procedimento em ambiente hospitalar. A importância destes estudos foi verificada numa *coorte* com 105 doentes com história clínica de alergia a várias espécies de peixe submetidos a SPT, quantificação de IgE específica por *Western Blot* e provocação oral duplo cego, controlada por placebo. Dos 7 doentes positivos para os dois primeiros exames diagnósticos, apenas 1 reagiu nos testes de provocação oral demonstrando que muitos doentes estavam a fazer evicção alimentar sem necessidade. A perspetiva de Niggemann e Beyer sobre alergia alimentar pode ser extrapolada para a alergia a peixe num algoritmo sobre a decisão ou não de executar um teste de provocação oral. A árvore de decisão proposta por este grupo de trabalho sugere que após a colheita da história clínica se deve realizar um SPT ou a quantificação de IgE específica. Se negativas e forte suspeita clínica procede-se a prova de provocação oral. Se positivas deve-se avaliar se quantitativamente os resultados se encontram acima do valor base esperado para uma confiança de 95%, se superiores procede-se para terapêutica, se inferiores executa-se a prova de provocação oral. [3,6,30,33,55]

A alergia a parvalbuminas é comum durante a infância e em alguns casos transitória, com perda de reatividade nos anos subsequentes e desenvolvimento de tolerância após exposição. Os *SPPT* e a quantificação de IgE específica, para além de serem preciosos auxiliares diagnósticos, demonstraram a sua efetividade como marcadores de prognóstico na aquisição de tolerância a peixe em doentes sensibilizados a *Gad c 1*. Por outro lado, também a IgE específica a proteínas recombinantes de *Gad c 1* demonstrou ser um bom marcador prognóstico com impacto significativo na decisão de expor ou não os doentes a provas de provocação oral. [56,57]

Tratamento

A aplicação de estratégias terapêuticas em indivíduos diagnosticados com alergia a peixe deve ter em conta vários fatores nomeadamente a idade do doente, a entidade molecular envolvida, o mecanismo subjacente e a reatividade cruzada com significado clínico. Este último é especialmente problemático uma vez que a quantificação de IgE específica e os *SPT* nem sempre são preditivos de sensibilização cruzada *in vivo* ou de correlação e tradução clínica. Não é incomum a impossibilidade de identificação exata da espécie de peixe causadora do quadro clínico e das espécies filogenética e molecularmente similares que poderão provocar reação por sensibilidade cruzada. Não obstante, resultados positivos nos meios complementares de diagnóstico supracitados podem não se traduzir no contexto clínico induzindo em erro a identificação do alergénio envolvido nas manifestações apresentadas pelo doente.

O tratamento da alergia a peixe continua a ser em primeiro lugar a evicção dos alimentos desencadeantes de reação. Esta evicção deve ser recomendada apenas para as espécies implicadas e não alargada a todas as outras. A recomendação deve ser realizada por um imunoalergologista baseando-se na história clínica e resultados dos exames complementares de diagnóstico. É de maior importância uma restrição adequada dos alimentos especialmente nas crianças, de forma a manter a qualidade de vida e evitar o excesso de cuidados desnecessários.

A evicção alimentar é apenas possível com sucesso se forem identificadas todas as fontes possíveis de alergénio. Os métodos de pesquisa da presença de alergénios a nível industrial em amostras de alimentos dividem-se em dois grupos: baseados em proteínas e baseados em ADN. Os primeiros são extensamente utilizados na indústria alimentar por serem muito económicos, rápidos e não necessitarem de preparação extensa. Incluem *lateral flow devices*, plataformas MS e os testes *ELISA*, de longe os mais utilizados. Estes últimos

permitem a detecção e quantificação das proteínas alergénicas estando atualmente disponíveis em dois *kits* comerciais. A possibilidade de reação cruzada imunológica através deste método existe e é mais habitual para espécies como o bacalhau, arnica e cavala. Os métodos baseados em ADN incluem a *PCR* e biossensores. A *PCR* é utilizada como método de confirmação dos resultados de outros testes e identifica sequências codificantes de proteínas alergénicas ou marcadores específicos de determinada espécie. Existe apenas um *kit* disponível comercialmente. Os biossensores são o futuro da indústria permitindo análises múltiplas de forma rápida e acessível. Em 2004 desenvolveu-se um *imunossensor* baseado em anticorpos monoclonais para detecção de parvalbuminas de atum e carpa em alimentos processados. Não obstante, os avanços nesta técnica são ainda muito escassos e mais estudos deverão ser efetuados de forma a rentabilizar o processo. [6,30]

Perante um caso de exposição accidental preconiza-se terapêutica de suporte nomeadamente em alguns casos de anafilaxia devendo o tratamento seguir as recomendações nacionais disponíveis sob a forma de duas Normas de Orientação Clínica – uma sobre a abordagem clínica e outra sobre Registo e Encaminhamento – disponibilizadas pela Direção Geral de Saúde. [58,59]

O conhecimento molecular mais aprofundado dos alergénios está a permitir desenvolver novas terapias. Exemplo disso é a imunoterapia tendo sido já dados vários passos nesse sentido. Um dos alvos são as proteínas ligantes de cálcio - parvalbuminas - através de modificações de ligação molecular. A dessensibilização foi já equacionada em alguns casos clínicos pontuais como num doente em idade pediátrica submetida a dessensibilização com parvalbuminas de pescada. Em Junho de 2017 foi publicado um ensaio em que modelos animais reduziram os sintomas alérgicos a peixe após injeção subcutânea com formas hipoalergénicas de parvalbumina *Cyp c 1* colocando em aberto a hipótese da criação de uma

vacina com este extracto para doentes. No entanto, estudos incluindo mais doentes terão que ser conduzidos para provar a sua eficácia em contexto clínico. [60,61]

O seguimento dos doentes alérgicos a peixe deve ser determinado pelo médico especialista tendo em conta as necessidades e a realidade de cada indivíduo. É ainda necessário uma atenção especial à alergia a peixe uma vez que à semelhança da alergia ao amendoim, nozes e marisco, esta tem tendência a manter-se ao longo da vida não sendo possível na maioria dos casos suspender os cuidados de forma definitiva. [30]

A instituição de medidas de prevenção e diminuição de risco de incidência não é ainda possível uma vez que não se conhecem factores protectores nem se delimitaram todos os critérios que definem uma população em risco. *Coortes* de crianças escandinavas demonstraram uma menor incidência de alergia a peixe no grupo de crianças que começaram a ingestão mais cedo durante a infância. Também em investigações retrospectivas em grávidas não alérgicas a peixe e que o incluíram na sua dieta durante a gestação verificou-se que a maioria das crianças nascidas nesta coorte aos 5 anos apresentavam maior probabilidade de *SPT* negativos a parvalbuminas face ao grupo de crianças nascidas das grávidas que não tinham consumido peixe durante a gestação. [62]

Discussão

A alergia a peixe é uma entidade nosológica específica que carece de ainda mais conhecimento científico a nível de fisiopatologia e mecanismo molecular de forma a desenvolver uma melhor resposta de diagnóstico e terapêutica.

Os resultados obtidos nos estudos de incidência devem ser analisados de forma crítica de acordo com o método utilizado para aferir a população doente. Os estudos por inquéritos permitem obter elevado número de amostras a um custo reduzido mas têm um viés elevado já que assumem diagnóstico por auto percepção de sintomas sem haver confirmação através de uma história clínica completa e exames complementares de diagnóstico. Por outro lado, os resultados aferidos através de *SPT*, pesquisa de IgE específica e prova de provocação oral utilizam amostras populacionais de pequenas dimensões e não randomizadas introduzindo um viés de seleção nos resultados que não deve ser desprezado.

A investigação sobre o mecanismo subjacente à alergia ao peixe é essencial. Os avanços no reconhecimento de fatores protetores e predisponentes são a chave para prevenir a patologia e reduzir a sua gravidade. Também o desenvolvimento de marcadores preditivos para diagnóstico, terapêutica e monitorização permitirão o estabelecimento de um tratamento protocolado ótimo e ajustado às necessidades individuais do doente.

É inevitável aferir o balanço entre o mecanismo de tolerância oral e a sensibilização a um alimento. Uma das hipóteses é que a exposição ambiental a alergénios através de contacto cutâneo pode desencadear alergia enquanto o seu consumo durante um período de desenvolvimento do sistema imunitário pode desenvolver os mecanismos de tolerância. As substâncias mais alergénicas são muito ricas em substâncias comprovadamente tolerogénicas tendo sido então abolida a recomendação de adiar a introdução de peixe na dieta de forma a aproveitar a janela de tolerância imunológica que ocorre entre os 4 e os 6 meses de vida.

O diagnóstico diferencial permanece ainda como uma das questões mais ambíguas da alergia ao peixe. A diversidade de entidades nosológicas e a clínica tão facilmente sobreponível entre elas torna este processo difícil mesmo para os clínicos mais experientes. Devido a esta similaridade é de extrema importância compreender os mecanismos subjacentes e a sua natureza molecular. O diagnóstico da alergia a peixe baseia-se em três passos: história clínica, confirmação da sensibilização mediada pela IgE através de testes cutâneos e/ou quantificação de IgE específica e, em alguns casos, prova de provocação oral.

Existem alguns dados da história clínica que podem intuir para a diferenciação entre alergia alimentar mediada por IgE e reações não mediadas por IgE. A primeira é imediata com apresentação clínica em menos de duas horas após ingestão, ao contrário das reações não mediadas por IgE que exibem uma diátese temporal mais longa. A presença de comorbidades como asma, rinite alérgica ou dermatite atópica é casuisticamente mais comum nos indivíduos com alergia alimentar. Por outro lado, o achado de dermatite herpetiforme e atraso de crescimento pode fazer suspeitar de uma condição autoimune subjacente e não de uma reação mediada por IgE.

Perante uma suspeita forte de alergia alimentar mediada por IgE é de extrema importância a averiguação do alimento causador, a quantidade ingerida, a preparação e a frequência dos sintomas associados com a ingestão de cada alimento suspeito. Isto é, alimentos ingeridos múltiplas vezes sem associação a sintomas e sinais alérgicos não são os candidatos mais prováveis a alimento causador. No entanto, a quantidade ingerida e a preparação podem modificar os níveis críticos de resposta alérgica. Em alguns casos, a identificação exata da espécie de peixe consumida não é possível e isso traduz-se na incapacidade de determinar o alergénio responsável.

A forte suspeita clínica de uma alergia a peixe deve ter em conta a multiplicidade de proteínas alergénicas possivelmente implicadas que incluem parvalbuminas, enolases, aldolases, colagénios, tropomiosinas e muitas outras ainda não classificadas.

As parvalbuminas são até à data o alérgeno do peixe mais extensamente estudado.

A alergia a parvalbuminas tem algumas especificidades. Em primeiro lugar, parvalbuminas de espécies distintas podem diferir no seu potencial alergénico devido às condições de exposição do doente, entre elas os hábitos alimentares e a idade de início do quadro clínico. Em segundo lugar, a alergia a isoformas presentes na mesma espécie é também variável. Isto acontece porque a mesma espécie contém vários tipos de parvalbuminas que diferem na sua sequência de aminoácidos determinando micro heterogeneidade suficiente para provocar essa reação diferencial entre elas.

Doentes que produzem IgE específica para um subtipo de parvalbumina reagem com alguma frequência a parvalbuminas de outras espécies colocando estas proteínas na lista de alergénios que provocam reatividade cruzada. Não obstante, a monossensibilidade não é rara preconizando-se mais comum para algumas famílias de peixe como os salmonóides. É frequente que indivíduos sensibilizados a estas espécies reajam apenas a peixes relacionados filogeneticamente de forma direta. A alergia a peixes tropicais é mais comum para alergénios que não a parvalbumina.

Determinar a verdadeira sensibilização cruzada entre espécies é uma questão problemática. É importante salientar que a reatividade imunológica em testes *SPT* a alergénios recombinantes não é necessariamente idêntica à dos alergénios naturais. Na verdade verificou-se reatividade inferior para a maioria dos alergénios recombinantes estudados. Por outro lado, a reação cruzada nos *SPT* não é sempre preditiva de sensibilização *in vivo* e manifestações alérgicas clínicas podendo o doente reagir apenas por homologia no *site* de ligação.

A quantificação de IgE específica é uma importante ferramenta de diagnóstico. Apesar de muito útil a aferir a sensibilização a determinada molécula não pode ser a título individual indicativo de alergia clínica. Apesar de o *ImmunoCAP* conter a maioria dos alérgenos implicados na alergia a peixe, as variações na concentração de parvalbuminas necessárias para provocar reação *in vivo* não são tidas em conta. Não obstante, os ensaios qualitativos, apesar de bons indicadores de sensibilização, não se correlacionam de forma inequívoca com reatividade clínica.

Os alimentos selecionados para serem testados devem ser escolhidos por método hipotético dedutivo através da história clínica e fatores epidemiológicos. Quanto maior o espectro de alimentos e/ou espécies abrangidas no *screening* sem evidência médica, maior é a probabilidade de obtenção de falsos positivos resultando na evicção alimentar desnecessária. A descoberta dos níveis mínimos preditivos para diagnóstico de alergia a peixe deve ser encarada de forma crítica e ponderada. Ou seja, estes *cutoffs* podem orientar o diagnóstico através da sua confirmação (na presença de mais dados favoráveis) ou da ponderação da utilização de uma prova de provocação oral. Não deve ser excluída completamente a possibilidade de alergia alimentar se história clínica compatível e *SPT* positivo, quando a quantificação de IgE específica é inferior ao limite esperado. Geralmente níveis mais elevados de IgE estão associados a maior reatividade clínica mas o valor preditivo desta quantificação varia com a população em causa, idade do doente, comorbilidades e data da última exposição ao alérgeno. O teste de IgE específica é especialmente importante em casos de história clínica muito sugestiva num doente com *SPT* negativo e ainda em situações que impossibilitam a realização de *SPT* como a terapêutica com anti-histamínicos não passível de suspensão, doença dermatológica moderada a grave ou dermatografismo.

Conclusão

A alergia a peixe tem um impacto muito significativo na vida dos doentes uma vez que se traduz numa patologia crónica que implica um grande ajuste dos hábitos diários e da dinâmica familiar.

A prevalência deste tipo de alergia alimentar difere a nível geográfico e entre estratos etários. As diferenças podem ser explicadas por hábitos culturais como a quantidade de peixe consumida *per capita*, a idade da sua introdução na dieta, as espécies mais pescadas e consumidas e também os métodos de confeção e processamento.

À luz do conhecimento atual, o alergénio mais comum e responsável pela maioria das reações a peixe é a parvalbumina. Embora esteja presente em todos os peixes sofre variações no espectro de sequência de aminoácidos fazendo com que a reatividade cruzada entre diferentes espécies seja determinada pela homologia da estrutura primária e pela quantidade de isoformas presentes. Por outro lado, a quantidade bruta de parvalbumina existente por quilograma de músculo sofre variações entre espécies influenciando o grau de sensibilização no indivíduo. Esta última é ainda afetada por fatores físicos e químicos nomeadamente o aquecimento através da cozedura que aumenta a capacidade alergizante da parvalbumina e o processamento industrial que tendencialmente o diminui.

Apesar de a parvalbumina ser o alergénio mais reconhecível, outras famílias moleculares foram já identificadas como as tropomiosinas, os colagénios, as enolases e as aldolases.

O diagnóstico e orientação estão condicionados pela falta de conhecimento da natureza molecular dos alergénios, da inúmera variedade de espécies consumidas e da falta de um exame complementar de diagnóstico com boa sensibilidade e especificidade que possa ser aplicado globalmente. Na prática clínica recorre-se a *SPT* e a *SPPT* na ausência de testes comerciais disponíveis para a espécie em estudo. A utilização de testes *in vitro* permite por

sua vez a quantificação de IgE específica. Estes exames complementares apresentam limitações nomeadamente reações positivas a espécies que não as sensibilizadoras clinicamente por homologia dos estratos nos *SPT*, ou a negatividade dos mesmos por falta de reconhecimento dos antigénios recombinantes. A quantificação de IgE pode detetar níveis de anticorpos circulantes que não têm tradução clínica. Uma vez que a reatividade cruzada imunológica nem sempre é sobreponível à reatividade cruzada clínica, o aconselhamento da evicção alimentar aos doentes pode tornar-se problemático e em alguns casos exigir dietas mais restritas do que o necessário.

A imunoterapia poderá ser uma possibilidade no futuro recorrendo a formas de parvalbuminas hipoalergénicas para criação de uma vacina para a alergia a peixe.

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Celso Pereira, pelo profissionalismo, disponibilidade e sentido pedagógico e humano com que me auxiliou durante a jornada.

À Dra. Isabel Carrapatoso pelo dinamismo, prontidão, amabilidade e empenho que demonstrou em todos os momentos deste processo.

Aos meus pais pelo apoio, carinho e por vezes sacrifício com que acompanham todos os meus desafios pessoais e profissionais.

Ao Francisco Ribeiro pela ajuda inestimável em dominar as novas tecnologias no processo inicial do trabalho e à Sandra Ribeiro pela paciência com que me ensinou e ajudou a torná-lo profissional e visualmente apelativo.

À família e aos amigos que direta ou indiretamente deram o seu contributo para a superação de mais uma etapa.

A todos o meu obrigada.

Referências bibliográficas

1. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine; Health and Medicine Division; Food and Nutrition Board; Committee on Food Allergies: Global Burden, Causes, Treatment, Prevention, and Public Policy. Finding a Path to Safety in Food Allergy. Washington (DC): National Academies Press (US): Oria MP, Stallings VA; 2016; 19-96.
2. Sathe S, Liu C, Zaffran V. Food Allergy. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2016; 7:191-220.
3. Sampson H, Aceves S, Boch A, *et al*. Food Allergy: a practice parameter update. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 5(134):1016-25.
4. Gupta R, Heldford D, Bilaver L, Dyer A, Holl J, Meltzer D. The economic impact of childhood food Allergy in the United States. *JAMA Pediatrics*. 2013;167(11):1026-31.
5. Etherton P, Harris W, Appel L. Fish consumption, fish oil, omega 3 fatty acids and cardiovascular disease. *Circulation*. 2002;106(21):2747-57.
6. Sharp M, Lopata A. Fish Allergy: in review. *Clin Rev Allergy and Immunol*. 2014;46(3):258-71.
7. Kuehn A, Swoboda I, Arumugam K, Hildefonso C, Hentges F. Fish allergens at a glance: variable allergenicity of parvalbumins, the major fish allergens. *Front Immunol*. 2014; 179:1-8.
8. Nwaru B, Hickstein L, Panesar S, *et al*. The epidemiology of food Allergy in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014; 69:62-75.
9. Moonesinghe H, Mackenzie H, Venter C, *te al*. Prevalence of fish and shellfish allergy: a sistematic review. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016; 117:264-72.
10. Ali F. A survey of self-reported food allergy and food related anaphylaxis among young adult students at Kuwait University, Kuwait. *Med Princ Pract*. 2017; 26:229-34.

11. Kuehn A, Hilger C, Hentges F. Anaphylaxis provoked by ingestion of marshmallows containing fish gelatin. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 123(3):708-9.
12. Berin M. Pathogenesis of IgE-mediated food Allergy. *Clin Exp Allergy.* 2015; 45:1483-96.
13. James J, Crespo J. Allergic reactions to food by inhalation. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2007; 3(7):167-74.
14. Lopata A, Jeebhay M. Airborne Seafood Allergens as a case of occupational allergy and asthma. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013; 13(3): 288-97.
15. Leonardi S, Pecoraro R, Filipelli M, *et al.* Allergic reactions to foods by inhalation in children. *Allergy Asthma Proc.* 2014; 4(35):288-94.
16. Fujimoto W, Fukuda M, Yokooji T, Yamamoto T, Tanaka A, Matsuo A. Anaphylaxis provoked by ingestion of hydrolysis fish collagen probably induces by epicutaneous sensitization. *Allergol Int.* 2016; 4(65):474-6.
17. Sano A, Yagami A, Suzuki K, *et al.* Two cases of occupational contact urticaria caused by percutaneous sensitization to parvalbumin. *Case Rep Dermatol.* 2015; 7(2):227-32.
18. Fontenelle G, Knoff M, Verícimo M, São Clemente S. Epicutaneous sensitization with nematode antigens of fish parasites results in the production of specific IgG and IgE. *J Helminthol.* 2017; 7:1-7.
19. Machado D, Pereira C, Loureiro G, Calado G, Tavares B, Chieira C. Non IgE Mediated Fish Allergy, Clinical Report. Abstract Book – XXI World Allergy Congress. 2009; 233.
20. Jeebhay M, Robins T, Lehrer S, Lopata A. Occupational seafood allergy: a review. *Occup Environ Med.* 2001; 58(9):553-62.
21. Sichrer S, Sampson H. Food Allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 2(125):116-25.
22. Sugita K, Kabashima K, Nakashima D, Tokura Y. Oral allergy syndrome caused by raw fish in a Japanese sushi bar worker. *Contact Dermatitis.* 2007; 56:369-70.

23. Pellegrino K, Du L, Artesani M, *et al.* Severe reaction in a child with asymptomatic codfish allergy: food challenge reactivating pancreatitis. *Ital J Pediatr.* 2012; 38:16.
24. Pitsios C, Dimitriou A, Stefanaki E, Kontou-Fili K. Anaphylaxis during skin testing with food allergens in children. *Eur J Pediatr.* 2010; 169:613-5.
25. Pascual C, Reche M, Fiandor A, Valbuena T, Cuevas T, Esteban M. Fish allergy in childhood. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016; 19:573-9.
26. Onesimo R, Giorgio V, Pill S, Monaco S, Sopo S. Isolated contact urticaria caused by immunoglobulin E-mediated fish allergy. *Isr Med Association Journal.* 2012; 14:11-3.
27. Seitz C, Brocker E, Trautmann A. Occupational allergy due to seafood delivery: case report. *J Occup Med Toxicol.* 2008; 3:11.
28. Bajraktarevic A, Alendar F, Landzo E, *et al.* Allergy manifestations to fish in younger children. *Clin and Transl Allergy.* 2015; 5(suppl3):163.
29. Stravoulakis G, Giavi S, Douladiris N, Manousakis M, Papadopoulos N. Fish allergy – natural history and cross reactivity between fish species. *Clin and Transl Allergy.* 2011; 1(suppl1):26.
30. Stephen J, Sharp M, Rvethers T, Taki A, Campbell D, Lopata A. Allergenicity of bony and cartilaginous fish – molecular and immunological properties. *Clin Exp Allergy.* 2017; 47:300-12.
31. Hilger C, Thill L, Grigioni F, *et al.* IgE antibodies of fish allergic patients cross react with frog parvalbumin. *Allergy.* 2004; 59(6):653-60.
32. Kuehn A, Codreanu-Morel F, Lehnert Weber C, *et al.* Cross reactivity to fish and chicken meat – a new clinical syndrome. *Allergy.* 2016; 71(12):1772-81.
33. Fernandes T, Costa J, Carrapatoso I, Oliveira M, Mafra I. Advances on molecular characterization, clinical relevance and detection methods of gadiform parvalbumin allergens. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017; 57(15):3281-96.

34. Untersmayr E, Szalai K, Reimer A. Mimotopes identify conformational epitopes on parvalbumin, the major fish allergen. *Moll Immunol.* 2016; 43:1454-61.
35. Kuehn A, Scheuermann T, Hilger C, Hentges F. Important variations in parvalbumin content in common fish species: a factor possibly contributing to variable allergenicity. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010; 153:359-66.
36. Sorensen M, Kuehn A, Mills E, *et al.* Cross reactivity in fish allergy: a double blind placebo controlled food challenge trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2017.
37. Raith M, Klug C, Sesztak-Greinecker G, *et al.* Unusual sensitization to parvalbumins from certain fish species. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2014; 113:571-8.
38. Schulkes K, Klemans R, Knigge L, *et al.* Specific IgE to fish extracts does not predict allergy to specific species within an adult fish allergic population. *Clin Transl Allergy.* 2014;4:27.
39. Mohammadi M, Falak R, Mokhtarian K, Khoramizadeh M, Sadroddiny E, Karlsruhe G. Identification and characterization of main allergic proteins in cooked wolf herring fish. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2016; 15(5): 363-71.
40. Kuehn A, Hilger C, Lehnert-Weber C, *et al.* Identification of enolases and aldolases as important fish allergens in cod, salmon and tuna: component resolved diagnosis using parvalbumin and the new allergens. *Clin Exp Allergy.* 2013; 43:811-22.
41. Kobayashi Y, Akiyama H, Hüge J, *et al.* Fish collagen is an important panallergen in the Japanese. *Allergy.* 2016; 71(5):720-3.
42. Moneo I, Sangiao N, Muñoz M. New perspectives on the diagnosis of allergy to *Anisakis* spp. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2017; 27-27.
43. Tripodis S, Pingitore G, Calvani M, *et al.* Sensitivity in Italian children: a prospective study. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 2017; 27(2):142-3.

44. Armentia A, Santos J, Serrano Z, *et al.* Molecular diagnosis of allergy to *Anisakis simplex* and *Gymnorhynchus gigas* fish parasites. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2017; 1-10.
45. Mehrdana F, Buchmann K. Excretory/secretory products of Anisakid nematodes: biological and pathological roles. *Acta Vet Scand.* 2017; 59:42.
46. Shimojo N, Yagami A, Nakamura M, Nagai A, Matsunaga K. Occupational fish allergy caused by percutaneous sensitization with Alfa actinin 3. *Contact Dermatitis.* 2017; 76:322-3.
47. Hungerford JM. Scombroid Poisoning: a review. *Toxicon.* 2010; 56(2):231-43.
48. Lehane L, Olley J. Histamine fish poisoning revisited. *Int J Food Microbiol.* 2000; 58(1-2):1-37.
49. Colombo FM, Cattaneo P, Confalonieri E, Bernardi C. Histamine food poisonings: a sistemática review and meta analysis. *Crit Ver Food Sci Nutr.* 2016; 28:1-21.
50. Ridolo E, Martignago I, Senna G, Ricci G. Scombroid syndrome: it seems to be fish allergy but... it isn't. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2016; 16(5):516-21.
51. Adel M, Conti G, Dadav M, Mahjoub M, Copat C, Ferrante M. Heavy metal concentrations in edible muscle of whitecheek shark, *carchahinus dussumieri* from the Persian Gulf: a food safety issue. *Food Chem Toxicol.* 2016;97:135-40.
52. Leung H, Leung A, Wang H, *et al.* Assessment of heavy metals/metal Lodi concentrations in edible fish species tissue in the Pearl River Delta, China. *Mar Pollut Bull.* 2014; 78(1-2):235-45.
53. Counter A, Buchanan L. Mercury exposure in children: a review. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2004; 198(2):209-230.
54. Harktanir M, Orhan F. Anaphylaxis after prick to prick test with fish. *Pediatr Int.* 2016; 58(6):503-5.

55. Niggermann B, Beyer K. Diagnosis of food allergy in children: toward a standardization of food challenge. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007;4(45):399-404.
56. Carvalho S, Marcelino J, Cabral Duarte F, Costa AC, Pereira Santos MC, Pereira Barbosa M. Alergia ao peixe: contribuição da parvalbumina Gad c 1 no diagnóstico e prognóstico. *Rev Port Imunoalergologia.* 2017; 25(3): 180.
57. Marcelino J, Carvalho S, Costa AC, Duarte FC, Santos MC, Pereira Barbosa M. Contributo da parvalbumina recombinante rGad c 1 como marcador de aquisição de tolerância na alergia ao peixe. *Rev Port Imunoalergologia.* 2017; 25(3): 179.
58. Norma da Direção – Geral de Saúde, Anafilaxia: Abordagem clínica. Norma de Orientação Clínica nº 014/2012 de 16/12/2012.
59. Norma da Direção – Geral de Saúde, Anafilaxia: Registo e Encaminhamento. Norma de Orientação Clínica nº 004/2012 de 18/12/2012.
60. D'Amelio C, Gastaminza G, Vega O, *et al.* Induction of tolerance to different types of fish through desensitization with hake. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016; 28:93-106.
61. Freidl R, Gstoettner A, Baranyi U, *et al.* Blocking antibodies induced with immunization with a hypoallergenic parvalbumin mutant reduce allergic symptoms in a mouse model of fish allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2017; 139(6):1897-905.
62. Mermiri D, Lappa T, Papadopoulo A. Review suggests that the immunoregulatory and anti inflammatory properties of allergenic foods can provoke oral tolerance if introduced early to infants diets. *Foundation Acta Paediatr.* 2017; 106:721-6.
63. Johnston L, Chien K, Bryce P. The immunology of food allergy. *J Immunol.* 2014; 192(6): 2529–2534.
64. Bublin M, Kostainova M, Fuchs J, *et al.* A Cross-Reactive Human Single Chain Antibody for Detection of Major Fish Allergens, Parvalbumins, and Identification of a Major IgE-Binding Epitope. *PLoS One.* 2015; 10(11).