REVISTA PORTUGUESA DE

IMUNOALERGOLOGIA

2021 OUTUBRO/DEZEMBRO • VOLUME XXIX • NÚMERO 4

ÓRGÃO OFICIAL

SPAIC

SOCIEDADE PORTUGUESA DE ALERGOLOGIA E IMUNOLOGIA CLÍNICA

EDITORIAL

Fast forward no diagnóstico para uma medicina de precisão
Diana Silva

ARTIGOS ORIGINAIS

IgE e IgG específicas para antigénios do *Aspergillus fumigatus* no diagnóstico da aspergilose broncopulmonar alérgica
Specific IgE and IgG to Aspergillus fumigatus *antigens in the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis*
Marília Beltrão, Ana Reis Ferreira, Ana Maria Pereira, Oksana Sokhatska, Adelina Amorim, Luís Delgado

Síndrome LTP: Caracterização do perfil clínico e molecular de sensibilização – Método ALEX® MacroArray
LTP syndrome: Characterization of the clinical and molecular sensitization profile – ALEX® MacroArray method
Maria Inês T. Silva, Marisa Paulino, Célia Costa, Fátima Cabral Duarte, Manuel Pereira Barbosa, Maria Conceição Pereira Santos

PÁGINA EDUCACIONAL

PASMA 20-30 – Painel online de doentes para monitorização do controlo da ASMA 2020-2030: Um estudo de coorte dinâmico prospetivo
PASMA 20-30 – Online panel of patients for the surveillance of asthma control 2020-2030: A prospective dynamic cohort study
Ana Sá-Sousa, Ana M. Pereira, João G. Marques, Nuno Neuparth, João A. Fonseca, Cristina Jácome

CASO CLÍNICO

Milk and cow's meat allergy in a child: A clinical case
Alergia ao leite e carne de vaca em idade pediátrica: Caso clínico
Maria Luís Marques, Inês Falcão, Moisés Labrador-Horrillo, Helena Falcão, Leonor Cunha

ARTIGOS COMENTADOS

Coordenação: Graça Loureiro, Ana Luísa Moura

PRÉMIOS DA SPAIC

NORMAS DE PUBLICAÇÃO

REVISTA PORTUGUESA DE IMUNOALERGOLOGIA
ÓRGÃO OFICIAL DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE ALERGOLOGIA E IMUNOLOGIA CLÍNICA
OFFICIAL JOURNAL OF THE PORTUGUESE SOCIETY OF ALLERGOLOGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY
revportimunoalergologia@gmail.com • www.spaic.pt

CONSELHO DE ADMINISTRAÇÃO / *ADMINISTRATION BOARD*

Presidente / *President*
Manuel Branco Ferreira
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Lisboa Norte

Vice-Presidentes / Vice Presidents
Pedro Martins
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Lisboa Central
Ana Morête
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Baixo Vouga, Aveiro
José Alberto Ferreira
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Vila Nova de Gaia e Espinho

Secretário-Geral / *General Secretary*
Emília Faria
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Secretário-Adjunto / *Assistant Secretary*
Frederico Regateiro
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Tesoureiro / *Treasurer*
Rodrigo Rodrigues Alves
Unidade de Imunoalergologia, Hospital do Divino Espírito Santo, Ponta Delgada

CONSELHO EDITORIAL / *EDITORIAL BOARD*

Editor / *Editor-in-Chief*
Mariana Couto
Centro de Alergia, Hospital CUF Descobertas, Lisboa

Secretário-Geral / *General Secretary*
Diana Silva
Serviço Imunoalergologia, Centro Hospitalar Universitário de São João

Secretários-Adjuntos / *Assistant Secretaries*
Susana Lopes Silva
Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte
Natacha Santos
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Universitário do Algarve

Redatores / *Associate Editors*
Alexandra Santos
King´s Collge London
Ana Luísa Geraldes
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar do Alto Ave – Guimarães/Fafe
Alice Coimbra
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar de São João, Porto
Ana Margarida Pereira
Unidade de Imunoalergologia. Instituto e Hospital CUF Porto
Anabela Lopes
Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte
Ana Célia Costa
Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte
Ana Margarida Romeira
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Lisboa Central
Carlos Lozoya
Unidade de Imunoalergologia, Hospital Amato Iusitano, Unidade Local de Saúde de Castelo Branco
Elza Tomaz
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar de Setúbal
Eva Gomes
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar do Porto
Frederico Regateiro
Hospitais da Universidade de Coimbra
Graça Loureiro
Hospitais da Universidade de Coimbra
Helena Falcão
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar do Porto
Joana Caiado
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Lisboa Norte
João Marques
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Lisboa Oriental
José Geraldo Dias
Centro de Alergia, Hospitais e Clínicas CUF
José Ferreira
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Vila Nova de Gaia/Espinho
Marta Neto
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Lisboa Norte
Paula Alendouro
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar do Alto Ave – Guimarães/Fafe
Pedro Silva
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Barlavento Algarvio
Rodrigo Rodrigues Alves
Unidade de Imunoalergologia, Hospital do Divino Espirito Santo, Ponta Delgada
Sara Prates
Serviço de Imunoalergologia, Hospital Dona Estefânia. Centro Hospitalar Lisboa Central, Lisboa
Sara Silva
Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Santa Maria. Centro Hospitalar Lisboa Norte, Lisboa

CONSELHO CIENTÍFICO / *SCIENTIFIC BOARD*

Amélia Spínola Santos
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte

Ana todo-Bom
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Ângela Gaspar
Centro de Imunoalergologia, Hospital CUF Descobertas, Lisboa

Bárbara Gonçalves da Silva
Serviço de alergia e imunologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

Barbara Bohle
Medical University, Viena, Austria

Carlos Loureiro
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Carlos Nunes
Centro de Imunoalergologia do Algarve, Portimão

Celso Pereira
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Cristina Santa Marta
Centro de Imunoalergologia. Hospital CUF Descobertas, Lisboa

Dirceu Solé
Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM). Brasil

Elisa Pedro
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Lisboa Norte

Enrico Heffler
Medical University of de Catania, Itália

Filipe Inácio
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar de Setúbal

João Fonseca
Faculdade de Medicina do Porto.

José Luís Plácido
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar de São João, Porto

José Pedro Moreira da Silva
Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Vila Nova de Gaia/Espinho

José Rosado Pinto
Serviço de Imunoalergologia, Hospital da Luz, Lisboa

Lorenzo Cecchi
University of Florence, Itália

Luís Delgado
Serviço de Imunologia Básica e Clínica. Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina, Universidade do Porto

Luís Taborda Barata
Faculdade de Medicina Beira Interior

Manuel Branco Ferreira
Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Santa Maria. Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte

Maria da Graça Castelo-Branco
Unidade de Imunoalergologia. Hospital CUF Porto

Mário Morais de Almeida
Centro de Imunoalergologia, Hospitais e Clinicas CUF.

Marcelo Vivolo Aun
Serviço de Imunologia Clínica e Alergia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Brasil

Marek Jutel
Medical Research Institute, Varsóvia, Polónia

Marcin Kurowski
Faculty of Medicine, Lodz, Polónia

Nelson Rosário Filho
Universidade Federal do Paraná, Curitiba. Brasil

Nikos Papadopoulos
University of Athens, Grecia.

Norma Rubini
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO. Brasil

Paolo Matricardi
Universidade de Medicna Charité, Berlin, Alemanha

Pedro Martins
Serviço de Imunoalergologia, Hospital Dona Estefânia. Centro Hospitalar Lisboa Central, Lisboa

Rita Câmara
Serviço de Imunoalergologia. Hospital Dr. Nélio Mendonça, Funchal

Stefano Del Giacco
Universidade de Cagliari, Itália

Tomas Chivato
Hospital Gegorio Maranhon, Madrid, Espanha

Ulrike Raap
Universidade de Medicina de Hannover, Alemanha

Victoria Cardona
Hospital Universitário Vall d´Hebron, Barcelona, Espanha

GRUPOS DE INTERESSE DA SPAIC TRIÉNIO 2020-2022 / *SPAIC INTEREST GROUPS IN 2020-2022*

Grupo de Interesse de "Aerobiologia"
Coordenador: João Fonseca
Secretário: Beatriz Tavares
JIP de ligação: Sofia Farinha
E-mail: giaerobiologia.spaic@gmail.com

Grupo de Interesse de "Alergia Alimentar"
Coordenadora: Ana Luísa Reis Ferreira
Secretário: Carlos Lozoya
JIP de ligação: Sara Carvalho
E-mail: giaalimentar.spaic@gmail.com

Grupo de Interesse de "Alergia Cutânea"
Coordenador: Cristina Lopes Abreu
Secretário: Marta Neto
JIP de ligação: Rosa Anita Fernandes
E-mail: giacutanea.spaic@gmail.com

Grupo de Interesse de "Alergia a Fármacos"
Coordenador: Luísa Geraldes
Secretário: Susana Cadinha
JIP de ligação: Bárbara Kong Cardoso
E-mail:giafarmacos.spaic@gmail.com

Grupo de Interesse de "Alergénios e Imunoterapia"
Coordenador: Celso Pereira
Secretário: Joana Cosme
JIP de ligação: Joana Lopes
E-mail: giaimunoterapia.spaic@gmail.com

Grupo de Interesse de "Anafilaxia e Doenças Imunoalérgicas Fatais"
Coordenador: Natacha Santos
Secretário: Leonor Leão
JIP de ligação: Tiago Rama
E-mail: gigandalf.spaic@gmail.com

Grupo de Interesse de "Asma"
Coordenador: Ana Mendes
Secretário: Ana Margarida Pereira
JIP de ligação: Maria João Vasconcelos
E-mail: giasma.spaic@gmail.com

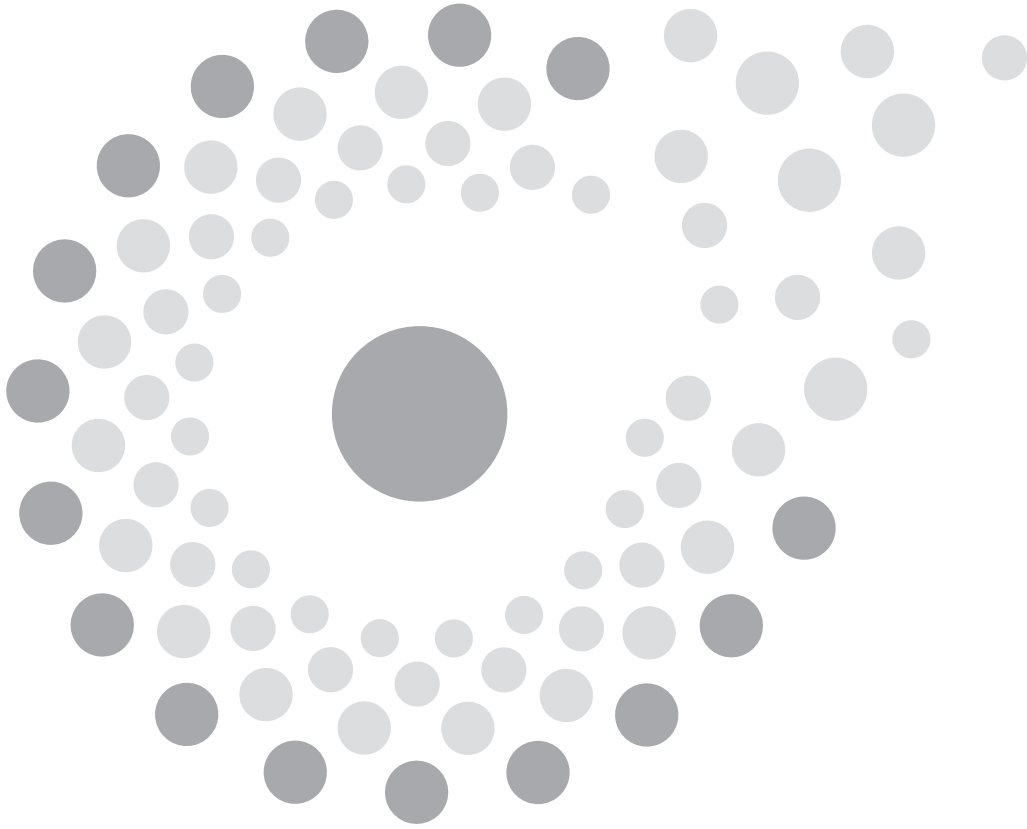
Grupo de Interesse de "Asma e Alergia no Desporto"
Coordenador: João Marques
Secretário: João Marcelino
JIP de ligação: Ana Luísa Moura
E-mail: giadesporto.spaic@gmail.com

Grupo de Interesse de "Cuidados de Saúde Primários"
Coordenador: Pedro Silva
Secretário: Maria João Barbosa
JIP de ligação: Iolanda Allen
E-mail: gicsprimarios.spaic@gmail.com

Grupo de Interesse de "Imunodeficiências Primárias"
Coordenador: Sara Silva
Secretário: Ruben Ferreira
JIP de ligação: Joana Pita
E-mail: giidp.spaic@gmail.com

Grupo de Interesse de "Rinite"
Coordenador: Nuno Sousa
Secretário: Ana Sofia Moreira
JIP de ligação: Filipe Garcia
E-mail: spaic.girinite@gmail.com

Grupo de Interesse de Imunoalergologia Comparada e Veterinária
Coordenador: Luís Martins
Secretário: Daniela Matias
JIP de ligação: João Miguel Vieira
E-mail: giaveternaria.spaic@gmail.com



ÍNDICE

EDITORIAL

Fast forward no diagnóstico para uma medicina de precisão 241
Diana Silva

ARTIGOS ORIGINAIS

IgE e IgG específicas para antigénios do *Aspergillus fumigatus* no diagnóstico da aspergilose broncopulmonar alérgica 243
Specific IgE and IgG to Aspergillus fumigatus *antigens in the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis*
Marília Beltrão, Ana Reis Ferreira, Ana Maria Pereira, Oksana Sokhatska, Adelina Amorim, Luís Delgado

Síndrome LTP: Caracterização do perfil clínico e molecular de sensibilização – Método ALEX® *MacroArray* 253
LTP syndrome: Characterization of the clinical and molecular sensitization profile – ALEX® MacroArray method
Maria Inês T. Silva, Marisa Paulino, Célia Costa, Fátima Cabral Duarte, Manuel Pereira Barbosa, Maria Conceição Pereira Santos

PÁGINA EDUCACIONAL

PASMA 20-30 – Painel online de doentes para monitorização do controlo da ASMA 2020-2030: Um estudo de coorte dinâmico prospetivo 263
PASMA 20-30 – Online panel of patients for the surveillance of asthma control 2020-2030: A prospective dynamic cohort study
Ana Sá-Sousa, Ana M. Pereira, João G. Marques, Nuno Neuparth, João A. Fonseca, Cristina Jácome

CASO CLÍNICO

Milk and cow's meat allergy in a child: A clinical case 273
Alergia ao leite e carne de vaca em idade pediátrica: Caso clínico
Maria Luís Marques, Inês Falcão, Moisés Labrador-Horrillo, Helena Falcão, Leonor Cunha

ARTIGOS COMENTADOS 279
Coordenação: Graça Loureiro, Ana Luísa Moura

Revista trimestral
Volume XXIX, n.º 4 2021
Distribuição gratuita de *flipbook* aos associados

Propriedade
Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica

Administração
SPAIC
Rua Manuel Rodrigues da Silva, 7-C, Escritório 1
1600-503 Lisboa

Execução gráfica
Publicações Ciência e Vida, Lda.
pub@cienciaevida.pt

Depósito legal n.º 64568/95
ISSN 0871-9721
e-ISSN 2184-3856

Isento do Registo no ICS nos termos da alínea a) do Artigo 12.º do Decreto Regulamentar n.º 8/99, de 9 de Junho

Referenciada no FreeMedicalJournals
All issues indexed on FreeMedicalJournals
http://www.freemedicaljournals.com

Revista indexada no SciELO Citation Index da Web of Science

PRÉMIOS DA SPAIC 281

NORMAS DE PUBLICAÇÃO 291

O perfil de segurança de Revinty foi validado em ensaios clínicos de grande escala, como o SUMMIT (n=4121) e SLS na Asma (n=2114)[1,4]

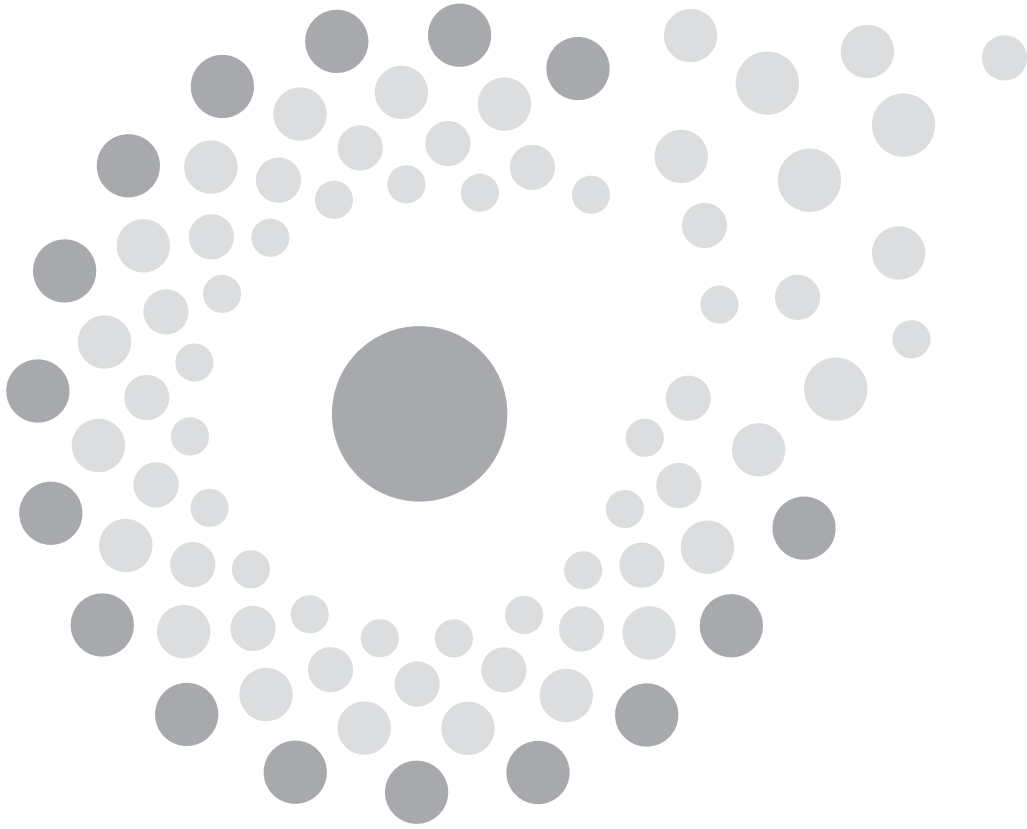
1) Woodcock A *et al. Lancet* 2017; 390:2247–2255. 2) Bateman ED *et al. Thorax* 2014; 69:312–319. 3) GINA. Global strategy for asthma management and prevention, 2019. Available at: https://ginasthma.org/gina-reports/ (Acedido: março 2020). 4) VestboJ *et al.* Lancet 2016;387:1817-1826. ICS: Corticoesteroide inalado; LABA: Agonista β2 de longa duração.

INFORMAÇÕES ESSENCIAIS COMPATÍVEIS COM O RCM • NOME DO MEDICAMENTO Revinty Ellipta **COMPOSIÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA Revinty Ellipta 92/22 mcg:** Cada inalação disponibiliza uma dose administrada de 92 mcg de furoato de fluticasona e 22 mcg de vilanterol (como trifenatato). Isto corresponde a um recipiente unidose de 100 mcg de furoato de fluticasona e 25 mcg de vilanterol (como trifenatato). Revinty Ellipta 184/22 mcg: Cada inalação disponibiliza uma dose administrada de 184 mcg de furoato de fluticasona e 22 mcg de vilanterol (como trifenatato). Isto corresponde a um recipiente unidose de 200 mcg de furoato de fluticasona e 25 mcg de vilanterol (como trifenatato). **FORMA FARMACÊUTICA** Pó para inalação em recipiente unidose **INDICAÇÕES TERAPÊUTICAS** Asma**:** Revinty Ellipta 92/22 mcg e 184/22 mcg está indicado para o tratamento regular da asma em adultos e adolescentes com idade ≥ 12 anos em que a utilização de um medicamento contendo uma associação (agonista beta2 de ação prolongada e corticosteroides para inalação) é adequada: doentes que não estão adequadamente controlados com corticosteroides para inalação e com agonistas beta2 de curta duração de ação 'conforme o necessário'; doentes que estão já adequadamente controlados com corticosteroide para inalação e agonista beta2 de longa duração de ação. DPOC**:** Revinty Ellipta 92/22 mcg está indicado para o tratamento sintomático de adultos com DPOC com um FEV1 previsível normal <70% (após o broncodilatador) com antecedentes de exacerbação apesar da terapêutica regular com um broncodilatador. **POSOLOGIA E MODO DE ADMINISTRAÇÃO** Asma (92/22 mcg e 184/22 mcg) *Adultos e adolescentes ≥12 anos* Deve considerar-se uma dose inicial de uma inalação de 92/22 mcg uma vez por dia para adultos e adolescentes ≥12 anos que requeiram uma dose média de corticosteroides para inalação em associação com um agonista beta2 de ação prolongada. Se os doentes não estiverem corretamente controlados com 92/22 mcg, a dose pode ser aumentada para 184/22 mcg. Os doentes devem ser regularmente reavaliados. A dose deve ser titulada para a dose mais baixa com a qual é mantido um controlo efetivo dos sintomas. Revinty Ellipta 184/22 mcg deve ser considerado para adultos e adolescentes ≥12 anos que requeiram uma dose mais elevada de corticosteroides para inalação em associação com um agonista beta2 de ação prolongada. Os doentes normalmente verificam uma melhoria na função pulmonar 15 minutos após a inalação. É necessário o uso diário regular para manter o controlo dos sintomas de asma e o uso deve ser continuado mesmo quando esta é assintomática. Se os sintomas surgirem no período entre as doses, deve ser tomado um agonista beta2 de curta duração, por inalação, para o alívio imediato. A dose máxima recomendada é 184/22 mcg 1x/dia. *Crianças <12 anos* A segurança e a eficácia ainda não foram estabelecidas na indicação para a asma. DPOC (92/22 mcg) *Adultos* ≥18 anos Uma inalação 1x/dia. Os doentes normalmente verificam uma melhoria na função pulmonar 16-17 minutos após a inalação. *População pediátrica* Não é relevante na população pediátrica para a indicação de DPOC. Populações especiais *Idosos (> 65 anos) e Compromisso renal* Não é necessário ajustar a posologia. *Compromisso hepático* Estudos revelaram um aumento na exposição sistémica ao FF. Devem tomar-se precauções na definição da posologia em doentes com compromisso hepático que possam estar em risco mais elevado de reações adversas sistémicas associadas a corticosteroides. Para os doentes com compromisso hepático moderado ou grave a dose máxima é 92/22 mcg. Modo de administração Via inalatória. Deve ser administrado à mesma hora do dia, todos os dias. Se uma dose for omitida, deve tomar-se a próxima dose à hora habitual no dia seguinte. Após inalação, os doentes devem enxaguar a boca com água sem a engolir. **CONTRAINDICAÇÕES** Hipersensibilidade às substâncias ativas ou a qualquer um dos excipientes. **ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES ESPECIAIS DE UTILIZAÇÃO** Deterioração da doença Não deve ser utilizado para tratar sintomas de asma aguda ou uma exacerbação aguda na DPOC, para os quais é necessário um broncodilatador de curta duração. O uso aumentado de broncodilatadores de curta duração para aliviar os sintomas indica deterioração do controlo. Os doentes não devem interromper a terapêutica na asma ou na DPOC, sem supervisão de um médico, uma vez que os sintomas podem reaparecer após a descontinuação. Os acontecimentos adversos e as exacerbações relacionadas com a asma podem ocorrer durante o tratamento. Deve pedir-se aos doentes que continuem o tratamento mas que procurem aconselhamento médico se os sintomas da asma continuarem incontroláveis ou piorarem após o início do tratamento com Revinty Ellipta. Broncospasmo paradoxal Pode ocorrer com um aumento imediato na pieira após a administração. Deve ser tratado imediatamente com um broncodilatador para inalação de curta duração. Revinty Ellipta deve ser suspenso imediatamente, o doente avaliado e uma terapêutica alternativa instituída conforme o necessário. Efeitos cardiovasculares Podem ser observados efeitos cardiovasculares, tais como arritmias cardíacas por ex., taquicardia supraventricular e extra-sístoles. Num estudo controlado com placebo em indivíduos com DPOC moderada e com antecedentes, ou um risco aumentado de doença cardiovascular, não existiu aumento do risco de acontecimentos cardiovasculares. No entando, deve ser utilizado com precaução em doentes com doença cardiovascular grave ou anomalias do ritmo cardíaco, tirotoxicose, hipocaliemia não corrigida ou em doentes com predisposição para níveis baixos de potássio sérico. Doentes com compromisso hepático Para os doentes com compromisso hepático moderado a grave, deve ser utilizada a dose de 92/22 mcg. Efeitos sistémicos dos corticosteroides Podem ocorrer com qualquer corticosteroide para inalação, em especial com doses elevadas receitadas durante longos períodos (ocorrência muito menos provável do que com corticosteroides orais). Incluem síndrome de Cushing, características cushingoides, apoplexia suprarrenal, diminuição na densidade mineral óssea, retardação do crescimento em crianças e adolescentes, cataratas e glaucoma e, mais raramente, uma variedade de efeitos psicológicos e comportamentais incluindo hiperatividade psicomotora, perturbações do sono, ansiedade, depressão ou agressão (em especial em crianças). Administrar com precaução em doentes com tuberculose pulmonar ou em doentes com infeções crónicas ou não tratadas. Perturbações visuais Podem ser notificadas perturbações visuais com o uso sistémico e tópico de corticosteroides. Se um doente apresentar sintomas tais como visão turva ou outras perturbações visuais, o doente deve ser considerado para encaminhamento para um oftalmologista para avaliação de possíveis causas que podem incluir cataratas, glaucoma ou doenças raras, como coriorretinopatia serosa central (CRSC), que foram notificadas após o uso de corticosteroides sistémicos e tópicos. Hiperglicemia Notificados casos de aumentos nos níveis de glucose no sangue em doentes diabéticos e tal deve ser considerado quando se receita a doentes com antecedentes de diabetes mellitus. Pneumonia em doentes com DPOC Um aumento da incidência de pneumonia, incluindo pneumonia que requer hospitalização, tem sido observado nos doentes com DPOC a receberem corticosteroides inalados. Existe alguma evidência de um risco aumentado de pneumonia com o aumento da dose de esteroide mas isto não foi demonstrado de forma conclusiva entre todos os estudos. Não existe evidência clínica conclusiva para diferenças dentro da mesma classe na magnitude do risco de pneumonia entre os medicamentos contento corticosteroides inalados. Os médicos devem continuar alerta para o possível desenvolvimento de pneumonia em doentes com DPOC pois as características clínicas de tais infeções sobrepõem-se aos sintomas das exacerbações da DPOC. Os fatores de risco para pneumonia em doentes com DPOC incluem tabagismo atual, idade avançada, índice de massa corporal (IMC) baixo e DPOC grave. Pneumonia em doentes com asma A incidência de pneumonia em doentes com asma foi frequente na dose mais elevada. A incidência de pneumonia em doentes com asma a tomar 184/22 mcg foi numericamente superior quando comparada com aqueles a receber 92/22 mcg ou placebo. Não foram identificados fatores de risco. Excipientes Cada dose administrada contém aproximadamente 25 mg de lactose (na forma mono-hidratada). Doentes com problemas hereditários raros de intolerância à galactose, deficiência total de lactase ou malabsorção de glucose-galactose não devem utilizar este medicamento. **EFEITOS INDESEJÁVEIS** As reações adversas mais frequentemente notificadas foram cefaleia e nasofaringite. Com a exceção de pneumonia e fraturas, o perfil de segurança foi semelhante em doentes com asma e DPOC. Durante os estudos clínicos, pneumonia e fraturas foram mais frequentemente observadas em doentes com DPOC. **Infeções e infestações** *Frequentes* Pneumonia, infeção do trato respiratório superior, bronquite, gripe, candidíase da boca e da garganta **Doenças do sistema imunitário** *Raros* Reações de hipersensibilidade incluindo anafilaxia, angioedema, erupção cutânea e urticária **Perturbações do foro psiquiátrico** *Raros* Ansiedade **Doenças do sistema nervoso** *Muito frequentes* Cefaleia *Raros* Tremor **Afeções oculares** *Pouco frequentes* Visão turva **Doenças cardíacas** *Pouco frequentes* Extra-sístoles *Raros* Palpitações, taquicardia **Doenças respiratórias, torácicas e do mediastino** *Muito frequentes* Nasofaringite *Frequentes* Dor orofaríngea, sinusite, faringite, rinite, tosse, disfonia *Raros* Broncospasmo paradoxal **Doenças gastrointestinais** *Frequentes* Dor abdominal **Afeções musculosqueléticas e dos tecidos conjuntivos** *Frequentes* Artralgia, dorsalgia, fraturas, espasmos musculares **Perturbações gerais e alterações no local de administração** *Frequentes* Pirexia. **TITULAR DA AIM** GlaxoSmithKline (Ireland) Limited, 12 Riverwalk, Citywest Business Campus, Dublin 24, Irlanda **DATA DA REVISÃO DO TEXTO** dezembro 2018. **APRESENTAÇÃO:** Revinty Ellipta 92 mcg+22 mcg, 30 doses; Revinty Ellipta 184 mcg+22 mcg, 30 doses. **Regime de comparticipação:** Escalão B. Regime Geral 69%; Regime Especial 84%. **Medicamento Sujeito a Receita Médica.** Está disponível informação pormenorizada sobre este medicamento no sítio da internet da Agência Europeia de Medicamentos http://www.ema.europa.eu/. Consultar o RCM completo para informação detalhada. Para mais informações e em caso de suspeita de um acontecimento adverso ou de outra informação de segurança, contactar o departamento médico da GlaxoSmithKline - +351 214129500. Para mais informações contactar o representante local do titular da AIM: Bial-Portela & Cª, S.A.,-A Av. da Siderurgia Nacional, 4745-457 S.Mamede do Coronado; NIF: 500220913. DDVSAM190129

© 2020 empresas do grupo GSK ou sob licença. As Marcas Registadas são propriedade ou licenças das empresas do grupo GSK.
Revinty Ellipta foi desenvolvido em colaboração com a Innoviva, Inc.

RV/MAR20/PT/004
PM-PT-FFV-PPT-200011, abril 2020

INNOVIVA gsk Bial Keeping life in mind.



Apresentamos a aplicação myHAE

Com a aplicação myHAE, os seus doentes podem monitorizar todos os aspetos da sua doença.

Uma aplicação simples que permite:

- Monitorizar a **frequência, gravidade e duração** das crises
- Observar as **tendências na atividade da doença** ao longo do tempo
- Registar os **tratamentos**
- Definir **lembretes de tratamento**
- Transferir um **relatório personalizado e confidencial** que podem partilhar com o seu médico
- Aceder a **ligações e informações úteis** sobre o **Angioedema Hereditário**

A aplicação myHAE está disponível para transferência em qualquer dispositivo Apple ou Android

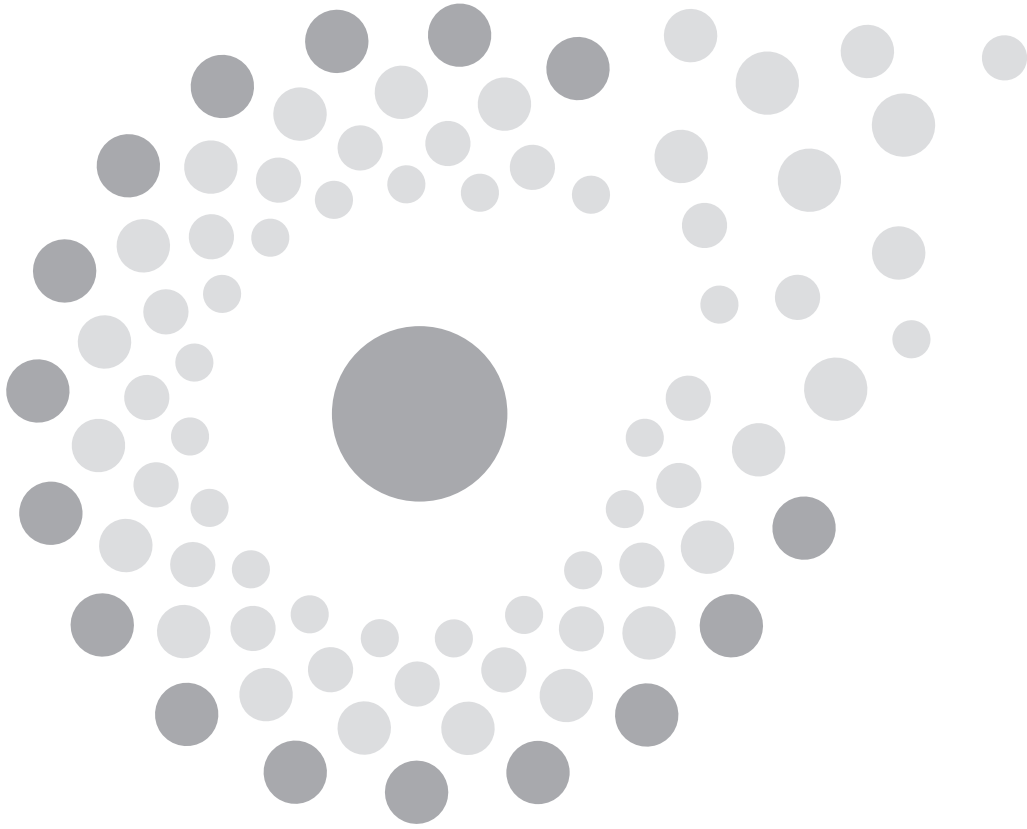
Download on the App Store | GET IT ON Google Play

iPhone e iOS são marcas registadas da Apple, Inc.
Google Play e o logótipo do Google Play são marcas registadas da Google LLC.

Desenvolvida e financiada pela Takeda.

© 2020 Takeda Pharmaceutical Company Limited. Todos os direitos reservados. A Takeda e o logótipo da Takeda são marcas registadas da Takeda Pharmaceutical Company Limited, utilizadas sob licença. A Shire faz agora parte da Takeda.
Takeda – Farmacêuticos Portugal, Lda.
Quinta da Fonte, Rua dos Malhões, nº. 5
Edifício Q56 D. Pedro I, Piso 3, 2770-071 Paço de Arcos
Capital social de 259.400,00€ | NIF 502801204 | **www.takeda.pt**

C-ANPROM/PT/HAE/0031 Maio de 2021



Fast forward no diagnóstico para uma medicina de precisão

Rev Port Imunoalergologia 2021; 29 (4): 241-242

Diana Silva[1,2]

[1] Serviço de Imunoalergologia, Hospital de São João, Centro Hospitalar de São João, EPE, Porto, Portugal
[2] Serviço de Imunologia Básica e Clínica, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal

A introdução do conceito de diagnóstico baseado em componentes moleculares nos últimos vinte anos veio lançar importantes desafios científicos e na prática clínica[1]. Atualmente temos acesso de forma mais ou, por vezes, menos transversal a ferramentas que nos ampliam e aprofundam o conhecimento dos perfis de sensibilização. Contudo, trazem-nos novas dificuldades na sua interpretação, definição da sua relevância clínica e acuidade diagnóstica.

Lemos com interesse o artigo de Silva *et al.* neste número da RPIA, que aborda a aplicação da técnica ALEX® no diagnóstico da síndrome da LTP. Esta nova ferramenta diagnóstica permite a identificação simultânea da IgE total, IgE específica e respetivos componentes moleculares e, portanto, fornece-nos uma ampla caracterização do perfil de sensibilização destes doentes, incluindo das LTP alimentares e de pólenes. A concordância entre os diferentes métodos diagnóstico e a clínica revelou-se apesar de tudo diferente, de acordo com o alimento a que o doente se encontrava sensibilizado. A utilização integrada destes elementos diagnósticos numa amostra populacional mais ampla e aplicando uma análise de rácios entre IgE específica/IgE total e IgE componentes/IgE específica[2], como recentemente sugerido, poderá revelar-se no futuro útil e complementar a uma abordagem diagnóstica referida como clássica.

O amplo espetro clínico que encontramos na alergia alimentar alia-se a uma ampla expressão de alergénios; além do típico exemplo da síndrome da LTP, podemos encontrar também na alergia às proteínas de leite de vaca, em que o processamento da proteína poderá ter impacto também na expressão clínica da doença alérgica. No caso clínico de Marques *et al.* deste número da RPIA, é demonstrado que a sensibilização a albumina sérica bovina apresenta uma expressão clínica variável em função do processamento da carne bovina. Portanto, além da avaliação do perfil de sensibilização in-*vitro*, confirmado com inibição, será necessária a validação com o *gold-standard*, a prova de provocação oral. A clínica prevalece sempre na adequada abordagem do doente. Por este motivo, a interpretação dos valores da sensibilização mediada por IgE de forma isolada é limitativa, como já é amplamente reconhecido.

Atualmente têm surgido novos biomarcadores, como os testes de ativação basofílica, cujo objetivo é reduzir a necessidade de procedimentos *in vivo*[3]. Os testes de ativação basofílica têm sido utilizados na prática clínica para confirmar o diagnóstico, avaliar a elegibilidade para trata-

http://doi.org/10.32932/rpia.2021.12.068
© 2021 Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica. Publicado por Publicações Ciência & Vida.
Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

mento com imunoterapia com alergénios ou tratamento imunomodulador ou para monitorizar a história natural da doença alérgica[3]. Apesar de este método estar a ser alvo de intenso estudo científico, a sua aplicação generalizada na prática clínica é limitada, dada a necessidade de validação analítica do método, validação clínica e, adicionalmente, pela dificuldade ao seu acesso de forma generalizada e difícil implementação, particularmente em pequenos centros.

São necessários novos biomarcadores mais disponíveis e acessíveis que, ao serem integrados em algoritmos e sistemas de suporte de decisão clínica[4], consigam então melhorar a nossa capacidade de diagnóstico, atingindo um balanço ótimo entre o risco e benefício. A alguns destes biomarcadores já temos acesso de forma mais generalizada, nomeadamente à avaliação com IgG, nomeadamente da IgG específica e a correlação IgE/IgG.

Na alergia a veneno de himenópteros os valores de IgG4 específica mostraram correlacionar-se com cenários clínicos específicos[2]. Contudo, a evidência relativa à interpretação da relação entre a IgE específica e a IgG é escassa. No artigo deste número da RPIA, Beltrão *et al.* avalia a resposta IgE e IgG específica a *Aspergillus fumigatus* na distinção de diferentes espetros clínicos de patologia respiratória associada a sensibilização a *A fumigatus*. Verificamos neste estudo que o uso de IgE específica para os antigénios secretados e intracelulares do *A. fumigatus* foi superior na aspergilose broncopulmonar alérgica, em comparação com a asma alérgica com sensibilização a fungos. Por outro lado, a sensibilização por IgG para *A. fumigatus* foi mais elevada nos doentes com aspergiloma, apesar de a IgG específica para os diferentes componentes não se associar a melhor discriminação diagnóstica entre os diferentes espetros clínicos.

A utilização integrada dos diferentes métodos de diagnóstico pode ser uma mais-valia na adequada orientação e caracterização dos nossos doentes. Estes métodos de avaliação dos alergénios e componentes moleculares devem focar-se não só na IgE específica, mas certamente noutros isótipos da imunoglobulina, bem como a avaliação da atividade competitiva entre a IgE e IgG específica de alergénio[5].

A velocidade em *fast forward*, com que nos deparamos com novas metodologias e ferramentas diagnósticas, pode inundar-nos em informação, pelo que nos devemos treinar na sua interpretação crítica de forma a tornarmos essa informação útil. O intuito final é conseguirmos discernir quais são os biomarcadores que facilitam e melhoram os cuidados clínicos e que são possíveis de aplicar de uma forma ampla e acessível.

REFERÊNCIAS

1. Valenta R, Lidholm J, Niederberger V, Hayek B, Kraft D, Gronlund H. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). Clin Exp Allergy. 1999;29(7):896-904. 10.1046/j.1365-2222.1999.00653.x.
2. Pascal M, Moreno C, Davila I, Tabar AI, Bartra J, Labrador M, *et al.* Integration of in vitro allergy test results and ratio analysis for the diagnosis and treatment of allergic patients (INTEGRA). Clin Transl Allergy 2021;11(7):e12052. 10.1002/clt2.12052.
3. Santos AF, Alpan O, Hoffmann HJ. Basophil activation test: Mechanisms and considerations for use in clinical trials and clinical practice. Allergy 2021;76(8):2420-32. 10.1111/all.14747.
4. Barber D, Diaz-Perales A, Escribese MM, Kleine-Tebbe J, Matricardi PM, Ollert M, *et al.* Molecular allergology and its impact in specific allergy diagnosis and therapy. Allergy 2021. 10.1111/all.14969.
5. Huang HJ, Campana R, Akinfenwa O, Curin M, Sarzsinszky E, Karsonova A, *et al.* Microarray-Based Allergy Diagnosis: Quo Vadis? Front Immunol 2020;11:594978. 10.3389/fimmu.2020.594978.

ORCID:

Diana Silva 0000-0002-0656-7206

IgE e IgG específicas para antigénios do *Aspergillus fumigatus* no diagnóstico da aspergilose broncopulmonar alérgica

Specific IgE and IgG to Aspergillus fumigatus antigens in the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis

Data de receção / *Received in*: 3/9/2020
Data de aceitação / *Accepted for publication in*: 13/3/2021

Rev Port Imunoalergologia 2021; 29 (4): 243-252

Marília Beltrão[1], Ana Reis Ferreira[2], Ana Maria Pereira[3], Oksana Sokhatska[1], Adelina Amorim[4], Luís Delgado[1,3,5]

[1] Serviço de Imunologia Básica e Clínica, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal
[2] Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Vila Nova de Gaia/Espinho, EPE, Vila Nova de Gaia, Portugal
[3] Laboratório de Imunologia, Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospitalar e Universitário de São João, Porto, Portugal
[4] Serviço de Pneumologia, Centro Hospitalar e Universitário de São João, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal
[5] CINTESIS@RISE – Centro de Investigação em Tecnologias e Serviços de Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal

RESUMO

Os doseamentos séricos de anticorpos específicos para o *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) são úteis para a orientação diagnóstica de aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA). **Objetivo:** Avaliar a sensibilização aos componentes purificados do *A. fumigatus* por quantificação de anticorpos específicos IgE e IgG no soro de doentes com ABPA ou com asma e sensibilização a fungos, usando como comparadores doentes com asma alérgica não sensibilizados a fungos, doentes com fibrose quística (FQ) sem critérios de ABPA e doentes com aspergiloma pulmonar. **Métodos:** Avaliação transversal de 57 doentes com os diagnósticos de ABPA (n=13), FQ (n=9), asma sensibilizada a fungos (ASF, n=10), asma alérgica sem sensibilização a fungos (AA, n=18) e aspergiloma (n=7). A determinação das concentrações séricas de IgE e IgG específica (sIgE e sIgG) para *A. fumigatus* (m3) e cinco dos seus componentes antigénicos recombinantes (rAsp f) *rAsp f 1*, *rAsp f 2*, *rAsp f 3*, *rAsp f 4* e *rAsp f 6* foi realizada por ImmunoCAP. **Resultados:** A ABPA diferiu significativamente da ASF, pela sensibilização (sIgE>0,10 kU_A/L) ao an-

http://doi.org/10.32932/rpia.2021.12.069

tigénio intracelular *rAsp f 6* (64% versus 0% Qui^2=6,2, p=0,013) e pelo aumento significativo da sIgE para o antigénio extracelular *rAsp f 1* (45,3; 0,2-33,7kU$_A$/L *versus* 0,3; 0,1-0,3kU$_A$/L, p=0,041). Os níveis de sIgG para *A. fumigatus* foram significativamente diferentes entre os grupos (p=0,002). No entanto, os níveis de sIgG para os *rAsp f* testados não diferiram entre ABPA, ASF, FQ e aspergiloma. **Conclusão:** A avaliação da resposta IgE ao *A. fumigatus* para alguns dos seus antigénios excretados (*rAsp f 1*) e intracelulares (*rAsp f 6*) parece útil na distinção serológica da ABPA em relação à ASF, permitindo melhorar a classificação dos doentes. Os níveis séricos de IgG para os *rAsp f* não distinguem os diferentes grupos de doentes sensibilizados, não melhorando a descriminação diagnóstica obtida utilizando o extrato total do *A. fumigatus*.

Palavras-chave: Antigénios recombinantes, asma, *Aspergillus fumigatus,* aspergiloma, aspergilose broncopulmonar alérgica, fibrose quística, IgE, IgG.

© 2021 Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica. Publicado por Publicações Ciência & Vida.
Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

ABSTRACT

*The serum assays of specific antibodies to Aspergillus fumigatus (*A. fumigatus*) are useful for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA).* ***Objective:*** *To evaluate the sensitization to purified components of* A. fumigatus*, quantifying specific IgE and IgG antibodies to its recombinant allergens in the serum of patients with ABPA or with asthma and sensitization to molds, using as comparators patients with allergic asthma not sensitized to molds, patients with cystic fibrosis (CF) without ABPA criteria and patients with pulmonary aspergilloma.* ***Methods:*** *Cross-sectional evaluation of 57 patients diagnosed with ABPA (n = 13), CF (n = 9), asthma with fungal sensitization (AFS, n = 10), allergic asthma without fungal sensitization (AA, n = 18) or aspergilloma (n = 7). The quantification of serum specific IgE and IgG specific (sIgE and sIgG) to* A. fumigatus *(m3) and five of its recombinant antigenic components (*rAsp f*),* rAsp f 1*,* rAsp f 2, rAsp f 3, rAsp f 4 and rAsp f 6 *was performed by ImmunoCAP.* ***Results:*** *ABPA significantly differed from ASF in terms of sensitization (sIgE> 0.10 kU$_A$/L) to its intra-cellular antigens (rAsp f 6 64% versus 0% Qui^2 = 6.2, p=0.013) and higher levels of sIgE to its extra-cellular antigen* rAsp f 1 *(45.3; 0.2-33.7kU$_A$/L versus 0.3; 0.1-0.3kU$_A$/L, p=0.041). The levels of sIgG for* A. fumigatus *were significantly different between groups (p=0.002). However, the sIgG levels for the rAsp f tested did not differ between ABPA, ASF, FC and aspergilloma.* ***Conclusion:*** *The evaluation of the IgE response to* A. fumigatus *for some of its excreted (*rAsp f 1*) and intracellular (*rAsp f 6*) antigens seems to be useful in the serologic distinction of ABPA and asthmatic patients sensitized to molds. Serum IgG levels for rAsp f do not distinguish between different groups of sensitized patients, and do not improve diagnostic discrimination regarding the total extract of* A. fumigatus.

Key-words: *Allergic bronchopulmonary aspergillosis, aspergilloma,* Aspergillus fumigatus*, asthma, cystic fibrosis, IgE, IgG, recombinant antigens.*

© 2021 Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica. Published by Publicações Ciência & Vida.
This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

INTRODUÇÃO

Uma percentagem significativa da população atópica encontra-se sensibilizada a fungos e a exposição a alergénios fúngicos em asmáticos sensibilizados tem sido relacionada com exacerbações da doença, necessidades terapêuticas aumentadas e mortalidade por asma[1,2]. A aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA) foi descrita em 1952 por Hinson *et al.* no Reino Unido, sendo uma doença alérgica respiratória observada em 1-2% dos doentes com asma de longa duração e também em 2-15% dos doentes com fibrose quística (FQ)[3-6]. Agarwal R. *et al.* classificou em 2013 a ABPA como sendo uma doença pulmonar imunológica causada por uma hipersensibilidade ao *Aspergillus fumigatus*, manifestando-se com uma asma mal controlada, infiltrados pulmonares recorrentes e bronquiectasias. O diagnóstico de ABPA, segundo os critérios propostos, é estabelecido na evidência de uma IgE total elevada (>1000 IU/ml), IgE específica para *A. fumigatus* elevada (>0,35 kU_A/L) e dois dos seguintes critérios: presença de precipitinas para *A. fumigatus*, opacidades na radiografia de tórax (fixas ou transitórias), eosinofilia no sangue periférico (>1000 células/µl), bronquiectasias na tomografia computorizada de alta resolução (TCAR)[7].

Níveis séricos elevados de anticorpos específicos para o *A. fumigatus* (sIgE e sIgG) são considerados um bom marcador diagnóstico de ABPA por permitirem confirmar tanto a sensibilização como o nível de exposição atual do doente[4,8]. Fatores dependentes da exposição ambiental, predisposição genética, defeitos na função mucociliar, bem como patologia pulmonar coexistente, predispõem ao desenvolvimento de ABPA[5,9]. Alguns doentes podem desenvolver uma síndrome semelhante à ABPA, mas originada pela sensibilização a outros fungos, situação reconhecida como micose broncopulmonar alérgica (MBPA). Em casos mais graves, a ABPA pode evoluir para fibrose pulmonar e insuficiência respiratória.

A suspeita clínica de ABPA deve levar a um diagnóstico baseado em dados clínicos, laboratoriais (i.e. IgE específica) e imagiológicos, já que um reconhecimento precoce e tratamento adequado pode prevenir a sua progressão para fibrose pulmonar[5,10,11]. Uma outra patologia pulmonar que se associa à presença de anticorpos específicos para o *A. fumigatus* é o aspergiloma pulmonar. Esta patologia surge no seguimento da colonização de uma cavidade pulmonar única com uma bola fúngica de *A. fumigatus* no seu interior, originando um micetoma, geralmente em doentes não imunodeprimidos, não atópicos e com doença pulmonar prévia[12,13].

Esporos fúngicos são detetáveis no ambiente exterior e interior, sendo cada vez mais reconhecidos como um fator relevante no desenvolvimento da asma alérgica[2,5,12]. Tradicionalmente, o diagnóstico da alergia a fungos baseia-se na história clínica, associada a testes *in vivo* (e.g. testes cutâneos por picada) e quantificação de IgE específica. Contudo, os extratos totais de diferentes fungos variam muito entre si, pelo que a precisão e fiabilidade dos testes diagnósticos depende da qualidade desses extratos e, pela mesma razão, a correlação entre testes cutâneos e serológicos é limitada na alergia a fungos[14]. Os extratos naturais representam uma mistura indefinida de alergénios e materiais não alergénicos, passando apenas após a sua extração por um processo de remoção de lípidos e resíduos[15]. Devido à reatividade cruzada entre alergénios de diferentes fungos, a reatividade *in vivo* ou *in vitro* a extratos totais de *A. fumigatus* nem sempre indicará uma sensibilização genuína a esse fungo[16,17].

Mais recentemente, componentes alergénicos purificados ou produzidos como proteínas recombinantes têm sido progressivamente introduzidos no diagnóstico das doenças alérgicas, particularmente na avaliação de doentes polissensibilizados[18,19].

Entre as 23 proteínas alergénicas do *A. fumigatus* já identificadas, é possível atualmente avaliar a reatividade da IgE e de IgG para cinco desses componentes (*rAsp f 1, f 2, f 3, f 4* e *f 6*), sendo que vários perfis diferentes de sensibilização têm sido associados à ABPA, com ou sem FQ, e aos doentes com asma e sensibilização a *A. fumigatus* [4,20]. No entanto, a relevância clínica desses perfis de sensibilização é ainda hoje controversa, uma vez que perfis diferentes têm sido descritos em grupos diagnósticos diferentes e em zonas geograficamente distintas[21,22].

O objetivo deste estudo foi avaliar a sensibilização aos componentes purificados do *A. fumigatus*, quantificando anticorpos específicos para os mesmos no soro de doentes com ABPA ou com asma e sensibilização a fungos, usando como comparadores doentes com asma alérgica não sensibilizados a fungos, doentes com FQ sem critérios de ABPA e doentes com aspergiloma pulmonar.

MÉTODOS

Desenho do estudo

Avaliação transversal de 57 doentes seguidos em ambulatório num hospital central universitário, com diagnóstico prévio por médico especialista (imunoalergologia e/ou pneumologia) de ABPA (n=13), FQ sem critérios de ABPA (n=9), asma com sensibilização a fungos (ASF, n=10), asma alérgica sem sensibilização a fungos (AA, n=18) e aspergiloma (n=7).

Treze doentes preenchiam os critérios diagnósticos de Agarwal para ABPA seropositiva[7]. Os 10 doentes com ASF tinham diagnóstico de asma e evidência de IgE positiva (>0,35 kU_A/l) para, pelo menos, um fungo (entre *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum* e *Penicillium spp*), por testes cutâneos *prick* e/ou determinação sérica de IgE específica. Os 18 doentes com diagnóstico de AA apresentavam testes cutâneos *prick* e/ou determinação de IgE específica positiva para, pelo menos, um alergénio inalante, excluindo fungos. A ausência de sensibilização a aeroalergénios fúngicos foi também confirmada por IgE específica negativa (<0,35 kU_A/L) para uma mistura dos alergénios fúngicos referidos (mx1). Nove doentes tinham o diagnóstico de FQ, sem critérios de ABPA, e sete tinham diagnóstico de aspergiloma. As características dos doentes incluídos estão descritas no Quadro 1. Todas as amostras séricas analisadas foram obtidas por conveniência aquando de colheitas de sangue realizadas no decurso de avaliação diagnóstica ou de seguimento dos doentes avaliados, pelo que em algumas amostras não foi possível ter volume suficiente para todas as determinações.

Determinação de IgE e IgG específica para antigénios fúngicos

Foram quantificadas as concentrações séricas de IgE total, IgE e IgG específica para *A. fumigatus* (m3) e monocomponentes (*rAsp f*) por ensaio imunoenzimático fluo-

Quadro 1. Características demográficas e quantificação de IgE, IgG, IgE e IgG específicas para o *Aspergillus fumigatus* (m3), expressos em mediana (min./máx.)

	ABPA	ASF	AA	Aspergiloma	FQ
N	13	10	18	7	9
Idade (anos)	55 (10-83)	54 (16-77)	40 (6-78)	56(36-73)	23 (18-37)
Sexo (F/M)	7/6	8/2	13/5	2/5	3/7
IgE total (kU/l)	1860 (399-27600)	258 (28-3167)	110 (1-2031)	32 (4-144)	14 (6-158)
IgE específica *A. fumigatus* (m^3; kU_AL)	3,4 (0,1-74,8)	0,5 (0,1-19,6)	–	0,1 (0,1-8,9)	*
IgG total (mg/dL)	1220 (850-3360)	1030 (876-1370)	1100 (897-1480)	2030 (978-3510)	1710 (1300-3190)
IgG específica *A. fumigatus* (m^3; mg_A/L)	42,1 (5,6-135)	27,1 (6,2-128)	11,1 (3,1-22)	115,5 (47,6-2535)	71,0 (50,3-73,2)

* Só um paciente com 10,2 kU_A/L os restantes <0,10 kU_A/L
ABPA – Aspergilose broncopulmonar alérgica; ASF – Asma com sensibilização a fungos; AA – Asma alérgica sem sensibilização a fungos; FQ – Fibrose quística

rométrico (CAP-FEIA, Thermo-Fisher®), seguindo as instruções do fabricante. Resumidamente, o antigénio de interesse, ligado covalentemente a um polímero de celulose tridimensional, reage com a IgE ou IgG específica do soro, previamente diluído, de cada doente. Após a incubação com diluições apropriadas da amostra e da remoção, por lavagem, dos anticorpos não específicos que não se ligaram, é adicionado um imunossoro anti-IgE ou anti-IgG marcado com uma enzima. Depois de uma nova incubação e lavagens adicionais, é adicionado um substrato e a fluorescência no eluído é medida. A resposta em cada amostra é diretamente comparada com calibradores IgE (kU_A/L) ou IgG (mg_A/L).

Foram quantificados os anticorpos específicos para uma mistura de extratos totais de fungos (mx1 - *Penicillium chrysogenum, Cladosporium herbarum, Aspergillus fumigatus, Alternaria alternata*), para um extrato total purificado de *A. fumigatus* (m3), bem como para cinco dos seus monocomponentes antigénicos recombinantes intracelulares (*rAsp f 1, rAsp f 2, rAsp f 3*) e excretados (*rAsp f 4* e *rAsp f 6*): *rAsp f 1* (proteína *major* com 18 KD pertencente à família de mitogilina das citotoxinas), *rAsp f 2* (proteína de ligação ao fibrinogénio com 310 resíduos de aminoácidos) e *rAsp f 3* (proteína peroxisomal com 18,45KD), *rAsp f 4* (proteína intracelular com 30,04KD, cuja função bioquímica não está definida) e *rAsp f 6* (enzima superóxido dismutase de manganês).

Os níveis de IgE específica para os *rAsp f* foram considerados como indicando ausência de sensibilização se <0,10 kU_A/L, o limite de quantificação para o qual o imunoensaio utilizado foi otimizado[23]. A IgG específica para o *A. fumigatus* (m3) foi considerada positiva para níveis >20 mg_A/L[22].

Análise estatística

A análise descritiva das variáveis é apresentada, exceto quando referido, como mediana e intervalo interquartil (IQR). A significância das diferenças das variáveis contínuas entre grupos ou no mesmo grupo (no caso dos monocomponentes) foi avaliada por testes não paramétricos (testes de Mann-Whitney ou de Wilcoxon) e as diferenças de distribuição de variáveis categóricas pelo teste de Qui^2, com correção de Yates (p_c). A associação entre variáveis foi avaliada pela correlação de Spearman. Os dados colhidos foram analisados com o programa SPSS versão 20.0 para Windows.

RESULTADOS

IgE específica para o *Aspergillus fumigatus* e monocomponentes recombinantes

Os níveis de IgE total e específica para *A. fumigatus* (m3) foram mais elevados no grupo com ABPA, de acordo com a definição dos grupos selecionados neste estudo. A IgE específica para o extrato total de *A. fumigatus* (m3) foi positiva (≥ 0,35kU_A/L) em 11 de 13 (85%) com ABPA, 6 de 10 (60%) do grupo ASF e 2 de 7 (29%) dos doentes com aspergiloma e 1 dos 9 de doentes com FQ (Quadro 1).

Nestes quatro grupos (sensibilizados a fungos), os doentes com ABPA foram também os que apresentaram globalmente níveis séricos mais elevados de IgE específica para os diferentes *rAsp f* (Figura 1, Quadro 2).

Na ABPA, os níveis de IgE para o extrato total de *A. fumigatus* (m3) correlacionaram-se significativamente com os de cada um dos monocomponentes *rAsp f* avaliados, verificando-se uma correlação elevada entre os componentes que correspondem a antigénios excretados (*rAsp f 1* / *rAsp f 3*, r=0,725, p=0,012) e moderada para os componentes intracelulares (*rAsp f 4* / *rAsp f 6*, r=0,626, p=0,039). Os níveis de IgE específica para *rAsp f 6* (4,3; 0,1-0,3 kU_A/L) foram mais baixos e significativamente inferiores aos dos componentes excretados – *rAsp f 1* (45,3; 0,2-33,7kU_A/L; p=0,041) e *rAsp f 3* (23,8; 1,0-48,1kU_A/L; p=0,028).

O grupo com ABPA diferiu da ASF por um maior número de casos positivos ao *rAsp f 6* (64% *versus* 0% Qui^2=6,2, p_c=0,013) e níveis séricos mais elevados (p=0,02; Figura 1), verificando-se também uma tendência para maior positi-

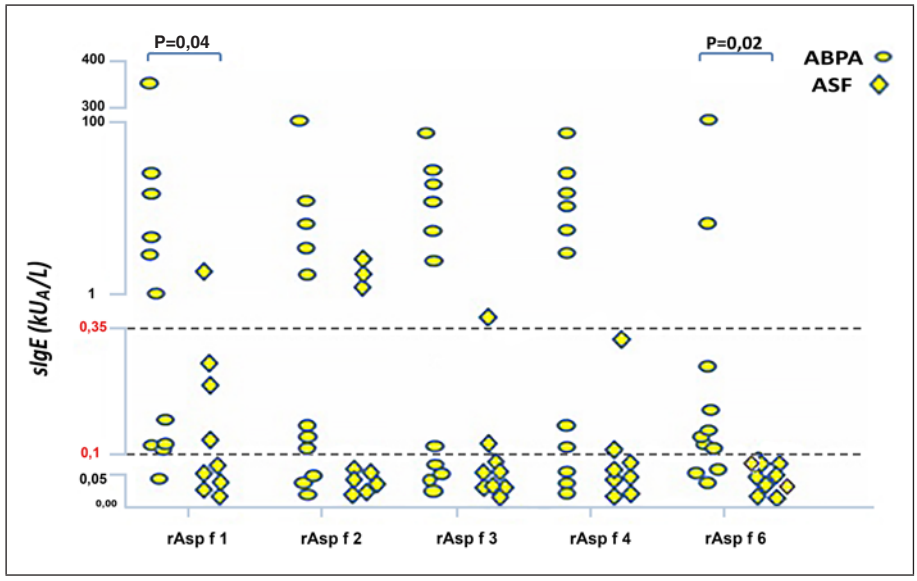


Figura 1. Resultados da IgE específica para os diferentes alergénios do *Aspergillus fumigatus* (*rAsp f*, kUA/L) nos doentes com aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA) e asma com sensibilização a fungos (ASF)

Quadro 2. Positividade da IgE específica para os diferentes alergénios do *Aspergillus fumigatus* (*rAsp f*) nos três grupos sensibilizados e que realizaram todas as determinações. A positividade (%) está representada a dois níveis (>0,10 e >0,35 kU_A/L).

	kU_A/L	ABPA (n=11)	ASF (n=9)	Aspergiloma (n=6)
rAsp f 1	>0,10	10 (90,9 %)	4 (44,4 %)	3 (50,0 %)
	>0,35	6 (54,5 %)	1 (11,1 %)	2 (33,3 %)
rAsp f 2	>0,10	8 (72,7 %)	3 (33,3 %)	1 (16,7 %)
	>0,35	5 (45,4 %)	3 (33,3 %)	1 (16,7 %)
rAsp f 3	>0,10	7 (63,6 %)	3 (33,3 %)	0
	>0,35	6 (54,5 %)	2 (22,2 %)	0
rAsp f 4	>0,10	8 (72,7 %)	2 (22,2 %)	1 (20 %)
	>0,35	6 (54,5 %)	0	1 (20 %)
rAsp f 6	>0,10	7 (63,6 %)	0	0
	>0,35	2 (18,2 %)	0	0

ABPA – Aspergilose broncopulmonar alérgica; ASF – Asma com sensibilização a fungos.

vidade ao *rAsp f 4* (73% *versus* 22% Qui^2= 3,2, p_c =0,072) e *rAsp f 1* (91% *versus* 44%, Qui^2=3,12, p_c =0,077). Quanto à IgE para *rAsp f 1* (o componente mais frequentemente positivo nas nossas amostras), os níveis séricos foram significativamente mais elevados na ABPA do que na ASF (45,3; 0,2-33,7kU_A/L *versus* 0,3; 0,1-0,3kU_A/L, p=0,041).

IgG específica para o *Aspergillus fumigatus* e monocomponentes recombinantes

Os níveis de IgG para *A. fumigatus* (m3) (Quadro 1) foram significativamente diferentes entre os grupos (p=0,002), também como esperado pela definição das amostras selecionadas. Assim, os níveis mais elevados de IgG para o extrato total de *A. fumigatus* (m3) verificaram-se no grupo-controlo com aspergiloma (mediana 115,5 mg/dL, p<0,02 todas as comparações) e os mais baixos na AA (mediana 11,1 mg/dL, p<0,01 todas as comparações). A IgG específica para *A. fumigatus* (m3) apresentou-se também globalmente positiva no grupo com ABPA, ASF e na FQ (Quadro 1), não diferindo significativamente entre estes três grupos de doentes.

Quanto aos níveis séricos de IgG para os diferentes componentes *rAsp f* (Quadro 3), a reatividade ao *rAsp f 1* foi significativamente mais elevada comparativamente com os outros componentes, seguindo-se o *rAsp f 2*, como sendo o segundo antigénio com níveis mais elevados de IgG específica em qualquer dos grupos com ABPA, ASF, aspergiloma e FQ. No entanto, os níveis de IgG específica para os diferentes *rAsp f* testados não diferiram significativamente entre os grupos ABPA, ASF, FQ e aspergiloma.

DISCUSSÃO

Neste estudo transversal de 57 doentes com patologia respiratória que frequentemente se associa a sensibilização ao *A. fumigatus* podemos verificar que a avaliação da IgE específica para alguns dos seus antigénios excretados (*rAsp f 1*) e intracelulares (*rAsp f 6*) parece útil na caracterização serológica da ABPA. Assim, a positividade IgE para *rAsp f 6* é significativamente superior na ABPA em comparação à da asma alérgica com sensibilização a fungos. Do mesmo modo, os níveis de IgE para *rAsp f 1* apresentam-se significativamente mais elevados na ABPA;

Quadro 3. IgG específica para o extrato total (m3,mg_A/L) e para os diferentes alergénios do *Aspergillus fumigatus* (*rAsp f*, mg_A/L) em doentes com aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA), asma com sensibilização a fungos (ASF), aspergiloma e fibrose quística (FQ), expressos em mediana (min./máx.) do número (n) de amostras quantificadas para todos os componentes.

IgG mg_A/L para:	Asp f (m3)	*rAsp f 1*	*rAsp f 2*	*rAsp f 3*	*rAsp f 4*	*rAsp f 6*
ABPA	42,1	5,9	4,5	2,3	3,6	4,9
	(5,6-56,8)	(4,2-14,0)	(2,6-6,7)	(0,0-3,9)	(2,1-8,4)	(3,2-7,4)
	n=10	n=10	n=9	n=9	n=7	n=10
ASF	22,3	5,8	5,4	3,0	3,1	3,5
	(6,2-116,0)	(2,5-12,1)	(0,0-10,6)	(0,0-9,6)	(0,0-5,9)	(0,0-8,2)
	n=8	n=8	n=8	n=8	n=7	n=7
Aspergiloma	144,0	54,9	8,9	5,5	4,7	3,0
	(47,6-2535,0)	(8,1-71,6)	(4,2-49,0)	(1,0-11,0)	(3,4-5,9)	(1,0-21,8)
	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5
FQ	50,3	33,2	8,8	2,7	4,6	4,9
	(5,6-73,2)	(10,0-36,8)	(4,7-14,1)	(2,3-6,5)	(3,5-8,4)	(4,0-10,0)
	n=7	n=7	n=7	n=7	n=7	n=7

nos doentes com ASF, a maioria dos casos com sIgE positiva para *rAsp f 1* tinham níveis relativamente baixos (entre 0,11 e 0,35kU$_A$/L, Quadro 2).

Quanto à sensibilização IgG para o *A. fumigatus* (m3), os seus níveis são significativamente mais elevados no aspergiloma e baixos na AA e globalmente positivos e semelhantes nos outros três grupos de doentes, traduzindo provavelmente a exposição frequente a este fungo nas patologias respiratórias incluídas. Apesar de no grupo com ASF os valores de sIgG para *A. fumigatus* serem relativamente mais elevados do que no grupo AA (Quadro 1), os seus valores medianos (27 mg$_A$/L) encontram-se ainda dentro de valores de referência obtidos em diferentes estudos, avaliando, como grupos-controlo, quer dadores de sangue quer doentes respiratórios sem aspergilose[22,24]. Já a IgG específica para os diferentes componentes *rAsp f*, sendo mais elevada para o *rAsp f 1* e *rAsp f 2*, não parece oferecer melhor discriminação diagnóstica que a IgG para o extrato total do *A. fumigatus* (m3).

Estes resultados estão em consonância com os obtidos num dos estudos iniciais realizados por *Crameri R et al*[25], no qual avaliaram a diferente resposta serológica de 60 asmáticos sensibilizados para *A. fumigatus* com ABPA e 40 asmáticos sem ABPA, face aos mesmos alergénios recombinantes. Nos resultados verificaram que os alergénios *major rAsp f 1* e *rAsp f 3* são reconhecidos por ambos os grupos com elevada incidência, em contraste com *rAsp f 4* e *rAsp f 6*, reconhecidos exclusivamente pelos doentes com ABPA. Em estudos subsequentes[4,20], os mesmos investigadores avaliaram doentes com FQ com ABPA, um grupo geograficamente mais alargado de doentes com asma e sensibilização a *A. fumigatus*, bem como controlos normais; os resultados reforçaram a positividade a *rAsp f 1* e *rAsp f 3* como marcadores de sensibilização IgE e a positividade a *rAsp f 4* e *rAsp f 6* mostrou-se relevante no serodiagnóstico da ABPA. Em contraste com estes estudos, Kurup VP *et al*, avaliando o diagnóstico de ABPA no contexto de FQ[21,26], concluem que, apesar de uma resposta IgE um pouco mais elevada para *rAsp f 3*, nenhum dos monocomponentes testados foi capaz de diferenciar a FQ com ABPA de outros doentes com FQ. Já um estudo alargado de casos de ABPA e de asma sensibilizados ao *A. fumigatus* no Japão (306 doentes), recentemente publicado[27,28], sugere que a IgE específica para *rAsp f 1* (como no presente estudo) e *rAsp f 2* efetivamente diferenciam as duas populações, podendo ser considerados como marcadores genuínos de sensibilização a *A. fumigatus* na ABPA.

Os resultados descritos em populações de áreas geográficas diferentes e patologias diversas (i.e., com ou sem FQ) têm-se mostrado inconsistentes. Uma revisão sistemática recente[29] concluiu, a partir de 17 estudos e 1131 doentes, que, em doentes com asma, a sensibilidade para o diagnóstico de ABPA é melhor para a combinação de sIgE para *rAsp f 1* ou *rAsp f 3*, mas a especificidade associa-se melhor à positividade ao *rAsp f 4* ou *rAsp f 6*. A resposta imunológica mais específica a estas duas últimas proteínas intracelulares em indivíduos asmáticos com ABPA poderá dever-se ao facto de não se apresentarem como aeroalergénios, em contraste com o que acontece nos asmáticos sensibilizados a fungos, já que na ABPA a colonização das vias aéreas pelo fungo e a subsequente reação imunológica poderá resultar a destruição das estruturas fúngicas e exposição subsequente a estes antigénios intracelulares[23].

Assim, a avaliação da resposta IgE para monocomponentes do *A. fumigatus*, particularmente para os seus antigénios excretados (*rAsp f1*/*rAsp f3*) *versus* os intracelulares (*rAsp f 4*/*rAsp f 6*), parece útil na caracterização serológica da ABPA. O uso dos alergénios recombinantes permitirá também contornar e distinguir a reatividade cruzada entre alergénios de diferentes fungos (*Alternaria alternata, Cladosporium herbarum, Trichophyton rubrum, Malassezia spp.*) dos casos especificamente sensibilizados ao *Aspergillus fumigatus* ("verdadeiras" sensibilizações)[23]. Por outro lado, os níveis séricos de IgG para os *rAsp f* não distinguem os diferentes grupos de doentes sensibilizados, não melhorando a discriminação diagnóstica da IgG para o extrato total do *A. fumigatus* (m3).

Este estudo transversal apresenta algumas limitações, como seja amostragem de conveniência (as colheitas de

amostras foram realizadas para apoio diagnóstico ou de seguimento e estabelecidas pelo médico especialista assistente), não tendo sido consideradas a fase de evolução ou de tratamento das doenças, aspetos que podem influenciar os níveis de anticorpos séricos específicos. Pelo mesmo motivo, também em alguns casos pontuais não foi possível ter volume suficiente para todas as determinações (ex. IgG).

No entanto, salienta-se que a nossa amostragem, comparativamente com as dos outros estudos, agrega uma diversidade de patologias respiratórias associadas ao *A. fumigatus* habitualmente observada em cuidados terciários, com doentes seguidos por equipas multidisciplinares e especializadas. A classificação diagnóstica foi revista por dois dos autores, médicos especialistas na área, por consulta dos registos clínicos, não tendo em conta os resultados da presente investigação dos monocomponentes *rAsp f*. Utilizámos também neste trabalho um tipo de imunoensaio semiautomático (ImmunoCAP™) e com reagentes disponíveis comercialmente, cuja calibração, otimização e reprodutibilidade está bem estabelecida em publicações anteriores[22]. Os alergénios recombinantes testados, para IgE e IgG específicas, são também mais estandardizáveis do que os obtidos de extratos nativos, podendo ser preparados de uma forma consistente em grandes volumes e utilizáveis em equipamentos automatizáveis[30].

A utilidade da caracterização laboratorial dos componentes alergénicos do *A. fumigatus* deverá ser explorada em estudos longitudinais, envolvendo maior número de doentes, para que seja possível avaliar a sua relevância na deteção de exacerbações e melhor estabelecer critérios de resposta terapêutica numa doença crónica e debilitante como a ABPA.

Financiamento

Parcialmente suportado pela bolsa da UP Projetos Pluridisciplinares n.130/2010

Conflito de interesses

Os autores declaram que não existem conflitos de interesses.

ORCID:

Marília Beltrão 0000-0002-3297-0445

Ana Luísa 0000-0002-2446-8551

Ana Maria Pereira 0000-0002-4586-9936

Oksana Sokhatska 0000-0003-3061-8066

Adelina Amorim 0000-0003-0357-8900

Luís Delgado 0000-0003-2375-9071

Autor correspondente:
Marília Beltrão
Serviço de Imunologia Básica e Clínica
Departamento de Patologia
Faculdade de Medicina, Universidade do Porto
4200-319 Porto, Portugal
Email: beltraomarilia@gmail.com

REFERÊNCIAS

1. Knutsen AP, Bush RK, Demain JG, Denning DW, Dixit A, Fairs A, *et al.* Fungi and allergic lower respiratory tract diseases. J Allergy Clin Immunol 2012;129:280-91. doi: 10.1016/j.jaci.2011.12.970.
2. Oliveira M, Ribeiro H, Delgado J, Abreu IJA. Seasonal and intradiurnal variation of allergenic fungal spores in urban and rural areas of the North of Portugal. Aerobiologia 2009;25:85-98. doi:10.1034/j.1399-3038.2003.00031.x
3. Khan AN, Jones C, Macdonald S. Bronchopulmonary aspergillosis: a review. Curr Probl Diagn Radiol 2003;32:156-68. doi: 10.1016/s0363-0188(03)00024-0.
4. Crameri R. Recombinant Aspergillus fumigatus allergens: from the nucleotide sequences to clinical applications. Int Arch Allergy Immunol 1998;115:99-114. doi: 10.1159/000023889.
5. Chaudhary N, Marr KA. Impact of Aspergillus fumigatus in allergic airway diseases. Clin Transl Allergy 2011;1:4. doi: 10.1186/2045-7022-1-4.
6. Lazarus AA, Thilagar B, McKay SA. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Dis Mon 2008;54:547-64. doi: 10.1016/j.dis amonth.2008.05.004.
7. Agarwal R, Chakrabarti A, Shah A, Gupta D, Meis JF, Guleria R, *et al*; ABPA complicating asthma ISHAM working group. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. Clin Exp Allergy 2013;43:850-73. doi: 10.1111/cea.12141.
8. Agarwal R. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Chest 2009;135:805-26. doi: 10.1378/chest.08-2586.
9. Greenberger PA. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. J Allergy Clin Immunol 2002;110:685-92. doi: 10.1067/mai.2002.130179.

10. de Oliveira E, Giavina-Bianchi P, Fonseca LA, França AT, Kalil J. Allergic bronchopulmonary aspergillosis' diagnosis remains a challenge. Respir Med 2007;101:2352-7. doi: 10.1016/j.rmed.2007.06.018.
11. Moreira AS, Silva D, Ferreira AR, Delgado L. Antifungal treatment in allergic bronchopulmonary aspergillosis with and without cystic fibrosis: a systematic review. Clin Exp Allergy 2014;44:1210-27. doi: 10.1111/cea.12333.
12. Cavaleiro Rufo J, Madureira J, Paciência I, Aguiar L, Pereira C, Silva D, *et al*. Indoor fungal diversity in primary schools may differently influence allergic sensitization and asthma in children. Pediatr Allergy Immunol 2017;28:332-9. doi: 10.1111/pai.12704.
13. Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, Ader F, Chakrabarti A, Blot S, *et al*; European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases and European Respiratory Society. Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. Eur Respir J 2016;47:45-68. doi: 10.1183/13993003.00583-2015.
14. Simon-Nobbe B, Denk U, Pöll V, Rid R, Breitenbach M. The spectrum of fungal allergy. Int Arch Allergy Immunol 2008;145:58-86. doi: 10.1159/000107578.
15. Curin M, Garib V, Valenta R. Single recombinant and purified major allergens and peptides: How they are made and how they change allergy diagnosis and treatment. Ann Allergy Asthma Immunol 2017;119:201-9. doi: 10.1016/j.anai.2016.11.022.
16. Denning DW, Pashley C, Hartl D, Wardlaw A, Godet C, Del Giacco S, *et al*. Fungal allergy in asthma-state of the art and research needs. Clin Transl Allergy 2014;4:14. doi: 10.1186/2045-7022-4-14.
17. Fukutomi Y, Taniguchi M. Sensitization to fungal allergens: Resolved and unresolved issues. Allergol Int 2015;64:321-31. doi: 10.1016/j.alit.2015.05.007.
18. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. Clin Exp Allergy 2010;40):1442-60. doi: 10.1111/j.1365-2222.2010.03585.x.
19. Vieira T, Lopes C, Pereira AM, Araújo L, Moreira A, Delgado L. Microarray based IgE detection in poly-sensitized allergic patients with suspected food allergy - an approach in four clinical cases. Allergol Immunopathol (Madr) 2012;40:172-80. doi: 10.1016/j.aller.2011.03.013.
20. Kurup V, Banerjee B, Hemmann S, Greenberger PA, Blaser K, Crameri RJC, *et al*. Selected recombinant Aspergillus fumigatus allergens bind specifically to IgE in ABPA. Clin Exp Allergy 2000;30:988-93. doi: 10.1046/j.1365-2222.2000.00837.x.
21. Kurup VP, Knutsen AP, Moss RB, Bansal NK. Specific antibodies to recombinant allergens of Aspergillus fumigatus in cystic fibrosis patients with ABPA. Clin Mol Allergy 2006;4:11. doi: 10.1186/1476-7961-4-11.
22. Page ID, Richardson MD, Denning DW. Comparison of six Aspergillus-specific IgG assays for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis (CPA). J Infect 2016;72:240-9. doi: 10.1016/j.jinf.2015.11.003.
23. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, *et al*. EAACI Molecular Allergology User's Guide. Pediatr Allergy Immunol 2016;27 Suppl 23:1-250. doi: 10.1111/pai.12563.
24. Sehgal IS, Choudhary H, Dhooria S, Aggarwal AN, Garg M, Chakrabarti A, *et al*. Diagnostic cut-off of Aspergillus fumigatus-specific IgG in the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis. Mycoses 2018;61:770-6. doi: 10.1111/myc.12815.
25. Crameri R, Hemmann S, Ismail C, Menz G, Blaser K. Disease-specific recombinant allergens for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis. Int Immunol 1998;10:1211-6. doi: 10.1093/intimm/10.8.1211.
26. Knutsen AP, Hutcheson PS, Slavin RG, Kurup VP. IgE antibody to Aspergillus fumigatus recombinant allergens in cystic fibrosis patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis. Allergy 2004;59:198-203. doi: 10.1046/j.1398-9995.2003.00310.x.
27. Tanimoto H, Fukutomi Y, Yasueda H, Takeuchi Y, Saito A, Watai K, *et al*. Molecular-based allergy diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis in Aspergillus fumigatus-sensitized Japanese patients. Clin Exp Allergy 2015;45:1790-800. doi: 10.1111/cea.12590. Erratum in: Clin Exp Allergy 2016;46:381.
28. Kuwabara K, Hirose M, Kato K, Yokoi T, Shiga M, Kondo R, *et al*. Serological analysis of sensitization in allergic bronchopulmonary aspergillosis: a study on allergen components and interspecies relationships. J Asthma 2020;57:610-7. doi: 10.1080/02770903.2019.1599387.
29. Muthu V, Sehgal IS, Dhooria S, Aggarwal AN, Agarwal R. Utility of recombinant Aspergillus fumigatus antigens in the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis: A systematic review and diagnostic test accuracy meta-analysis. Clin Exp Allergy 2018;48:1107-36. doi: 10.1111/cea.13216.
30. Crameri R, Lidholm J, Grönlund H, Stüber D, Blaser K, Menz G. Automated specific IgE assay with recombinant allergens: evaluation of the recombinant Aspergillus fumigatus allergen I in the Pharmacia Cap System. Clin Exp Allergy 1996;26:1411-9.

Síndrome LTP: Caraterização do perfil clínico e molecular de sensibilização – Método ALEX® *MacroArray*

LTP syndrome: Characterization of the clinical and molecular sensitization profile – ALEX® MacroArray method

Data de receção / *Received in*: 26/11/2020
Data de aceitação / *Accepted for publication in*: 17/2/2021

Rev Port Imunoalergologia 2021; 29 (4): 253-262

Maria Inês T. Silva[1], Marisa Paulino[1], Célia Costa[1], Fátima Cabral Duarte[1], Manuel Pereira Barbosa[1,2], Maria Conceição Pereira Santos[2,3]

[1] Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte, Lisboa, Portugal
[2] Clínica Universitária de Imunoalergologia, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal
[3] Unidade de Imunologia Clínica, Faculdade de Medicina, Instituto de Medicina Molecular, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

RESUMO

Introdução: A alergia alimentar afeta milhões de pessoas globalmente. As proteínas de transferência lipídica (LTP) são panalergénios presentes em alimentos vegetais cujos sintomas de sensibilização variam de síndrome de alergia oral (SAO) a anafilaxia. **Objetivo:** Caracterização do perfil de sensibilização clínica e molecular de doentes com história de reação prévia a alimentos contendo LTP. **Material e métodos:** Estudo retrospetivo incluindo 15 doentes com história de reação sistémica a alimentos contendo LTP. Os doentes foram caracterizados quanto a sintomas e sensibilização em testes cutâneos por picada (TCP) com extrato comercial e alimentos em natureza (TC PP). Foi realizado *MacroArray* Allergy Explorer-ALEX® para avaliação de valores de IgE total, IgE específica para componentes moleculares (IgEcm) e extratos totais (IgEet). **Resultados:** Quinze doentes, 73% mulheres, média de idades 30,7±13,7 anos. Média de idades no primeiro episódio foi 21,8±10,5 anos, manifestando-se como anafilaxia n=8 (maçã, pêssego, frutos secos), urticária/angioedema n=4 (maçã, pêssego, amendoim) e SAO n=3 (maçã, pêssego, amendoim). IgE total média: 430,5kU/L. Identificaram-se as seguintes LTP (N; IgEcm média±desvio padrão-kU/L): *Pru p 3* (15; 15,7±21,5), *Ara h 9* (10; 2,9±4), *Mal d 3* (9; 1,5±1,7), *Act d 10* (6; 0,6±1), *Vit v 1* (6; 1,8±2,5), *Cor a 8* (4; 0,1±0,2), *Sola l 6* (1; 0,88). Com pêssego todas

http://doi.org/10.32932/rpia.2021.12.070

as associações entre clínica, testes cutâneos e valores de IgE tiveram concordância k=1; concordância da clínica com TCP e TC PP foi superior para maçã (k=0,44; p=0,03); concordância da clínica com IgEet foi superior para amendoim (k=0,87; p<0,01); concordância da clínica com IgEcm foi superior para avelã (k=0,70; p<0,01) e uva (k=0,55; p=0,02). **Conclusões:** O método ALEX® permitiu identificar simultaneamente a IgE total, IgEet e IgEcm, simplificando a interpretação e correlação clínica dos resultados. Neste estudo demonstramos que, para diferentes alimentos, o método diagnóstico com maior concordância com a clínica é variável e dependente do alimento. Será necessário um estudo prospetivo mais alargado para aferir a sensibilidade e especificidade deste teste.

Palavras-chave: ALEX® MacroArray, IgE específica, proteínas de transferência lipídica, síndrome LTP.

© 2021 Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica. Publicado por Publicações Ciência & Vida.
Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

ABSTRACT

Introduction: *Food allergy affects millions of people globally. Lipid transfer proteins (LTP) are panallergens present in plant foods and sensitization symptoms vary from oral allergy syndrome (OAS) to anaphylaxis.* ***Objective:*** *Characterization of clinical and molecular sensitization profile of patients with history of previous reaction to foods containing LTP.* ***Material and methods:*** *Retrospective study including 15 patients with history of systemic reaction to foods containing LTP. Patients were characterized for symptoms and sensitization in skin prick tests (SPT) with commercial extract and food in nature (SPT prick-prick). MacroArray Allergy Explorer-ALEX® was performed to evaluate total IgE, specific IgE for molecular components (IgEmc) and total extracts (IgEte) values.* ***Results:*** *Fifteen patients, 73% women, mean age 30.7±13.7 years old. Mean age in first episode was 21.8±10.5 years old, manifesting as: anaphylaxis n=8 (apple, peach, nuts), urticaria/angioedema n=4 (apple, peach, peanut) and OAS n=3 (apple, peach, peanut). Mean total IgE: 430.5kU/L. The following LTP (N;IgE mean±standard deviation-kU/L) were identified: Pru p 3 (15;15.7±21.5), Ara h 9 (10;2.9±4), Mal d 3 (9;1.5±1.7), Act d 10 (6;0.6±1), Vit v 1 (6;1.8±2.5), Cor a 8 (4;0.1±0.2), Sola l 6 (1;0.88). For peach, all associations between symptoms, cutaneous tests and IgE values obtained a correlation of k=1; furthermore, symptoms agreement with SPT+SPT prick-prick was higher for apple (k=0.44, p=0.03); symptoms agreement with IgEte was higher for peanut (k=0.87, p<0.01); symptoms agreement with IgEmc was higher for hazelnut (k=0.70, p<0.01) and grape (k=0.55, p=0.02).* ***Conclusions:*** *ALEX® method allows simultaneous identification of total IgE, IgEte and IgEmc, simplifying the interpretation and clinical correlation of the results. In this study we demonstrate for different foods that the diagnostic method with greater correlation with clinic is variable and dependent on the food. A broader prospective study is needed to assess the sensitivity and specificity of this test.*

Keywords: *ALEX® MacroArray, lipid transfer protein, LTP syndrome, specific IgE.*

© 2021 Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica. Published by Publicações Ciência & Vida.
This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

INTRODUÇÃO

A alergia alimentar afeta mais de 200 milhões de pessoas em todo o mundo e a sua prevalência está a aumentar nos países industrializados, devido, sobretudo, a alterações ambientais e socioeconómicas, hábitos alimentares e padrões de exposição polínica[1-3]. A alergia ao pêssego é a alergia alimentar mais frequente na idade adulta no Sul da Europa, incluindo Portugal[4].

As proteínas de transferência lipídica (LTP) são panalergénios presentes em frutos, vegetais, sementes, látex e pólenes de árvores e ervas, pelo que reações de hipersensibilidade associadas a LTP podem ir muito além da alergia a alimentos vegetais[1-7].

De acordo com a sua afinidade para os fosfolípidos, as LTP podem ser classificadas como específicas ou não específicas, sendo as últimas subdivididas em LTP-1 e LTP-2 consoante o seu peso molecular de 9-kDa e 7-kDa, respetivamente. Fazem parte de uma superfamília de proteínas, as prolaminas, que contém mais de 3000 proteínas e a sensibilização a LTP na bacia do Mediterrâneo é muito prevalente, com uma taxa que ronda os 70%[1,5,6], estando maioritariamente envolvidos os frutos frescos (rosáceas e kiwi), os frutos secos e o amendoim. As LTP-1 são consideradas as proteínas alergénicas[8-10].

A sua sensibilização pode acontecer por via oral, inalatória ou cutânea, com possibilidade de reatividade cruzada entre os vários alimentos de origem vegetal e entre estes e os pólenes. A presença de sintomas com dois ou mais alimentos, por sensibilização a LTP, é designada de Síndrome LTP[3-7]. Estudos anteriores encontraram uma associação entre alergia ao pêssego e sensibilização a pólenes de várias espécies taxonomicamente não relacionadas, como por exemplo *Betula*, *Artemisia*, *Chenopodium*, *Plantago*, *Parietaria*, podendo estar associadas a manifestações mais graves[2,3,4]. Os principais alergénios do pólen de Parietaria (*Par j 1* e *2*) pertencem à família LTP, bem como de Artemisia (*Art v 3*) e Olea (*Ole* e *7*), bastante comuns na área do Mediterrâneo, pelo que é lícito considerar a possibilidade de uma ligação entre a sensibilização inalatória ao pólen LTP e alergia alimentar a LTP, nomeadamente como via de sensibilização primária a LTP[4,11,12].

Os sintomas de sensibilização podem ser mais ligeiros e restritos à orofaringe – síndrome de alergia oral (SAO) – ou sistémicos, desde cutâneos, respiratórios, gastrintestinais, a anafilaxia, uma vez que as LTP são resistentes à temperatura e à pepsina, aumentando a probabilidade de absorção sistémica[2,3,8,13].

As LTP apresentam maior concentração na pele dos frutos, sendo que a sua polpa tem uma concentração bastante inferior, pelo que alguns doentes toleram a ingestão destes alimentos sem pele. No entanto, a concentração de LTP varia conforme a cultivação e maturação dos alimentos, bem como com as condições de armazenamento dos mesmos[1,14].

A *Pru p 3* (LTP do pêssego) é a LTP mais representativa deste grupo de alergénios, sendo a causa de alergia alimentar mais comum em Espanha, Itália e Portugal associada a esta proteína[5,6].

O diagnóstico é baseado numa história clínica detalhada, confirmação de sensibilização através da realização de testes cutâneos por picada (TCP) com extrato comercial dos alimentos suspeitos e da LTP do pêssego (*Pru p 3*) e com o alimento em natureza (TC PP), culminando com a confirmação por prova de provocação oral. No entanto, é considerado relevante complementar o diagnóstico com a avaliação *in vitro* das respetivas moléculas purificadas, nomeadamente o doseamento de IgE específicas, quer para o extrato nativo quer para os componentes moleculares, permitindo uma melhor interpretação e correlação clínica dos resultados. Desta forma, poder-se-á distinguir entre verdadeira sensibilização ou reatividade cruzada, fator bastante importante na alergia alimentar para evitar dietas restritivas[15,16].

O objetivo do estudo foi caracterizar, através do método ALEX® MacroArray, o perfil clínico e molecular de sensibilização numa amostra de doentes com história de reação prévia a alimentos que contêm LTP.

MATERIAL E MÉTODOS

População e desenho do estudo

Foi realizado um estudo observacional retrospetivo, num hospital central, em que foram selecionados aleatoriamente soros de doentes com história de reação sistémica prévia a alimentos contendo LTP, nomeadamente frutos frescos, frutos secos e amendoim, seguidos na consulta de Alergia Alimentar.

Caracterização clínica

Os doentes foram caracterizados quanto a dados demográficos, sintomas e alimentos contendo LTP envolvidos na reação associada à sua ingestão e sensibilização nos TCP com extrato comercial e com o alimento em natureza.

Na maioria dos doentes foram realizados TCP com extrato comercial (Roxall®, Bilbao, Espanha) de *Pru p 3* e dos alimentos suspeitos, incluindo amendoim, avelã, kiwi, maçã, pêssego, tomate e uva, bem como TC PP com estes alimentos em natureza, se TCP negativo. Em alguns doentes foram realizados TC PP com o mesmo fruto, ainda que já apresentassem o TCP positivo, de forma a poder ser avaliada a sensibilização a pele e polpa, cuja distinção nem sempre existe no extrato comercial. Nos doentes que não mantiveram seguimento não foi possível concluir o estudo. Foram, também, realizados em todos os doentes TCP com bateria de aeroalergénios: ácaros domésticos e de armazenamento, gramíneas selvagens e cultivadas, oliveira, parietária, artemísia, plátano, plantago, epitélios de cão e gato e fungos (Alternaria e Aspergillus). Foi utilizado cloreto de sódio a 0,9% como controlo negativo e histamina 10mg/mL como controlo positivo. Os resultados foram lidos após 15 minutos e considerados positivos se o maior diâmetro da pápula fosse igual ou superior a 3mm[17,18].

IgE total e IgE específica

Foi efetuado um ensaio enzimático colorimétrico através do método *MacroArray* Allergy Explorer – ALEX® (*MacroArrayDX, Viena, Áustria*) para avaliação, nas mesmas unidades (kU_A/L) de valores de IgE total e IgE específica para componentes moleculares e para extratos totais, de acordo com as indicações do fabricante. O ALEX® é um teste *multiplex in vitro* que quantifica simultaneamente a IgE total e a IgE específica para 126 alergénios moleculares e para 156 extratos totais de alergénios (Quadro 1).

Os extratos totais dos alimentos com LTP incluídos no ALEX® são de maçã, kiwi, pêssego, avelã, amendoim,

Quadro 1. Resumo de composição dos alergénios presentes no método ALEX®[15,16]

Alergénio	Número total	Número de extratos	Número de componentes moleculares
CCD	2	0	2
Ácaros	24	9	15
Epitélios	20	11	9
Fungos	15	5	10
Gramíneas	14	7	7
Árvores	31	19	12
Ervas	17	10	7
Látex	7	1	6
Himenópteros	9	4	5
Vegetais	18	13	5
Peixe/marisco	17	12	5
Frutos secos	25	9	16
Frutos frescos	25	16	9
Leguminosas	9	5	4
Cereais e sementes	19	15	4
Leite	8	5	3
Ovo	7	2	5
Carne	8	7	1
Condimentos	7	6	1

ALEX® – *MacroArray* Allergy Explorer; CCD – Determinantes de reatividade cruzada de hidratos de carbono

tomate e aipo; os extratos totais de pólenes com LTP são de *Artemisia vulgaris* e de *Parietaria judaica*. Dos alergénios moleculares dos alimentos com LTP fazem parte *Mal d 3* (maçã), *Act d 10 (kiwi)*, *Pru p 3* (pêssego), *Cor a 8* (avelã), *Ara h 9* (amendoim), *Sola l 6* (tomate), *Api g 2* (aipo), *Api g 6* (aipo) e *Vit v 1* (uva); os alergénios moleculares de pólenes com LTP são *Art v 3* (*Artemisia vulgaris*) e *Par j 2 (Parietaria judaica)*.

Os diferentes alergénios e componentes estão acoplados numa membrana de nitrocelulose e são incubados em agitação, com uma solução de diluente e respetivos soros, durante 2 horas, ao fim das quais são extensamente lavados, sendo posteriormente adicionado o anticorpo (IgE anti-humana marcada com fosfatase alcalina) que é incubado mais 30 minutos. De seguida, é feito um novo ciclo de lavagem e adicionado o substrato enzimático e, posteriormente, a solução de paragem, ficando a reação completa. A imunofluorescência de cada alergénio é medida por um *software* informático que a transforma em dados numéricos, sendo os intervalos de leitura os seguintes: <0,3kU$_A$/L; 0,3-1kU$_A$/L; 1-5kU$_A$/L; 5-15kU$_A$/L; e >15kU$_A$/L[15,16].

Análise estatística

A análise estatística foi executada com o *software* IBM SPSS® v.20. A análise descritiva incluiu a frequência de resultados positivos (em percentagem) para variáveis qualitativas e a média±desvio-padrão para variáveis quantitativas. Foi calculado o valor do coeficiente de concordância *kappa* de Cohen (k) ajustado aos intervalos de confiança de 95%, sendo que os valores foram considerados significativos para p<0,05.

RESULTADOS

Analisamos um total de 15 doentes: 11 mulheres (73,3%). A média de idades na primeira consulta foi de 30,7±13,7 anos. Catorze (93,3%) doentes tinham antecedentes de atopia: 14 (93,3%) rinite alérgica, 6 (40%) asma e 4 (26,7%) eczema atópico.

Todos os doentes apresentavam sintomas com pêssego, embora nem todos no primeiro episódio de manifestação da síndrome LTP.

O primeiro episódio de sintomas foi em média aos 21,8±10,5 anos e manifestou-se como anafilaxia em 8 (53,3%) doentes com a ingestão de pêssego (n=3), maçã (n=3), avelã (n=1) e noz (n=1); urticária e/ou angioedema em 4 (26,7%) doentes com a ingestão de pêssego (n=2), maçã (n=1) e amendoim (n=1); e SAO em 3 (20%) doentes com a ingestão de pêssego (n=1), amendoim (n=1) e maçã (n=1).

Os três doentes que tiveram SAO como primeira manifestação da síndrome LTP desenvolveram posteriormente reação sistémica, nomeadamente anafilaxia, com os mesmos alimentos.

Todos os doentes tiveram reação imediata após a ingestão do fruto fresco/seco/amendoim, sendo que 9 (60%) apresentaram sintomas durante a ingestão, 4 (26,7%) apresentaram sintomas com um intervalo inferior a 30 minutos após a ingestão e em 2 (13,3%) os sintomas surgiram num intervalo superior a 30 e inferior a 60 minutos após a ingestão.

Os resultados dos testes *in vivo* com o extrato comercial e com o alimento em natureza encontram-se representados no Quadro 2, bem como a identificação dos sintomas e frutos envolvidos na primeira reação.

Na população em estudo foi identificada, através do método ALEX®, sensibilização às seguintes LTP de alimentos (N; IgEcm média±desvio-padrão - kU/L): *Pru p 3*, *Ara h 9, Mal d 3*, *Act d 10*, *Vit v 1*, *Cor a 8* e *Sola l 6,* sendo a LTP do pêssego (*Pru p 3*) identificada em 100% dos doentes (15; 15,7±21,5), seguida do amendoim (*Ara h 9*) em 66,7% (10; 2,9±4), da maçã (*Mal d 3*) em 60% (9; 1,5±1,7), do kiwi (*Act d 10*) em 40% (6; 0,6±1), da uva (*Vit v 1*) em 40% (6; 1,8±2,5), da avelã (*Cor a 8*) em 26,7% (4; 0,1±0,2) e do tomate (*Sola l 6*) em 6,7% (1; 0,88).

Foram também identificadas as seguintes LTP de pólenes (N; IgEcm média±desvio-padrão - kU/L): *Art v 3* em 46,7% dos doentes (7; 1,5±1,1) e *Par j 2* em 6,7% (1; 5,41).

Quadro 2. Testes *in vivo* na amostra populacional com identificação dos sintomas e frutos envolvidos na primeira reação

Alergénio / Doente	Clínica Fruto	Amendoim		Avelã		Kiwi		Maçã		Pêssego		Tomate		Uva	
		TCP	TC PP	TCP	TC PP	TCP	TC PP	TCP	TC PP	TCP	TC PP	TCP	TC PP	TCP	TC PP
1	Anafilaxia Maçã	+		+		+		+	+	+		+			
2	Anafilaxia Maçã	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	
3	SAO Pêssego	–		–						+					
4	SAO Amendoim	+		+		+		+	+	+		+	+	+	
5	Anafilaxia Pêssego	–	–	–	–		–	+		+	+			–	
6	Anafilaxia Avelã	+		+		–		–		+		–		–	
7	Angioedema Amendoim	+		+				+		+		–		–	
8	Urticária Pêssego	–		–				–		+					
9	Anafilaxia Maçã				–			+	+	+	+				–
10	Anafilaxia Pêssego		–						+	+	+				
11	Angioedema Pêssego	+			+			–	+	+					
12	Anafilaxia Pêssego	–		–		–		+		+	+			–	
13	SAO Maçã	–		+		–		+	+	+	+	–			
14	Urticária + Angioedema Maçã	+		+		+		+	+	+	+	–	+	–	
15	Anafilaxia Noz	–	–	–		–		–	+	+	+				+

SAO – Síndrome de alergia oral; TCP – Testes cutâneos por picada com extrato comercial; TC PP – Testes cutâneos por picada com alimento em natureza. Código de cores: cinzento-escuro – positivo; cinzento-claro – negativo; branco – não realizado

Os resultados da quantificação da IgE específica para o extrato total, componentes moleculares das LTP e IgE total encontram-se representados no Quadro 3.

A análise dos testes *in vivo* e *in vitro* permitiu verificar que todos os doentes apresentaram teste cutâneo positivo para o pêssego, tendo sido a IgE específica para o extrato total de pêssego e componente molecular (*Pru p 3*) a que apresentou valores mais elevados, seguindo-se o amendoim e a maçã.

Os doentes que tinham valores de IgE específica para *Pru p 3* mais elevada (>15kU_A/L) correspondiam a doentes que apresentaram reações sistémicas (urticária/an-

Quadro 3. Testes *in vitro*: avaliação de IgE total e IgE específica de extrato total e componentes moleculares (LTP)

Alergénio / Doente	Amendoim		Avelã		Kiwi		Maçã		Pêssego		Tomate		Uva		IgE Total (kU/L)
	IgEet (kU_A/L)	IgEcm (kU_A/L)	IgEet	IgEcm (kU_A/L)	IgEet (kU_A/L)	IgEcm (kU_A/L)	IgEet (kU_A/L)	IgEcm (kU_A/L)	IgEet (kU_A/L)	IgEcm (kU_A/L)	IgEet	IgEcm (kU_A/L)	IgEet	IgEcm (kU_A/L)	
1	0,94	1,62					0,9	0,37	9,77	12,04					62
2	3,19	13,74			0,83	2,09	6,67	5,57	11,94	17,58				6,4	88
3	1,48	5,38				0,49	4,73	3,55	4,51	5,85				5,21	58
4	1,68	4,72		0,38	1,69	3,15	4,21	3,09	12,21	11,91				3,68	703
5		0,5		0,37			3,68	2,43	30,22	34,32				1,41	3115
6	2,48	8,26		0,36		1,39	3,1	3,2	6,08	8,41		0,88		5,68	245
7		1,75		0,3	0,3	1,01	0,62	0,7	1,49	2,54					28
8	0,39	1,46							2,63	3,08					121
9		0,5							2,75	3,73					41
10					0,35	1,2			8,81	9,96					641
11	1,54	6,72					3,61	1,95	25,05	27,71					999
12									6,53	8,4					28
13									5,1	4,96					103
14							3,16	1,83	12	18,58				4,9	77
15							0,31		4,93	6,1					149

IgE – Imunoglobulina E; IgEet – Extrato total; IgEcm – Componente molecular; LTP – Proteína de transferência lipídica. Código de cores: branco – <0,3kU_A/L (negativo); cinzento-claro: – 0,3-1kU_A/L (nível IgE baixo); cinzento – 1-5kU_A/L (nível IgE moderado); cinzento-escuro – 5-15kU_A/L (nível IgE alto); preto – >15kU_A/L (nível IgE muito alto); IgE total – cinzento-claro <100kU/L; cinzento-escuro – >100kU/L

gioedema n=2 e anafilaxia n=2) como primeira manifestação da síndrome LTP, bem como valores de IgE total mais elevados (>500kU/L).

O valor médio de IgE total foi de 430,5±799,9kU/L, com um valor mínimo de 28kU/L e máximo de 3115kU/L (Quadro 3).

Relativamente à concordância (k) com a clínica, para o pêssego todas as associações obtiveram concordância k=1. A seguir, a combinação dos testes cutâneos com extrato comercial e com o alimento em natureza foi superior para a maçã (k=0,44, p=0,03), a IgE para extrato total foi superior para o amendoim (k=0,87, p<0,01), e a IgE para componentes moleculares foi superior para a avelã (k=0,70, p<0,01) e para a uva (k=0,55, p=0,02).

DISCUSSÃO

Os alergénios alimentares pertencentes ao grupo da superfamília das prolaminas, das quais as LTP fazem parte, são importantes alergénios em sementes de plantas. No entanto, estas moléculas representam uma exceção, uma vez que têm sido isoladas em frutas, folhas, raízes e pólenes e a sua abrangência ultrapassa a alergia a alimentos vegetais. Tal evidencia-se no presente estudo, onde além das LTP dos alimentos, foram também identificadas LTP de pólenes em 8 doentes (*Artemisia vulgaris* em 7 doentes e *Parietaria judaica* num doente), demonstrando a possibilidade de reatividade cruzada[8,12].

Neste estudo verificámos que a manifestação de apresentação mais frequente foi a reação sistémica grave

(anafilaxia) em mais de metade da amostra (53,3%), sendo que as reações foram na sua totalidade imediatas, com mais frequência durante a ingestão do alimento causador, e estando o pêssego envolvido em todos os tipos de reação (ainda que nem sempre como primeira manifestação e com as diferentes gravidades), o que está de acordo com outros estudos publicados[3-8,10,12].

Das LTP identificadas nesta amostra populacional, a sensibilização a *Pru p 3* foi a mais prevalente (100% dos doentes), o que está de acordo com os dados existentes na literatura, que referem ser o pêssego o principal alimento envolvido na síndrome LTP. No entanto, é de realçar que também outros alimentos que contêm LTP foram responsáveis por reações, locais e sistémicas, na nossa população, demonstrando a variabilidade dos alimentos envolvidos na síndrome LTP e a elevada possibilidade de reatividade cruzada nesta grande família de alimentos *Rosaceae*[9,13,14].

A quase totalidade dos doentes (93,3%) apresentava antecedentes de atopia, sendo a patologia mais frequente a rinite alérgica, o que está de acordo com o referido na literatura[5,6,9,13]. A tal facto se acrescenta a cossensibilização a LTP de pólenes em 53,3% dos doentes, podendo ter sido esta a via de sensibilização primária nestes doentes.

Observou-se uma elevada correspondência entre os resultados dos testes cutâneos com os da IgE específica para extratos totais e componentes moleculares na sensibilização aos alimentos maçã, pêssego e amendoim. Estes resultados também se verificaram noutros estudos, o que pode dever-se, não só à escolha de componentes moleculares potencialmente relevantes, mas também à utilização do mesmo imunoabsorvente e de inibidores de determinantes de hidratos de carbono (CCD), reduzindo o reconhecimento de IgE não específicas[15,16]. A maioria dos testes com alergénios de plantas ou insetos contém CCD, glicoepitopos capazes de partilhar homologias estruturais significativas com outras famílias de proteínas responsáveis por reatividade cruzada. Neste contexto, anticorpos IgE contra CCD reagem contra as proteínas que contenham estes epitopos, não apresentando, no entanto, significado laboratorial nem clínico, mas levando à identificação de falsos positivos em até cerca de 25% dos doentes[19-24]. O ALEX® é atualmente o único teste no mercado que oferece o bloqueio automático dos anticorpos anti-CCD, facilitando a verdadeira interpretação e aumentando a especificidade deste teste[16].

É importante uniformizar e estandardizar os métodos diagnósticos o mais possível, de forma a que possa ser oferecido aos doentes o mais personalizado e adequado tratamento. As orientações internacionais indicam a história clínica, o exame objetivo e os testes cutâneos como os primeiros passos na marcha diagnóstica de todas as patologias alérgicas (ensaio de primeiro nível)[15,18,23]. Com o aparecimento da medicina de precisão foi possível evoluir para a deteção das IgE dos extratos totais e dos componentes moleculares (ensaios de segundo e terceiro níveis, respetivamente), de forma a ser possível distinguir entre verdadeira sensibilização ou reatividade cruzada. O método ALEX® é capaz de fornecer resultados de extratos totais de alergénios (ensaio de segundo nível), bem como dos seus componentes moleculares (ensaio de terceiro nível) relevantes e ainda valores de IgE total, tudo no mesmo ensaio, com a vantagem de possuir um inibidor de CCD, permitindo um resultado positivo apenas quando o reconhecimento do alergénio é específico para a própria proteína, aumentando a especificidade do teste[15,16,19-24].

A literatura disponível globalmente acerca deste inovador método de diagnóstico é ainda bastante escassa[15,23,24], sendo este o primeiro estudo publicado a nível nacional, o que os autores consideram ser uma mais-valia para toda a comunidade científica.

CONCLUSÕES

Neste estudo, a análise da concordância com a clínica dos diferentes métodos de diagnóstico, individualmente ou em associação, para diferentes alimentos, foi variável, quer utilizando o método diagnóstico *in vivo* e/ou *in vitro*, quer em diferentes associações.

Das LTP identificadas nesta amostra populacional, a *Pru p 3* foi a mais prevalente (100% dos doentes), tendo havido ainda concordância para o pêssego em todas as variáveis, entre a clínica e os testes cutâneos para a maçã, entre a clínica e a IgE total para o amendoim e entre a clínica e os componentes moleculares para a avelã e a uva.

O método ALEX® MacroArray permite, através da utilização de uma pequena amostra de soro, a identificação de IgE total, IgE específica para extrato total e respetivos componentes moleculares simultaneamente, permitindo uma melhor interpretação e correlação clínica dos resultados. A utilização de um inibidor de CCD permite a eliminação de falsos negativos e positivos. Contudo, será necessário um estudo prospetivo mais alargado para aferir a sensibilidade e especificidade deste teste.

Conflito de interesses

Os autores declaram que não existem conflitos de interesses.

ORCID:

Maria Inês T. Silva 0000-0002-8041-1306

Marisa Paulino 0000-0002-2568-3333

Célia Costa 0000-0001-8313-1505

Fátima Cabral Duarte 0000-0002-0323-9936

Manuel Pereira Barbosa 0000-0002-4662-1369

Maria Conceição Pereira Santos 0000-0003-0689-7317

Autor correspondente:
Maria Inês T. Silva
Serviço de Imunoalergologia, Hospital Santa Maria
Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte
Avenida Professor Egas Moniz
1649-035, Lisboa
Email: inescerca92@gmail.com

REFERÊNCIAS

1. Egger M, Hauser M, Mari A, Ferreira F, Gadermaier G. The role of lipid transfer proteins in allergic diseases. Curr Allergy Asthma Rep 2010;10:326-35. doi: 10.1007/s11882-010-0128-9.
2. Carvalho S, Lourenço T, Cosme J, Cabral Duarte F, Spínola Santos A, Costa AC, *et al.* LTP (*Pru p 3*) sensitisation in skin prick test: which means in clinical practice? Clin Transl Allergy 2016;6(Suppl 2):P5
3. Silva PM, Pestana L, Costa AC, Barbosa MP. Frequency of lipid transfer protein (*Pru p 3*) and profilin (*Pru p 4*) sensitization in 1052 patients referenced to an Imunoallergology Department in Lisbon. Allergy 2013;3(Suppl 3):59.
4. Rodrigues-Alves R, Lopes A, Pereira-Santos MC, Lopes-Silva S, Spínola-Santos A, Costa C, *et al.* Clinical, anamnestic and serological features of peach allergy in Portugal. Int Arch Allergy Immunol 2009;149:65-73. doi: 10.1159/000176308.
5. Costa AC, Duarte F, Pedro E, Campos A, Pereira-Barbosa M, Pereira Santos MC. Imunoterapia sublingual com pêssego (Pru p 3) – Eficácia e segurança. Rev Port Imunoalergologia 2015;23(4):211-22.
6. Costa AC, Melo A, Duarte F, Pereira-Barbosa M, Pereira Santos MC. Eficácia e tolerância de Imunoterapia sublingual com Pru p 3 em doentes com alergia grave ao pêssego – evolução clínica e imunológica ao longo de 12 meses. Rev Port Imunoalergologia 2015;23(1):11-19.
7. Luz S, Lopes A, Spínola Santos A, Costa A, Pereira Barbosa M, Pereira Santos MC. Tree nut allergy: LTP sensitization as a possible increasing risk factor for systemic symptoms. Allergy 2010;65(Suppl 92): P401.
8. Gomez F, Bogas G, Gonzalez M, Campo P, Salas M, Diaz-Perales A, *et al.* The clinical and immunological effects of Pru p 3 sublingual immunotherapy on peach and peanut allergy in patients with systemic reactions. Clin Exp Allergy 2017;(47):339-50. doi: 10.1111/cea.12901.
9. Moura AL, Pereira C, Regateiro FS, Azevedo J, Todo Bom A, Carrapatoso I. Pru p 3 sublingual immunotherapy ultra-rush protocol is safe and clinically effective. Eur Ann Allergy Clin Immunol 2019;51:206-12. doi: 10.23822/EurAnnACI.1764-1489.99.
10. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Ollert M. Molecular allergology user's guide, 1.ª ed. Zurich: European Academy of Allergy and Clinical Immunology 2016.
11. 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; 61:461-76. doi: 10.1111/j.1398-9995.2006.00994.x.
12. Lombardero M, Garcia-Selles FJ, Polo F, Jimeno L, Chamorro MJ, Garcia-Casado G, *et al.* Prevalence of sensitization to artemisia allergens Art v 1, Art v 3 and Art v 60 kDa: cross-reactivity among Art v 3 and other relevant lipid-transfer protein allergens. Clin Exp Allergy 2004;34:1415-21. doi: 10.1111/j.1365-2222.2004.02053.x.
13. Fernández-Rivas M, Garrido Fernández S, Nadal JA, Alonso Díaz de Durana MD, García BE, González-Mancebo E, *et al.* Randomized double-blind, placebo-controlled trial of sublingual immunotherapy with a Pru p 3 quantified peach extract, Allergy 2009; 64:876-83. doi: 10.1111/j.1398-9995.2008.01921.x.

14. Pascal M, Muñoz-Cano R, Reina Z, Palacín A, Vilella R, Picado C, *et al*. Lipid transfer protein syndrome: clinical pattern, cofactor effect and profile of molecular sensitization to plant-foods and pollens. Clin Exp Allergy 2012;42:1529-39. doi: 10.1111/j.1365-2222.2012.04071.x.
15. Heffler E, Puggioni F, Peveri S, Montagni M, Canonica W, Melioli G. Extended IgE profile based on an allergen macroarray: a novel tool for precision medicine in allergy diagnosis. World Allergy Organization Journal 2018;11(1):7. doi: 10.1186/s40413-018-0186-3.
16. MacroArray Diagnostics, Wien, Austria [citado 2020 Nov 2]. Disponível em: https://www.macroarraydx.com/;
17. Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC, Bresciani M, Burbach G, Darsow U, *et al*. The skin prick test – European standards. Clin Transl Allergy 2013;3:3. doi: 10.1186/2045-7022-3-3.
18. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG, *et al*. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. Allergy 2012;67:18-24. doi: 10.1111/j.1398-9995.2011.02728.x.
19. Malandain H. IgE-reactive carbohydrate epitopes - classification, cross-reactivity, and clinical impact. Eur Ann Allergy Clin Immunol 2005;37(4):122-8.
20. Malandain H, Giroux F, Cano Y. The influence of carbohydrate structures present in common allergen sources on specific IgE results. Eur Ann Allergy Clin Immunol 2007;39(7):216-20.
21. Ebo DG, Hagendorens MM, Bridts CH, De Clerck LS, Stevens WJ. Sensitization to crossreactive carbohydrate determinants and the ubiquitous protein profilin: mimickers of allergy. Clin Exp Allergy 2004;34:137-44. doi: 10.1111/j.1365-2222.2004.01837.x.
22. Foetisch K, Westphal S, Lauer I, Retzek M, Altmann F, Kolarich D, *et al*. Biological activity of IgE specific for crossreactive carbohydrate determinants. J Allergy Clin Immunol 2003;111:889-96. doi: 10.1067/mai.2003.173.
23. Bojcukova J, Vlas T, Forstenlechner P, Panzner P. Comparison of two multiplex arrays in the diagnostics of allergy. Clin Transl Allergy. 2019;9:31.
24. Buzzulini F, Da Re M, Scala E, Martelli P, Conte M, Brusca I, *et al*. Evaluation of a new multiplex assay for allergy diagnosis. Clinica Chimica Acta. 2019;493:73-8. doi: 10.1016/j.cca.2019.02.025.

PASMA 20-30 – Painel online de doentes para monitorização do controlo da ASMA 2020-2030: Um estudo de coorte dinâmico prospetivo

PASMA 20-30 – Online panel of patients for the surveillance of asthma control 2020-2030: A prospective dynamic cohort study

Data de receção / *Received in*: 28/5/2021
Data de aceitação / *Accepted for publication in*: 23/7/2021

Rev Port Imunoalergologia 2021; 29 (4): 263-272

Ana Sá-Sousa[1,2], Ana M. Pereira[1,2,3], João G. Marques[4,5,6], Nuno Neuparth[4,5,6], João A. Fonseca[1,2,3], Cristina Jácome[1,2]

[1] MEDCIDS – Departamento de Medicina da Comunidade Informação e Decisão em Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal
[2] CINTESIS – Centro de Investigação em Tecnologias e Serviços de Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal
[3] Imunoalergologia, CUF Porto Instituto & Hospital, Porto, Portugal
[4] Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Dona Estefânia, Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central EPE, Lisboa, Portugal
[5] CHRC – Comprehensive Health Research Center, Nova Medical School, Lisboa, Portugal
[6] CEDOC – Centro de Estudos de Doenças Crónicas, Integrated Pathophysiological Mechanisms Research Group, Nova Medical School, Lisboa, Portugal

RESUMO

Introdução: Desde o último Inquérito Nacional sobre Asma (2010), o conhecimento da doença, a sua classificação e as opções terapêuticas disponíveis mudaram significativamente. Por outro lado, a evolução das tecnologias de informação e comunicação potencia a utilização de novos métodos de recolha de dados e permite a disponibilização de ferramentas digitais para recolha de dados de forma continuada, nomeadamente através da constituição de um painel online de participantes. **Objetivos:** O objetivo principal deste projeto é a constituição de um painel online nacional de pessoas com asma para vigilância de variações do controlo da doença ao longo dos próximos 10 anos (2020-2030). Para tal pretendemos desenvolver e implementar uma plataforma online para recolha continuada de dados relacionados com asma em Portugal

http://doi.org/10.32932/rpia.2021.12.071

e realizar um estudo inicial cujo objetivo principal é estimar a variação, entre 2010 e 2021, da proporção de pessoas com asma não controlada em Portugal. **Métodos:** Estudo observacional contínuo baseado na constituição de uma coorte dinâmica de pessoas com asma, usando uma plataforma online que irá incluir um questionário inicial a ser complementado, numa segunda fase, por questões adicionais de caracterização. Serão incluídos adolescentes (>14 anos) e adultos com asma atual (diagnóstico prévio de asma, ou duas ou mais respostas positivas a um questionário de rastreio validado ou que estão atualmente a tomar medicação para a asma) residentes em Portugal. O controlo da asma será baseado no Teste do controlo da asma e rinite alérgica (CARAT) e definido pela pontuação global >24 ou pontuação das vias aéreas inferiores ≥16. **Resultados esperados:** Este projeto permitirá a obtenção de um painel dinâmico de pessoas com asma recrutado através de um questionário online. Por outro lado, a implementação de uma plataforma online para recolha de dados sobre asma de forma continuada permitirá a obtenção de informação atual e robusta, baseada em dados do 'mundo-real', colhida usando um método de fácil implementação, de elevado alcance e com possibilidade de atualização frequente. Os dados obtidos no estudo inicial permitirão um melhor conhecimento dos fatores determinantes da gestão e controlo da doença e do seu impacto na utilização de recursos de saúde. **Conclusão:** A constituição de um painel de doentes que, juntamente com a disponibilização de uma ferramenta online de apoio a estudos observacionais, têm o potencial de gerar conhecimento sobre a evolução da gestão da asma a nível nacional. Desta forma o projeto contribuirá para informar políticas de saúde, com vista a melhorar os resultados clínicos das pessoas com asma em Portugal.

Palavras-chave: Asma, estudo longitudinal, gestão da doença.

© 2021 Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica. Publicado por Publicações Ciência & Vida.
Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

ABSTRACT

Background: *Since the last Portuguese National Asthma Survey (2010), important developments on the knowledge of asthma, its classification, and therapeutic options have occurred. Also, the evolution of information and communication technologies promotes the use of new data collection methodologies and the existence of digital tools simplifies longitudinal data collection, namely by the establishment of an online panel of participants.* ***Objectives:*** *The main objective of this project is the establishment of a national panel of patients with asthma for the surveillance of variations on disease control in the next 10 years (2020-2030). With that purpose, we aim to develop and implement an online platform for the collection of data related to asthma in Portugal and to carry out an initial study to estimate the variation, between 2010 and 2021, of the proportion of patients with uncontrolled asthma in Portugal.* ***Methods:*** *This is an ongoing observational study based on the establishment of an open cohort of patients with asthma, using an online platform that will include an initial questionnaire and, in a second step, complementary questions for further characterization. The study population consists of adolescents (>14 years old) and adults with current asthma (previous diagnosis of asthma, or two or more positive answers to validated screening questionnaire, or who are currently taking asthma medication), living in Portugal. Asthma control will be based on the Control of Allergic Rhinitis and Asthma Test (CARAT) and defined by a total score > 24 or the lower airways score ≥ 16.* ***Expected results:*** *With this project, an open cohort of patients with asthma will be obtained through an online questionnaire. Also, the implementation of an online platform for an ongoing collection of data on asthma will gather up-to-date and robust information based on 'real world' data, collected using an easy-to-use, high-reach methodology. The data obtained in the initial study will improve the knowledge of the determinants of disease management and its impact on the use of health resources.* ***Conclusion:*** *The estab-*

lishment of an online panel of patients with asthma that, together with an online tool to support observational studies have the potential to generate knowledge on the evolution of asthma management at the national level. This project will therefore contribute to inform health policies and improve the clinical outcomes of patients with asthma in Portugal.

Keywords: *Asthma, disease management, longitudinal study.*

© 2021 Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica. Published by Publicações Ciência & Vida.
This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

PONTOS FORTES E POTENCIAIS LIMITAÇÕES DESTE ESTUDO

Pontos fortes:

- Constituição de um painel de pessoas com asma obtido por metodologia de coorte dinâmico prospetivo, através de um questionário online.
- Implementação de uma plataforma online para recolha de dados do 'mundo-real', de forma continuada, sobre asma.

Potenciais limitações:

- Subrepresentatividade de doentes mais velhos e/ou menos aptos no uso de tecnologias da informação e comunicação – de acordo com a evolução do estudo serão consideradas metodologias para mitigar os efeitos das eventuais disparidades da amostra relativamente à população portuguesa, por exemplo pelo enriquecimento da amostra com participantes com asma registados em painéis de consumidores, ou métodos analíticos com base na informação pública de dados demográficos e de utilização de tecnologias.
- Perdas de seguimento inerentes ao desenho longitudinal do estudo, como por exemplo por perda do interesse do participante – de acordo com a taxa de perdas será implementado um plano de comunicação a longo prazo, incluindo lembretes e convites para participação recorrendo aos meios de comunicação digital.

INTRODUÇÃO

A asma é uma das doenças respiratórias crónicas mais prevalentes no mundo e uma causa frequente de incapacidade, má qualidade de vida e de utilização significativa dos recursos de saúde[1]. O elevado impacto da doença para os próprios e para a sociedade torna particularmente relevante a realização de uma monitorização contínua para avaliar o efeito de novas orientações clínicas e políticas de saúde.

O Inquérito Nacional sobre Asma (INAsma), realizado pela primeira vez em 2010, foi um estudo transversal baseado na população, que incluiu participantes de todas as idades e concelhos de Portugal e pretendeu estimar a prevalência e grau de controlo da asma. Os resultados deste estudo estimaram que na população portuguesa a prevalência de 'asma atual' era de 6,8%[2] e, com base no Teste do controlo da asma e rinite alérgica (CARAT)[3], verificou-se que em quase metade (43%) dos doentes a asma não estava controlada[4]. Com dados deste estudo foi estimado que, em Portugal, a asma no adulto custa mais de 380 milhões de euros por ano, correspondendo a uma média de 700€ por doente[5]. Cerca de 93% destes custos foram atribuíveis a custos diretos, sendo os relacionados com a utilização em emergência de cuidados de saúde (30,7%) e com o tratamento (37,4%) os responsáveis pelas maiores percentagens dos custos totais. A asma não controlada associou-se a custos mais elevados[5] e a pior qualidade de vida[4].

Passaram-se mais de 10 anos desde o último INAsma. Desde então, as recomendações internacionais[6] e nacio-

nais[7,8] sobre monitorização e tratamento da asma foram revistas e introduziram novas opções terapêuticas. Alguns exemplos são: 1) a recomendação de uso de corticoides inalados (ICS) sempre que for usado algum beta-agonista de curta duração (SABA); 2) o uso da combinação ICS-formoterol tanto como terapêutica de manutenção como de alívio; 3) novas combinações terapêuticas, como a vilanterol e furoato de fluticasona; 4) novos anticorpos monoclonais para o tratamento de asma grave; e 5) brometo de tiotrópio como opção terapêutica na asma moderada-grave. Estes avanços, com um potencial extraordinário na gestão da asma, tornam necessário atualizar a informação relacionada com o controlo e impacto da asma em Portugal.

Atualmente, com o predomínio do uso das redes móveis e da Internet como principais meios de comunicação, é inadequado repetir a metodologia usada no INAsma em 2010. Este baseou-se em entrevistas telefónicas através de telefones fixos, sendo necessária uma adaptação dos estudos futuros à nova realidade nacional. Em 2019, a ANACOM divulgou que 96,8% dos portugueses possuíam telemóvel, cerca de 75% acediam à Internet através dele[9] e 81% dos agregados familiares possuíam ligação à Internet em casa[10]. Assim, o uso ubiquitário de internet apresenta-se como uma clara oportunidade para introdução de novos métodos de recolha de dados a nível nacional. A realização de estudos observacionais longitudinais é indicada para monitorizar a evolução de medidas de resultado e para explorar o impacto de alterações na gestão de doenças crónicas. No entanto, estes estudos são comummente conduzidos usando métodos tradicionais de recrutamento e seguimento, de difícil implementação e acarretando custos elevados. O uso de ferramentas digitais, como plataformas online, correio eletrónico e redes sociais para a realização destes estudos é cada vez mais frequente[11-16]. Estas ferramentas permitem o recrutamento, a obtenção do consentimento informado e o preenchimento de questionários à distância, ultrapassando assim as barreiras de deslocação e minimizando o tempo despendido[15]. Apresentam, ainda, a vantagem de alcançar um grande número de pessoas de forma rápida e eficiente e de permitir o seu seguimento ao longo do tempo[17], estabelecendo uma coorte dinâmica de doentes – e a constituição de um painel online de doentes.

A evolução das tecnologias de informação e comunicação potencia a utilização de novos métodos de recolha de dados e permite a disponibilização de ferramentas digitais para a referida recolha de forma continuada. Estas são facilmente acessíveis, fornecendo os meios para a realização de estudos observacionais longitudinais do 'mundo-real' e de implementação rápida que respondam eficientemente às evoluções contínuas do conhecimento. Por outro lado, com os avanços relativamente ao conhecimento da asma em si, da sua classificação de gravidade, controlo e tratamentos disponíveis, torna-se necessário atualizar a informação relacionada com o controlo e impacto da asma em Portugal. Além disso, não temos conhecimento de estudos recentes que avaliem o controlo da asma de acordo com o degrau de tratamento nem que explorem o efeito no controlo da asma das alterações das recomendações internacionais ao longo dos últimos anos.

OBJETIVOS

O objetivo principal do PASMA 20-30 é a constituição de um painel online nacional de pessoas com asma para monitorização de variações do controlo da doença ao longo dos próximos 10 anos (2020-2030). Para tal pretendemos desenvolver e implementar uma plataforma online para recolha continuada de dados relacionados com a asma em Portugal e realizar um estudo inicial a curto prazo.

A curto prazo, no estudo observacional inicial, pretendemos estimar a variação, entre 2010 e 2021, da proporção de pessoas com asma não controlada em Portugal. Adicionalmente, pretendemos:

1) Descrever o controlo da asma em diferentes níveis de tratamento estabelecidos com base na dose de

ICS e terapêutica adicional, de acordo com as recomendações GINA;
2) Avaliar o impacto atual da asma não controlada na utilização de recursos de saúde;
3) Explorar o efeito das alterações das recomendações internacionais desde 2010 no controlo da asma.

MÉTODOS E ANÁLISES

Tipo de estudo

Este é um estudo observacional contínuo baseado na constituição de uma coorte dinâmica de pessoas com asma, usando uma plataforma online que irá incluir um questionário inicial (1.ª fase de recolha de dados) a ser complementado por questões adicionais de caracterização (2.ª fase de recolha de dados). O questionário será aplicado usando procedimentos estandardizados apoiados por Computer Assisted Web Interviews (CAWI).

Participantes e tamanho da amostra

Para o estudo inicial, transversal, a curto prazo, serão incluídos neste painel indivíduos com pelo menos 15 anos, residentes em Portugal, com acesso à Internet e identificados como tendo asma atual através da aplicação de um questionário de rastreio validado[18], indicação de diagnóstico prévio de asma ou indicação de uso de medicação para a asma na fase 1.

A população residente em Portugal em 2019 era de 10 286 263 habitantes, 8 883 988 com idade igual ou superior a 15 anos[19]. Para o cálculo da amostra para o estudo observacional inicial, considerando uma proporção de 43% de pessoas com asma não controlada[4], com margem de erro de 5% e intervalo de confiança de 95%, necessitamos de uma amostra de pelo menos 360 pessoas com asma, com idade igual ou superior a 15 anos da população geral; assumindo que 20% dos participantes podem estar classificados incorretamente como tendo asma[20]; e tendo em conta uma perda de seguimento entre o questionário inicial e as questões complementares de 50%, precisamos de recrutar pelo menos 650 participantes da população geral.

O PASMA 20-30 desenvolve-se ao longo de quatro tarefas detalhadas a seguir. A organização temporal das tarefas e as suas interdependências são apresentadas na Figura 1. Foram ainda definidas cinco metas de realização do desenvolvimento do projeto e deteção de atrasos.

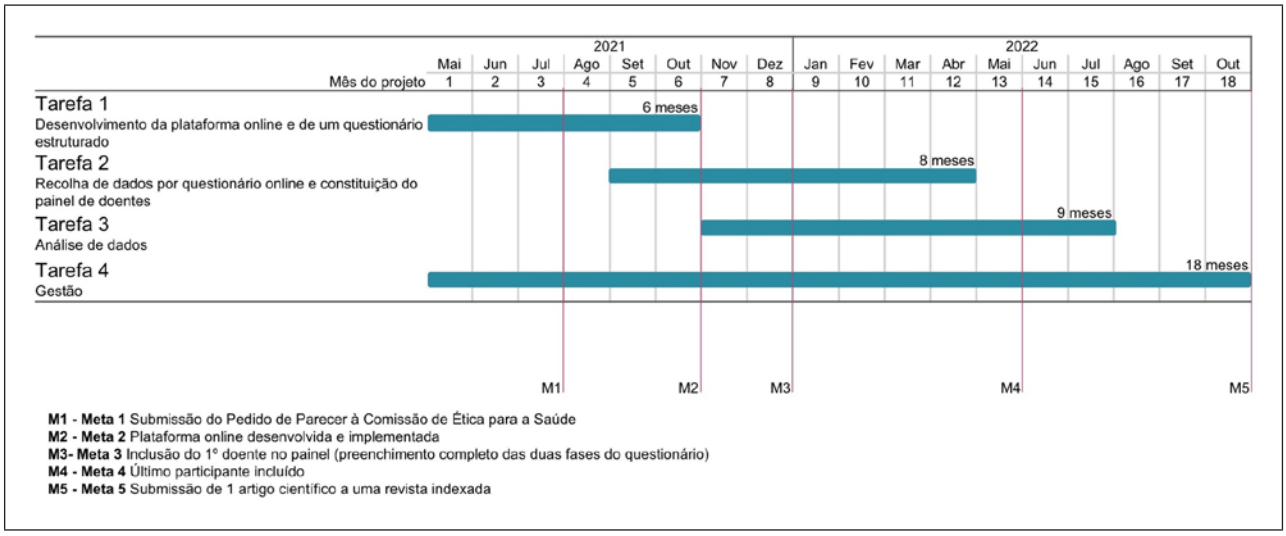


Figura 1. Cronograma das tarefas do PASMA 20-30. A vermelho no cronograma estão assinaladas as metas de realização (M)

Desenvolvimento da plataforma online e de um questionário estruturado (Tarefa 1)

A plataforma online do PASMA 20-30 será desenvolvida e implementada de forma a possibilitar o recrutamento de participantes, o preenchimento do consentimento informado e o questionário online a usar nas duas fases de recolha de dados. Os questionários online serão apoiados por metodologia CAWI. Para minimizar o esforço de preenchimento pelo participante, o design do questionário será atrativo e funcional e será implementado um algoritmo para filtrar e reordenar as questões, de forma a que apenas as relevantes para cada participante sejam apresentadas. O sistema CAWI irá incluir a construção da base de dados seguindo todos os requisitos de segurança e proteção necessários pelo Regulamento Geral de Proteção de Dados. A base de dados CAWI ficará alojada num servidor da Universidade do Porto. A plataforma permitirá ainda apresentar os resultados preliminares de alguns indicadores de evolução do projeto, motivando a participação.

A estrutura do questionário permitirá acomodar os tópicos relevantes à investigação minimizando o esforço de preenchimento pelo participante, sendo feito um balanço entre os conteúdos do questionário nas duas fases de preenchimento. A primeira fase será para preenchimento por todos os participantes e serão incluídas questões relativas a 4 domínios: a) dados sociodemográficos; b) confirmação de presença de asma através de um questionário de rastreio validado[18]; c) avaliação do controlo da asma pelo doente (CARAT)[3,21]; d) caracterização clínica e do uso de recursos de saúde devido à asma.

A segunda fase é complementar da primeira, sendo preenchida apenas por participantes com asma atual confirmada, e inclui questões sobre: a) medicação (organizadas em 3 domínios: nome e dosagem, duração do tratamento para cada uma das medicações para a asma e adesão à medicação); b) qualidade de vida; c) absentismo e presentiismo; d) comorbilidades.

A tarefa terá a duração de 6 meses e no final será obtido uma plataforma online do projeto e um questionário online em duas fases para recrutamento e recolha de dados.

Recolha de dados por questionário online e constituição do painel de doentes (Tarefa 2)

Será delineada uma estratégia de recrutamento estandardizada. A disseminação do questionário online será planeada com apoio de consultoria em marketing digital, sendo antecipado o uso de redes sociais e pedido de apoio para divulgação entre os seus membros a sociedades científicas, profissionais de saúde e associações de doentes (e.g., SPAIC, SPP, GRESP, APA). O plano de comunicação incluirá também ações de divulgação a longo prazo para garantir que a amostra de participantes se mantém ao longo dos dez anos. Estas ações incluirão o envolvimento das pessoas com asma que participarem em 2021. Para mitigação de possíveis vieses de seleção poderá ser necessário enriquecer a amostra recorrendo a estratégias de recrutamento alternativas (ver limitações descritas na secção "Resultados esperados e possíveis limitações").

O objetivo desta tarefa é recolher dados através de um questionário online estruturado em duas fases, implementado na Tarefa 1.

Antes de avançar com qualquer recolha de dados será realizado um estudo de usabilidade com 9 indivíduos provenientes de diferentes regiões do país. O objetivo é avaliar a clareza do questionário nas suas duas fases e o tempo de administração. Baseado no *feedback* recebido, serão realizadas as alterações necessárias aos questionários (Tarefa 1).

A recolha de dados será realizada por questionário online aplicado através de procedimentos estandardizados (CAWI). Adolescentes (com 15 ou mais anos) e adultos com asma, residentes em Portugal, serão convidados a participar. Todos os participantes terão de fornecer o seu consentimento informado online no início de cada uma das fases – quando acederem ao *link*, os participantes irão ter acesso a uma breve apresentação dos objetivos do estudo, da sua duração e das garantias de anonimato e confidencialidade e serão convidados a selecionar um bo-

tão de concordância antes de prosseguirem com o questionário. É também nesta fase que cada participante poderá escolher o grau de envolvimento com o projeto, podendo selecionar de acordo com a sua preferência participar apenas uma vez ou integrar o painel online e ser contactado para participar no PASMA a cada 12 ou 24 meses para ter um envolvimento mais ativo em várias fases do ciclo de investigação de estudos específicos.

No final do preenchimento do questionário da 1.ª fase, o participante poderá escolher, de acordo com a sua conveniência, quando pretende ser lembrado por notificação para responder às questões complementares (2.ª fase), podendo ser preenchidas imediatamente após o questionário inicial ou até 7 dias depois.

Para assegurar a qualidade dos dados, o seu registo será monitorizado continuamente e serão implementados lembretes automáticos, em caso de o preenchimento do questionário ter sido interrompido. Outras medidas de garantia de qualidade dos dados e minimização dos vieses serão implementadas nas duas fases nomeadamente verificação periódica da validade dos dados e algoritmos para deteção de valores extremos, omissos ou não lógicos.

A tarefa terá a duração de 8 meses e no final será obtido um painel dinâmico de pessoas com asma.

Análise de dados (Tarefa 3)

A privacidade dos participantes será assegurada por técnicas de pseudoanonimização, para que todas as análises sejam realizadas com a base de dados anonimizada. De forma a garantir a privacidade dos doentes, um código alfanumérico anónimo será atribuído a cada participante. Esta base de dados será armazenada num servidor protegido da Universidade do Porto, que irá realizar cópias de segurança diárias e terá uma proteção *firewall*. Apenas os membros da equipa de investigação autorizados terão acesso à base de dados.

As características da amostra de participantes serão comparadas com as da população portuguesa, disponibilizadas publicamente. A partir desta análise poderá ser necessário recorrer a métodos analíticos com base em *propensity-scores* para mitigação de possíveis vieses de seleção (ver limitações descritas na secção "Resultados esperados e possíveis limitações").

Técnicas de estatística descritiva serão usadas para caracterizar as variáveis recolhidas em cada momento. A normalidade de cada variável será avaliada com o teste de Shapiro-Wilk e por análise visual da sua distribuição. As frequências relativas e absolutas serão usadas para caracterizar as variáveis categóricas e a média, mediana, desvio-padrão, máximo, mínimo e intervalo interquartil, selecionados de acordo com a distribuição dos dados para caracterizar as variáveis contínuas. Recorrer-se-á também à estatística inferencial. Este estudo irá focar-se na análise do controlo da asma definido pela pontuação global no CARAT >24 ou pontuação das vias aéreas inferiores ≥16[3]. Fatores associados ao controlo da asma, incluindo medicação para a asma, utilização de cuidados de saúde e alterações das recomendações para o controlo da asma, serão avaliadas. As informações relativas à medicação para a asma serão interpretadas de acordo com as diretivas GINA para determinação do degrau de tratamento[6]. A comparação de proporções de controlo/ /não controlo será realizada através de testes de qui-quadrado. Para uma maior compreensão dos fatores que afetam a distribuição do controlo e gravidade da asma serão também explorados modelos de regressão logística uni e multivariados. O nível de significância será definido como 0,05. Antecipa-se que as análises estatísticas serão realizadas com os *softwares* IBM SPSS Statistics (IBM Corporation, Armonk, NY, USA), RStudio (RStudio, Inc.) e os gráficos elaborados com o *software* GraphPad Prism versão 5.01 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

Gestão (Tarefa 4)

Ao longo de todo o projeto, desde o seu desenho até ao apoio financeiro e disseminação de resultados, ocorrerão tarefas de coordenação, incluindo: 1) preparação e submissão de pedidos de parecer junto de uma comissão de ética para a saúde; 2) gestão do apoio financeiro;

3) definição de revistas internacionais e congressos para submissão dos resultados, de acordo com o apoio financeiro; 4) definição de estratégias de disseminação do projeto (sociedades científicas, redes sociais); 5) estabelecimento de contactos e protocolos de colaboração com os fornecedores de serviços de marketing digital.

RESULTADOS ESPERADOS E POSSÍVEIS LIMITAÇÕES

Este projeto permitirá a constituição de um painel dinâmico de pessoas com asma obtido através de um questionário online. Por outro lado, a implementação de uma plataforma online para recolha de dados sobre asma de forma continuada permitirá a obtenção de informação atual e robusta sobre o controlo da asma baseada em dados do 'mundo-real', colhida usando um método de fácil implementação, de elevado alcance e com possibilidade de atualização frequente.

A curto prazo, usando os dados colhidos durante a execução deste projeto, obteremos uma estimativa atualizada da proporção de pessoas com asma não controlada em Portugal e o degrau de tratamento e classificação da gravidade da doença dos participantes.

Embora o uso de um painel online de doentes seja inovador no contexto nacional, é importante considerar que as estratégias de recrutamento escolhidas poderão introduzir potenciais vieses e afetar a representatividade da amostra. É expectável que, à semelhança de outros estudos, este método de recolha de dados privilegie os mais jovens e mais aptos ao uso de tecnologias da informação e comunicação[15]. Assim, poderá vir a ser necessário no futuro, e de acordo com a evolução do projeto, implementar estratégias de recrutamento alternativas englobando participantes com asma registados em painéis de consumidores que poderão assegurar uma maior representatividade populacional ou recorrer a métodos analíticos com base em *propensity-scores* que contribuam para mitigar as eventuais disparidades da amostra relativamente à população portuguesa (na informação pública de dados demográficos e de utilização de tecnologias). Outra dificuldade a considerar num estudo longitudinal são as perdas de seguimento. Para melhorar a retenção serão implementados lembretes para conclusão de preenchimento das duas fases do questionário e convites para participação nos questionários de seguimento conforme a preferência de cada participante. Adicionalmente, a retenção poderá ser melhorada recorrendo às redes sociais, por exemplo pelo convite a juntar-se a um grupo do facebook e/ou seguir um *twitter feed*.

A constituição de um painel de pessoas com asma e a disponibilização de uma ferramenta online de apoio a estudos observacionais sobre asma têm o potencial de gerar conhecimento sobre a evolução da gestão da doença a nível nacional que irão informar políticas de saúde com vista a melhorar os resultados clínicos das pessoas com asma em Portugal.

ÉTICA E DIVULGAÇÃO

Este projeto será conduzido de acordo com a Declaração de Helsínquia e a Convenção de Oviedo. Os dados pessoais dos participantes serão recolhidos e tratados de acordo com a lei portuguesa de proteção de dados (Lei n.º 67/98, de 26 de outubro) e o Regulamento Geral Europeu de Proteção de Dados (GDPR-EU 2016/679), executado e aplicado em Portugal pelas Leis 58 e 59/2019. Serão obtidas as aprovações junto de uma comissão de ética para a saúde. Os consentimentos informados por parte do participante e do seu representante legal (no caso de menores de 18 anos) serão obtidos antes de qualquer recolha de dados de participantes, de acordo com os requisitos do GDPR-EU. Os consentimentos informados incluirão informações claras aos participantes sobre os tipos de dados pessoais e sensíveis a recolher, como serão processados, para que finalidades e quais as medidas de segurança em vigor para garantir privacidade, bem como o período de conservação ou sua eliminação

após o término do projeto. Neste projeto serão incluídos indivíduos com pelo menos 15 anos, residentes em Portugal, com acesso à Internet e identificados como tendo asma atual. Como não haverá alteração em nenhum medicamento prescrito, não se preveem riscos para os participantes relacionados com a participação neste estudo. A participação será voluntária e os participantes terão a garantia de opção de autoexclusão a qualquer momento e por qualquer motivo, sem qualquer consequência. A privacidade dos participantes será garantida por técnicas de pseudoanonimização, que geram um código numérico unívoco anónimo para cada indivíduo, e a chave de codificação será encriptada e armazenada, gerida com segurança, separadamente dos dados pessoais e dos relacionados com a saúde. Todas as análises de dados serão realizadas nas versões pseudoanonimizadas das bases de dados originais. Os computadores que contêm dados pessoais dos doentes estarão sujeitos a proteção por senha conhecida apenas pelo investigador principal (IP). O armazenamento dos dados do participante será gerido através de uma base de dados central estruturada de forma a garantir a privacidade e a proteção de dados pessoais. Apenas o IP terá acesso à base de dados original. Esta base de dados ficará guardada num servidor da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (FMUP), com *backups* diários e proteção *firewall*.

Os resultados do projeto PASMA 20-30 serão disseminados entre doentes, público geral, investigadores, profissionais de saúde e decisores de políticas de saúde.

O projeto usará as redes sociais (p. ex. Youtube, Facebook, Instagram, Twitter) e outros canais digitais (p. ex. comunicados à Imprensa) para divulgar de forma atrativa os resultados do projeto ao público (por exemplo *podcasts*, vídeos, brochuras, notícias). As informações e atualizações do projeto também serão divulgadas em www.cintesis.eu, numa secção especial da *newsletter* mensal do CINTESIS (> 2000 assinantes) e nas redes sociais da unidade de pesquisa (Facebook, LinkedIn e Twitter). O gabinete de comunicações do CINTESIS/FMUP auxiliará na produção desses materiais. Os resultados serão apresentados à comunidade científica por meio da publicação de pelo menos um artigo científico original numa revista com revisão por pares e pela apresentação do projeto em pelo menos duas reuniões científicas.

Conflito de interesses

Os autores declaram que não existem conflitos de interesses.

ORCID:

Ana Sá-Sousa 0000-0002-9429-6863
Ana M Pereira 0000-0002-5468-0932
João G Marques 0000-0002-9199-1887
Nuno Neuparth 0000-0001-5149-7473
João A Fonseca 0000-0002-0887-8796
Cristina Jácome 0000-0002-1151-8791

Autor correspondente:
Ana Sá-Sousa
CINTESIS – Rua Dr. Plácido da Costa, s/n
4200-450, Porto, Portugal
Email: anasasousa@gmail.com

REFERÊNCIAS

1. GBD 2015 Chronic Respiratory Disease Collaborators. Chronic Respiratory Disease Collaborators. Global, regional, and national deaths, prevalence, disability-adjusted life years, and years lived with disability for chronic obstructive pulmonary disease and asthma, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. Lancet Respir Med 2017;5:691-706. doi: 10.1016/S2213-2600(17)30293-X.
2. Sa-Sousa A, Morais-Almeida M, Azevedo LF, Carvalho R, Jacinto T, Todo-Bom A, *et al.* Prevalence of asthma in Portugal – The Portuguese National Asthma Survey. Clin Transl Allergy 2012;2:15. doi: 10.1186/2045-7022-2-15.
3. Fonseca JA, Nogueira-Silva L, Morais-Almeida M, Azevedo L, Sa-Sousa A, Branco-Ferreira M, *et al.* Validation of a questionnaire (CARAT10) to assess rhinitis and asthma in patients with asthma. Allergy 2010;65:1042–8. doi: 10.1111/j.1398-9995.2009.02310.x.
4. Sá-Sousa A, Amaral R, Morais-Almeida M, Araújo L, Azevedo L, Bugalho-Almeida A, *et al.* Asthma control in the Portuguese Na-

tional Asthma Survey. Rev Port Pneumol 2015;21:209–213. doi: 10.1016/j.rppnen.2014.08.003.

5. Barbosa JP, Ferreira-Magalhães M, Sá-Sousa A, Azevedo LF, Fonseca JA. Cost of asthma in Portuguese adults: A population-based, cost-of-illness study. Rev Port Pneumol (English Ed [Internet]. 2017 [cited 2021 May 13];23(6):323-30. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.rppnen.2017.07.003.
6. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and prevention [Internet]. 2020. Available from: www.ginasthma.org.
7. Programa nacional para as doenças respiratórias: boas práticas e orientações para o controlo da asma no adulto e na criança [Internet]. 2014 [cited 2021 May 13]. Available from: https://www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/boas-praticas-e-orientacoes-para-o-controlo-da-asma-no-adulto-e-na-crianca-2-edicao-pdf.aspx.
8. Processo assistencial integrado da asma na criança e no adulto [Internet]. 2018 [cited 2021 May 13]. Available from: https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0122018-de-12062018-pdf.aspx.
9. Neves S. 75% dos portugueses acedem à Internet pelo telemóvel [Internet]. Público. [cited 2021 May 13]. Available from: https://www.publico.pt/2019/05/21/economia/noticia/50-100-portugueses-usa-servicos-telefone-fixo-1873613.
10. Agregados domésticos privados com computador, com ligação à Internet e com ligação à Internet através de banda larga (%) [Internet]. PORDATA. [cited 2020 Aug 5]. Available from: https://www.pordata.pt/Portugal/Agregados+domésticos+privados+com+computador++com+ligação+à+Internet+e+com+ligação+à+Internet+através+de+banda+larga+(percentagem)-1158.
11. Applequist J, Burroughs C, Ramirez AJ, Merkel PA, Rothenberg ME, Trapnell B, *et al*. A novel approach to conducting clinical trials in the community setting: utilizing patient-driven platforms and social media to drive web-based patient recruitment. BMC Med Res Methodol 2020;20:58. doi: 10.1186/s12874-020-00926-y.
12. Whitaker C, Stevelink S, Fear N. The use of Facebook in recruiting participants for health research purposes: A systematic review. J Med Internet Res 2017;28;19:e290. doi: 10.2196/jmir.7071.
13. Jibb LA, Khan JS, Seth P, Lalloo C, Mulrooney L, Nicholson K, *et al*. Electronic data capture versus conventional data collection methods in clinical pain studies: Systematic review and meta-analysis. J Med Internet Res 2020;22:e16480. doi: 10.2196/16480.
14. Mishra GD, Hockey R, Powers J, Loxton D, Tooth L, Rowlands I, *et al*. Recruitment via the Internet and social networking sites: The 1989-1995 cohort of the australian longitudinal study on women's health. J Med Internet Res 2014;16:e279. doi: 10.2196/jmir.3788.
15. Gaupp-Berghausen M, Raser E, Anaya-Boig E, Avila-Palencia I, de Nazelle A, Dons E, *et al*. Evaluation of different recruitment methods: Longitudinal, web-based, pan-european physical activity through sustainable transport approaches (PASTA) Project. J Med Internet Res 2019;21:e11492. doi: 10.2196/11492.
16. COSMOS: Investigating the long-term health of mobile phone users [Internet]. Imperial College London [cited 2021 May 13]. Available from: http://www.ukcosmos.org.
17. Toledano MB, Smith RB, Brook JP, Douglass M, Elliott P. How to establish and follow up a large prospective cohort study in the 21st century – lessons from UK COSMOS. PLoS One 2015;10:e0131521. doi: 10.1371/journal.pone.0131521.
18. Sa-Sousa A, Pereira AM, Almeida R, Araujo L, Couto M, Jacinto T, *et al*. Adult asthma scores-development and validation of multivariable scores to identify asthma in surveys. J Allergy Clin Immunol Pract 2019;7:183-90.e6. doi: 10.1016/j.jaip.2018.06.024.
19. População residente: total e por grandes grupos etários [Internet]. PORDATA [cited 2021 May 13]. Available from: https://www.pordata.pt/Portugal/População+residente+total+e+por+grandes+grupos+etários-513.
20. Kavanagh J, Jackson DJ, Kent BD. Over- and under-diagnosis in asthma. Breathe 2019;15:e20-e27.
21. Jácome C, Pereira AM, Almeida R, Magalhaes MF, Couto M, Araujo L, *et al*. Patient-physician discordance in assessment of adherence to inhaled sectional controller medication: a cross-sectional analysis of two cohorts. BMJ Open 2019;9(e031732):1-10. doi: 10.1136/bmjopen-2019-031732.

Milk and cow's meat allergy in a child: A clinical case

Alergia ao leite e carne de vaca em idade pediátrica: Caso clínico

Data de receção / *Received in*: 23/9/2020
Data de aceitação / *Accepted for publication in*: 21/12/2020

Rev Port Imunoalergologia 2021; 29 (4): 273-277

Maria Luís Marques[1], Inês Falcão[1], Moisés Labrador-Horrillo[2], Helena Falcão[1], Leonor Cunha[1]

[1] Allergy and Clinical Immunology Department. Hospital Geral de Santo António, Centro Hospitalar Universitário do Porto, Porto, Portugal
[2] Sección de Alergia. Hospital Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona, Espanha

ABSTRACT

Allergy to bovine serum albumin is the main predictor of beef allergy associated with cow's milk proteins allergy. We report a case of a 3-year-old child with cow's milk proteins allergy since the age of 6 months who, after some ingestions of beef, developed episodes of irritability, urticaria and syncope. Specific IgE to beef, oral food challenge with medium rare cooked beef and specific IgE to bovine serum albumin were all positive, but an oral food challenge with well cooked beef was tolerated. Allergy to bovine serum albumin is not usually associated with severe reactions, since it is a thermolabile protein, however, the process of cooking meat may be insufficient to have an effect on the complex matrix of meat and associated serum albumins. The irregular pattern of the episodes and the previous diagnosis of cow's milk proteins allergy may act as confounding factors leading to a delayed diagnosis.

Keywords: *Bovine serum albumin, cow's milk protein allergy, food allergy, meat allergy.*

© 2021 Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica. Published by Publicações Ciência & Vida.
This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

RESUMO

A alergia à albumina sérica bovina é o principal preditor de alergia à carne de vaca associada à alergia às proteínas do leite de vaca. Criança de 3 anos com alergia às proteínas do leite de vaca diagnosticada aos 6 meses que, após algumas ingestões de carne de vaca, desenvolveu episódios de irritabilidade, urticária e síncope. A IgE específica para

http://doi.org/10.32932/rpia.2021.12.072

carne de vaca, a prova de provocação oral com carne de vaca medianamente cozinhada e a IgE específica para a albumina sérica bovina foram positivas, porém a prova de provocação oral com carne de vaca bem cozinhada foi tolerada. A alergia à albumina sérica bovina geralmente não está associada a reações graves, dado tratar-se de uma proteína termolábil, contudo, o processo de cozedura da carne pode ser insuficiente para afetar a complexa matriz da carne e albuminas séricas associadas. O padrão irregular dos episódios e o diagnóstico prévio de alergia às proteínas do leite de vaca podem ser fatores confundidores levando ao diagnóstico tardio.

Palavras-chave: Alergia a carne, alergia a proteínas do leite de vaca, alergia alimentar, albumina sérica bovina

© 2021 Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica. Publicado por Publicações Ciência & Vida.
Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

INTRODUCTION

Meat allergy is becoming an increasingly recognized condition and a higher prevalence is seen in pediatric age compared to adults. In some case series meat allergy seems to represent 3-15% of all pediatric cases of food allergy[1,2]. The real prevalence of meat allergy in children with cow's milk protein allergy (CMPA) is difficult to estimate. Few studies address this question, generally small and with different study methods, possibly leading to overestimations on its true epidemiology[3]. Only two studies reported prevalence of meat allergy in CMPA based on oral food challenges (OFC), with study samples of 15 and 25 patients, and they found that the estimated prevalence of meat allergy is between 13%[4] and 20%[5], respectively.

When meat allergy is diagnosed during early childhood, the prognosis is usually good with clinical resolution during the first years of life[1,3].

CASE REPORT

Three-year-old female child with episodes of recurrent vomiting since the first days of life under exclusive breastfeeding, and failure to thrive during the first months of life. The past history was unremarkable during pregnancy. The endocrine metabolic disease screening was negative at the 7th day of life. She had been under exclusive breastfeeding until one month and a half and started an infant formula at that time.

The investigation workup conducted by general pediatrician included: blood count, biochemistry, abdominal ultrasound, thyroid function tests, urinary culture, search for viruses in stools, which were all unremarkable.

Anti-reflux measures and a diet without CMP were proposed, with only limited adherence and a partial improvement in symptoms was noticed. At the age of 11 months an allergy study was carried out that revealed: IgE specific (sIgE) to milk 23.8 kU_A/L; *nBos d 4* α-lactalbumin 5.52 kU_A/L; *nBos d 5* β-lactoglobulin 2.82 kU_A/L and *nBos d* 8 casein 7.59 kU_A/L. An open OFC with milk was carried out, with peri-oral erythema 20 minutes after 1ml of milk intake, confirming the diagnosis of CMPA. A diet without CMP was reinforced with improvement in weight and height and resolution of recurrent vomiting.

After the OFC that confirmed the diagnosis of CMPA, several inadvertent ingestions of milk and products containing milk occurred, despite the counseling given on avoidance measures. The introduction of beef occurred around the 6th month of age, with 2-3 ingestions per week. At the age of 7 months, minutes after ingestion of a soup with beef, the mother noticed appearance of facial erythema, palpebral and lip angioedema and irritability and, at

Table 1. Values of specific IgE along the course of the disease

Specific IgE (kUA/L)	Year 2015	Year 2017	Year 2018
Milk	23,8	–	18,9
nBos d 4 α-lactalbumin	5,52	12,80	5,08
nBos d 5 β-lactoglobulin	2,82	3,7	0,91
nBos d 8 casein	7,59	16,4	4,66
Beef	–	–	6,66
Pork	–	–	1,21
Skin Prick Tests*			
Histamine	–	–	6mm
Cow's milk	–	–	10mm
nBos d 4 α-lactalbumin	–	–	4mm
nBos d 5 β-lactoglobulin	–	–	4mm
nBos d 8 casein	–	–	6mm
Beef	–	–	N/A
Pork	–	–	0mm
Chicken's meat	–	–	0mm

* Commercial extracts, Leti®, Madrid, Spain; N/A, Not available.

the age of 2 years an episode of syncope minutes after the ingestion of beef was reported. A few more episodes of less severity occurred and, in those, mother couldn't exclude any contact with milk or products containing milk and did not administer any medication or searched for medical care. Possible allergic reactions in relation to beef were not suspected by the family, since the episodes did not occur with most beef ingestions and some of them occurred with possible, but uncertain milk contamination. She had never ingested pork.

Skin prick tests (commercial extracts, Leti®, Madrid, Spain) were positive for milk extract and milk proteins (nBos d 4 α-lactalbumin, nBos d 5 β-lactoblobulin, nBos d 8 casein) and negative for chicken and pork (clinical criteria for positivity >3mm comparing to negative control; commercial extracts for beef were not available).

Specific IgEs were positive to milk, *nBos d 4* α-lactalbumin, *nBos d 5* β-lactoblobulin, *nBos d 8* casein, cow's, pork (Table 1) and *nBos* d 6 (Table 2).

An OFC with well-cooked beef (steamed for 20 minutes at 100°C) was performed and was negative until a total of 30 gr. An OFC with medium rare beef (fried 4 minutes at 45°C) was performed and was positive within 10 minutes after ingestion of approximately 5 gr, with appearance of lip edema, peri-labial erythema and local pruritus.

In order to determine if *Bos d 6* could be the relevant allergen we performed an inhibition assay, briefly 150 µl of patient serum was incubated overnight with one sponge of ImmunoCAP e204 (*nBos d 6*), the next day we recovered the serum inhibited and performed ImmunoCAP with the patient serum and the patient serum inhibited.

Percentages of inhibition were calculated with the formula (1- (sIgE inhibited/sIgE control) *100) (Table 2).

Table 2. ImmunoCAP® and ImmunoCAP inhibition

ImmunoCAP® (kU_A/l)	• Milk IgE (f2) 19.0 • Beef IgE (f27) 7.87 • Pork IgE (f26) 1.27 • IgE nBos d 6 (e204) 9.92 • IgE nSus s PSA (pork PSA) (e222) 1.45
InmunoCAP IgE inhibited with "sponge" e204 (nBos d 6)	• Milk IgE (f2) 12.4 kUA/l (35% inhibition) • Beef IgE (f27) 2.81 kUA/l (64% inhibition) • Pork IgE (f26) 0.54 kUA/l (57% inhibition) • IgE nBos d 6 (e204) 3.54 kUA/l (64% inhibition) • IgE nSus s PSA (pork PSA) (e222) 0.75 kUA/l (48% inhibition)

Bos d 4 – α-lactoalbumin; Bos d 5 – β-lactoglobulin; nBos d 6 – Bovine serum albumin; Bos d 8 – Casein

Some of the described episodes were considered as probable anaphylaxis, according to clinical criteria and a self-injector of epinephrine (150 mcg) was prescribed, along with avoidance of the implicated foods, dietary advice, anti-histamine and oral corticosteroid for mild reactions.

DISCUSSION

Immunological mechanisms associated with meat allergy can be IgE or non-IgE mediated. Clinically, three main forms of IgE-mediated meat allergy are now recognized: primary meat allergy, pork-cat syndrome and alpha-gal syndrome[6,7].

The list of allergens associated with meat allergy includes proteins and some carbohydrates. Serum proteins and immunoglobulins seem to be the primary allergens of beef and meat from other mammals[6,7]. Serum albumin has been described as implicated in cow, pork, rabbit, lamb and chicken's meat allergy[7,8]. Three major allergens (*Bos d 6, Bos d 7,* α-*gal*) are already identified as main causative agents implicated in bovine meat allergy[7].

The existence of cross-reactivity between beef and cow's milk has been attributed to serum albumin and gamma-immunoglobulins. The low reported prevalence of meat allergy may be partially explained by the thermal lability of serum albumin and the fact that most of the meat is ingested in the cooked form[5].

In our case, sensitization to *Bos d 6* explains meat allergy, which can be showed by the inhibition that *Bos d 6* achieves in beef and pork IgE in ImmunoCAP.

The clinical presentation of a beef allergy in children is challenging as the symptoms in the first years of life can be unspecific; the presence of other food allergies, such as CMPA, may be a confounding variable and the presence of symptoms is dependent on the cooking and processing status. Since *Bos d 6* is a heat labile protein, the process of cooking beef may be, in some cases, insufficient to have an effect on the complex matrix of meat and the associated serum albumins. The performance of two OFC, with well-cooked and medium-rare meat, is of great interest given that the results can be absolutely different, as the effect of cooking in meat allergy is already known. The authors consider that this strategy is of utmost importance since that a tolerance to well-cooked meat may assure a meat intake in a child with diet deficiencies, and OFC with rare meat allows to discard meat allergy. Considering tolerance to other mammalian meat, such as pork or lamb, there has been little research into whether children allergic to beef can tolerate it or not, however, considering the high degree of homology between mammalian albumins it is suggested that there is significant risk of IgE cross-reactivity between these species[8].

Considering the early diagnosis, the resolution of the symptoms within the first years of life is expected. Since meat is an important source of protein, challenging in order to evaluate development of tolerance is advisable. After exposing to parents all our concerns regarding diet deficiencies, risk of reactions and expectations on development of tolerance, parents preferred waiting to introduce meat until tolerance to medium-rare meat was achieved and proved with OFC.

Conflito de interesses

Os autores declaram que não existem conflitos de interesses.

ORCID:

Maria Luís Marques 0000-0003-2241-7889

Inês Falcão 0000-0002-4783-2539

Moisés Labrador-Horrillo 0000-0003-3222-2380

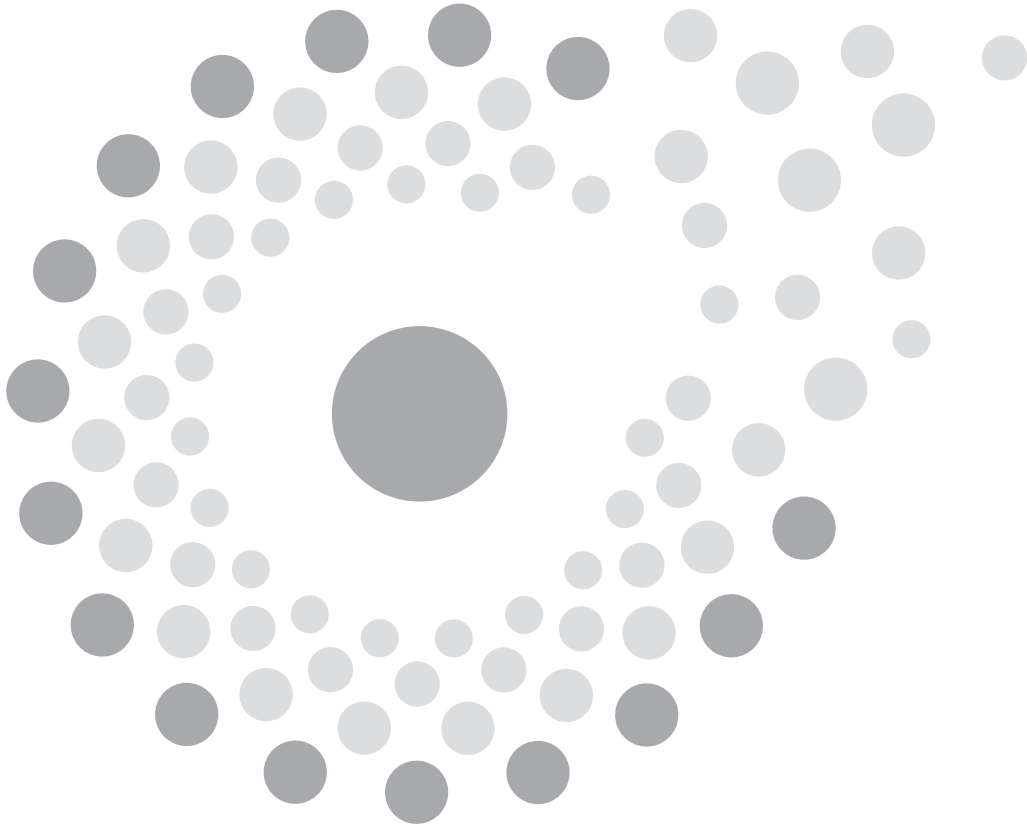
Helena Falcão 0000-0002-4503-4138

Leonor Cunha 0000-0002-3680-3687

Autor correpondente:
Maria Luís Marques
Centro Hospitalar Universitário do Porto
Largo Prof. Abel Salazar
4099-001 – Porto, Portugal
Email: maluis234@gmail.com

REFERÊNCIAS

1. Crespo JF, Pascual C, Burks AW, Helm RM, Esteban MM. Frequency of food allergy in a pediatric population from Spain. Pediatr Allergy Immunol 1995;6:39-43. doi: 10.1111/j.1399-3038.1995.tb00256.x.
2. Steinke M, Fiocchi A, Kirchlechner V, Ballmer-Weber B, Brockow K, Hischenhuber C, *et al.* Perceived Food Allergy in Children in 10 European Nations. Int Arch Allergy Immunol 2007;143:290-5. doi:10.1159/000100575.
3. Martelli A, De Chiara A, Corvo M, Restani P, Fiocchi A. Beef allergy in children with cow's milk allergy; cow's milk allergy in children with beef allergy. Ann Allergy Asthma Immunol 2002; 89:38-43. doi:10.1016/S1081-1206(10)62121-7.
4. Sampson HA. Food hypersensitivity as a pathogenic factor in atopic dermatitis. N Engl Reg Allergy Proc 1986;7:511-9. doi: 10.2500/108854186779045412.
5. Werfel S, Cooke S, Sampson H. Clinical reactivity to beef in children allergic to cow's milk. J Allergy Clin Immunol 1997;99:293-300. doi:10.1016/S0091-6749(97)70045-9.
6. Wilson JM, Platts-Mills TAE. Red meat allergy in children and adults: Curr Opin Allergy Clin Immunol 2019;19:229-35. doi:10.1097/ACI.0000000000000523.
7. Wilson JM, Platts-Mills TAE. Meat allergy and allergens. Mol Immunol. 2018;100:107-12. doi:10.1016/j.molimm.2018.03.018.
8. Chruszcz M, Mikolajczak K, Mank N, Majorek KA, Porebski PJ, Minor W. Serum albumins-unusual allergens. Biochim Biophys Acta 2013;1830:5375-81. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.06.016.



Rev Port Imunoalergologia 2021; 29 (4): 279-280

Coordenação: Graça Loureiro, Ana Luísa Moura

SPECIALIST CARE IN INDIVIDUALS WITH ASTHMA WHO REQUIRED HOSPITALIZATION: A RETROSPECTIVE POPULATION-BASED STUDY

Tetyana Kendzerska, Shawn D. Aaron, Moussa Meteb, Andrea S. Gershon, Teresa To, *et al.*

J Allergy Clin Immunol Pract, 2021

Introdução: Doentes com asma grave que estão em risco de exacerbações devem receber cuidados especializados. No entanto, o seguimento padrão para estes doentes no mundo real não é claro. **Objectivo:** Descrever o padrão de seguimento dos asmáticos que necessitaram de hospitalização e identificar os fatores associados ao acesso de cuidados especializados na asma. **Métodos:** Foi um estudo retrospetivo, de base populacional, que usou dados administrativos de saúde de duas províncias canadianas. Foram incluídos indivíduos entre os 14 e 45 anos, com diagnóstico recente de asma entre 2006 e 2016 e que tiveram pelo menos uma hospitalização por asma até 5 anos após o diagnóstico inicial de asma. Primeiro, calcularam as frequências de atendimento nos cuidados primários e especializados em torno do diagnóstico de asma: 1 ano antes e 2 anos depois num período de 6 meses. Em seguida, entre os indivíduos diagnosticados com asma por um médico nos cuidados primários, usaram regressões de Cox para identificar os fatores associados ao atendimento de cuidados especializados. **Resultados:** Para 1862 indivíduos incluídos foi descoberto que a maioria (‡ 71%) foi observada por médicos nos cuidados primários 1 ano antes e 2 anos após o diagnóstico de asma. A percentagem de indivíduos atendidos pelo menos uma vez por um especialista em asma e/ou doenças respiratórias relacionadas com asma, durante os primeiros 6 meses desde o diagnóstico, não ultrapassou os 40%. Entre 1411 dos 1862 indivíduos que estavam vigiados nos cuidados de saúde primários antes do diagnóstico de asma (76%), tendo em conta as variáveis, morar numa área rural ou num bairro com baixa renda, foi associado a menor probabilidade de receber cuidados de saúde especializados. **Conclusões:** Apesar das recomendações, mais de metade dos asmáticos que necessitaram de hospitalização não receberam cuidados de saúde especializados durante os primeiros 2 anos desde o diagnóstico. Os fatores identificados associados ao atendimento nos cuidados de saúde especializados em asma sugere que o acesso é uma barreira importante para receber os cuidados de saúde recomendados.

Comentário: A asma é uma doença crónica, com elevado impacto na qualidade de vida do doente, que afeta mais de 300 milhões de pessoas em todo o mundo.

A Global Initiative for Asthma recomenda a referenciação do asmático para uma consulta especializada quando este necessita de cuidados de saúde frequentes e urgentes. Estudos demonstraram que o seguimento especializado melhora a qualidade de vida e reduz o risco de exacerbações.

Neste estudo, desde o diagnóstico até uma média de 7 anos, 60% dos doentes foram observados por médicos dos cuidados de saúde primários (CSP) e da especialidade.

Foi demonstrado que é importante melhorar a coordenação e diálogo entre os CSP e as especialidades, sobretudo para os doentes que vivem em áreas rurais

onde o acesso aos cuidados de saúde são limitados. Deve ser reforçada a educação do asmático, para que este esteja informado sobre os riscos do mau controlo da sua doença.

É necessário melhorar o seguimento dos doentes com asma nos CSP e tornar claras as orientações sobre quando os doentes devem ser referenciados para uma consulta especializada.

Margarida Mesquita
Interna de Imunoalergologia do Centro Hospitalar
e Universitário de S. João

REGULAMENTO GERAL DOS PRÉMIOS DE INVESTIGAÇÃO E BOLSAS SPAIC TRIÉNIO 2020-2022

Com o intuito de estimular a investigação em Portugal e a formação específica na área de Alergologia e Imunologia Clínica, a SPAIC institui anualmente concursos para atribuição de prémios científicos.

1. São condições gerais de candidatura aos prémios e bolsas da SPAIC:
   a) O primeiro autor ser sócio da SPAIC, sem quotas em atraso.
   b) O primeiro autor não concorrer nessa qualidade a mais de um prémio, excetuando-se os prémios relativos às apresentações e nas reuniões anuais e as bolsas para participação nas reuniões anuais.
   c) O primeiro autor ser de nacionalidade portuguesa, ou, não o sendo, integrar um serviço ou centro nacional.
   d) O primeiro autor não pertencer à Direcção da SPAIC em exercício, excetuando-se os prémios relativos a comunicações científicas apresentadas à Reunião Anual ou a trabalhos originais publicados nos órgãos oficiais da SPAIC.
2. O concurso não envolve a cedência (temporária ou definitiva) dos direitos de autor à SPAIC. No entanto, a SPAIC poderá publicar ou divulgar nos seus órgãos oficiais os trabalhos submetidos a concurso ou premiados.
3. Cada prémio terá um júri constituído por três membros designados pela Direcção da SPAIC, sendo que nenhum pode integrar o(s) centro(s) de origem de trabalhos concorrentes ao prémio. O júri poderá solicitar a colaboração a um ou mais especialistas de reconhecida competência, sem direito a voto, para a apreciação de trabalhos ou projetos cujo âmbito assim o exija.
4. No caso de prémios a atribuir a comunicações científicas apresentadas à Reunião Anual, cada júri terá dois ou três membros designados pela Direcção da SPAIC.
5. De cada reunião e da decisão do júri será elaborada uma ata, assinada por todos os seus membros, sendo as decisões do júri tomadas por maioria e delas não haverá recurso.
6. A cerimónia de entrega dos prémios terá lugar na Reunião Anual da SPAIC no ano em referência.
7. No caso de não atribuição de um prémio, o respetivo quantitativo terá o destino que a firma doadora entender, uma vez ouvida a Direcção da SPAIC.
8. O regulamento específico do âmbito de cada prémio deverá ser anunciado anualmente, através das diferentes formas de comunicação da SPAIC, e todos os documentos referentes a cada prémio deverão ser obrigatoriamente enviados por correio eletrónico para o(s) endereço(s) definido(s) nos regulamentos específicos, com data de envio que respeite o prazo estabelecido no respetivo regulamento específico.
9. Todos os casos omissos serão resolvidos pela Direcção da SPAIC.

SPAIC
SOCIEDADE PORTUGUESA DE ALERGOLOGIA E IMUNOLOGIA CLÍNICA

REGULAMENTO DO PRÉMIO SPAIC – RPIA

A SPAIC, a fim de fomentar a investigação científica na especialidade de Imunoalergologia e publicação de artigos científicos na Revista Portuguesa de Imunoalergologia, institui os prémios SPAIC-RPIA.

1. Os prémios SPAIC – RPIA, conferidos anualmente, serão atribuídos a três publicações:
   • 1.º Prémio – para o melhor artigo original, sob a forma de inscrição, viagem e alojamento para congresso internacional na área da Imunoalergologia, até ao valor de 1500 euros.
   • 2.º Prémio – para o melhor artigo de revisão, sob a forma de inscrição, viagem e alojamento, para congresso nacional na área da Imunoalergologia, até ao valor de 750 euros.
   • 3.º Prémio – para o melhor artigo caso clínico, sob a forma de inscrição, viagem e alojamento, para congresso nacional na área da Imunoalergologia, até ao valor de 750 euros.
2. Consideram-se como elegíveis os trabalhos publicados na RPIA durante o ano em referência que não tenham recebido nenhum prémio, patrocínio ou bolsa SPAIC ou de outra instituição.
3. A seleção dos trabalhos será feita por um júri constituído por três membros para cada prémio, sócios da SPAIC, designados pelo Editor da RPIA, que representará a decisão do Corpo Editorial. O júri poderá solicitar a colaboração a um ou mais especialistas de reconhecida competência, sem direito a voto, para a apreciação de trabalhos ou projetos cujo âmbito assim o exija.
4. A cerimónia de entrega dos prémios terá lugar na Reunião da Primavera da SPAIC posterior ao ano em referência.

REGULAMENTO DO PRÉMIO SPAIC – ASTRAZENECA

A SPAIC, a fim de fomentar no país o desenvolvimento de linhas de investigação específicas na área da asma brônquica, confere anualmente um prémio para um projeto de investigação original ou um trabalho original sobre asma, com o patrocínio da firma AstraZeneca.

1. A periodicidade do prémio SPAIC – AstraZeneca será anual, sendo o valor pecuniário de 5000€.
2. Consideram-se como admissíveis ao concurso apenas os trabalhos originais ou os projetos de investigação originais que, até à data de submissão, não tenham sido submetidos a qualquer outra entidade nem tenham sido comunicados e/ou publicados no país ou no estrangeiro.
3. O prazo de candidatura decorrerá até dia 7 de agosto do ano em referência.
4. As condições de candidatura são as consignadas nas disposições gerais, devendo ser enviada a candidatura por correio eletrónico para geral@spaic.pt. No corpo da mensagem de correio eletrónico deverão ser incluídos o título do trabalho e os dados dos autores.
   4.1. No caso de se tratar de um trabalho original, este deverá ser enviado como anexo num documento em formato pdf (*portable document format*), com o trabalho em português ou em inglês, incluindo título em português e em inglês e resumo em português e em inglês. Neste documento não poderão constar quaisquer referências aos autores ou à instituição de proveniência. Estes trabalhos originais deverão obedecer às normas de publicação para artigos originais de um dos órgãos oficiais da SPAIC (Revista Portuguesa de Imunoalergologia ou European Annals of Allergy and Clinical Immunology).
   4.2. Caso se trate de um projeto de investigação original, deverá ser enviado como anexo em formato pdf (*portable document format*) uma versão detalhada do protocolo do estudo, que deverá seguir um modelo recomendado de publicação de protocolos que inclua o enquadramento teórico, a novidade do projeto, os objetivos, a metodologia a utilizar, os resultados esperados, o cronograma e caso aplicável outras fontes de financiamento. Neste documento também não poderão constar quaisquer referências aos autores ou à instituição de proveniência.
5. A decisão do júri deverá ser fundamentada no caráter de originalidade, excelência e relevância que os trabalhos premiados representem na Imunoalergologia portuguesa.
6. A comunicação da atribuição dos prémios aos autores deverá ocorrer até 10 dias antes da data da entrega do prémio, no ano em referência.
7. Os trabalhos originais ou projetos de investigação premiados deverão ser enviados para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC (Revista Portuguesa de Imunoalergologia ou European Annals of Allergy and Clinical Immunology) no prazo máximo de 12 meses após a atribuição do prémio.
8. O valor numerário do prémio será entregue em duas frações: a primeira metade após a entrega do prémio e a segunda metade após confirmação da aceitação do trabalho para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC acima indicados.

REGULAMENTO DO PRÉMIO SPAIC – DIATER

A SPAIC, a fim de fomentar no país o desenvolvimento de linhas de investigação específicas na área da alergia a fármacos, confere anualmente o prémio de investigação em alergia a fármacos com o patrocínio da firma Laboratórios Diater SA.

1. A periodicidade do prémio SPAIC – DIATER será anual, sendo o valor pecuniário de 5000 euros.
2. Consideram-se como admissíveis ao concurso apenas trabalhos originais que à data da submissão não tenham sido comunicados e/ou publicados no país ou no estrangeiro.
3. O prazo de candidatura decorrerá até dia 7 de agosto do ano em referência.
4. As condições de candidatura são as consignadas nas disposições gerais, devendo ser enviada a candidatura por correio eletrónico para geral@spaic.pt.
   a) No corpo da mensagem de correio eletrónico deverão ser incluídos o título do trabalho e os dados dos autores;
   b) Como anexo deve ser enviado um documento em formato pdf (*portable document format*), com o trabalho em português ou em inglês, incluindo título em português e em inglês e resumo em português e em inglês. Neste documento não poderão constar quaisquer referências aos autores ou à instituição de proveniência;
   c) O trabalho a que se refere a alínea anterior deverá obedecer às normas de publicação para artigos originais de um dos órgãos oficiais da SPAIC (Revista Portuguesa de Imunoalergologia ou European Annals of Allergy and Clinical Immunology).
5. A decisão do júri deverá ser fundamentada no caráter de originalidade, excelência e relevância que os trabalhos premiados representem na Imunoalergologia portuguesa.
6. A comunicação da atribuição dos prémios aos autores deverá ocorrer até 10 dias antes da data da entrega do prémio, no ano em referência.
7. Os trabalhos premiados deverão ser enviados para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC (Revista Portuguesa de Imunoalergologia ou European Annals of Allergy and Clinical Immunology) no prazo máximo de 12 meses após a atribuição do prémio.
8. O valor numerário do prémio será entregue em duas frações, a primeira metade após a entrega do prémio e a segunda metade após confirmação da aceitação do trabalho para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC acima indicados.

REGULAMENTO DO PRÉMIO SPAIC – INMUNOTEK

A SPAIC, com o patrocínio da firma Inmunotek, institui anualmente duas bolsas de estudo destinada a subsidiar um projeto de formação específica na área da imunoterapia com alergénios em centro hospitalar espanhol. São condições de candidatura a esta bolsa:

1. Ter formação comprovada em Alergologia e Imunologia Clinica ou estar nos dois últimos anos do Internato da Especialidade de Imunoalergologia à data da candidatura.
2. Ter o aval do responsável do centro de proveniência e do centro estrangeiro onde o candidato pretende estagiar.
3. O estágio deverá ter uma duração de um a dois meses e deverá ter o seu início entre o dia 7 de agosto do ano em referencia e o dia 1 de dezembro do ano subsequente.
4. O montante global do subsidio é de 5000 euros, a ser distribuído em igual parte (2500 euros) por dois projetos de formação, ou subdividido, caso haja projetos de formação a que o júri atribua igual qualidade.
   O processo de candidatura tem de incluir:
   a) resumo curricular do candidato;
   b) enquadramento, descrição detalhada dos objetivos da formação e cronograma;
   c) declarações autenticadas com o aval das instituições envolvidas.
   Estes elementos de avaliação devem ser enviados por correio eletrónico para geral@spaic.pt em formato pdf (*portable document format*).
6. O prazo de concurso decorrerá até ao dia 7 de agosto do ano em referência.
7. A decisão da escolha será da competência da Direção da SPAIC, segundo o enunciado nas disposições gerais, e deverá ser fundamentada na valia do projeto apresentado, privilegiando o interesse institucional e pessoal do estágio.
8. A comunicação da atribuição do prémio ao(s) candidato(s) deverá ocorrer até 10 dias antes da data da entrega do premio, no ano em referencia.
9. O(s) autor(es) premiado(s) obriga(m)-se a apresentar à Direção da SPAIC um relatório do estágio no prazo de um mês a contar da data de finalização do estágio.
10. O valor numerário do prémio será entregue em duas frações, a primeira metade após a entrega do prémio e a segunda metade após receção do relatório correspondente, que poderá ser objeto de publicação na Revista Portuguesa de Imunoalergologia.

REGULAMENTO DO PRÉMIO SPAIC – ROXALL

A SPAIC, a fim de fomentar no país o desenvolvimento de linhas de investigação específicas na área da imunoterapia com alergénios (ITA), confere anualmente os prémios de investigação em imunoterapia com alergénios com o patrocínio da firma Roxall.

1. A periodicidade do prémio SPAIC – ROXALL será anual, sendo o valor pecuniário de 3500 euros para o primeiro prémio e de 1500 euros para o segundo prémio.
2. Consideram-se como admissíveis ao concurso apenas trabalhos originais que, à data da submissão, não tenham sido comunicados e/ou publicados no país ou no estrangeiro.
3. O prazo de candidatura decorrerá até dia 7 de agosto do ano em referência.
4. As condições de candidatura são as consignadas nas disposições gerais, devendo ser enviada a candidatura por correio eletrónico para geral@spaic.pt.
   a) No corpo da mensagem de correio eletrónico deverão ser incluídos o título do trabalho e os dados dos autores;
   b) Deve ser enviado em anexo um documento em formato pdf (*portable document format*) com o trabalho em português ou em inglês, incluindo título em português e em inglês e resumo em português e em inglês. Neste documento não poderão constar quaisquer referências aos autores ou à instituição de proveniência;
   c) Os trabalhos referidos na alínea anterior deverão obedecer às normas de publicação para artigos originais de um dos órgãos oficiais da SPAIC (Revista Portuguesa de Imunoalergologia ou European Annals of Allergy and Clinical Immunology).
5. A decisão do júri deverá ser fundamentada no caráter de originalidade, excelência e relevância que os trabalhos premiados representem na Imunoalergologia portuguesa.
6. A comunicação da atribuição dos prémios aos autores deverá ocorrer até 10 dias antes da data da entrega do prémio, no ano em referência.
7. Os trabalhos premiados deverão ser enviados para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC (Revista Portuguesa de Imunoalergologia ou European Annals of Allergy and Clinical Immunology) no prazo máximo de 12 meses após a atribuição do prémio.
8. O valor numerário do prémio será entregue em duas frações, a primeira metade após a entrega do prémio e a segunda metade após confirmação da aceitação do trabalho para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC acima indicados.

REGULAMENTO DO PRÉMIO SPAIC – SANOFI GENZYME

A SPAIC, a fim de fomentar no País o desenvolvimento de linhas de investigação específicas na área da Dermatite Atópica, confere anualmente o prémio de investigação em Dermatite Atópica com o patrocínio da firma SANOFI GENZYME

1. A periodicidade do prémio SPAIC – SANOFI GENZYME será anual, sendo o valor pecuniário de 5000 euros.
2. Consideram-se como admissíveis ao concurso apenas os projetos de investigação originais que, até à data de submissão, não tenham sido submetidos a qualquer outra entidade nem tenham sido comunicados e/ou publicados no país ou no estrangeiro.
3. O prazo de candidatura decorrerá até dia 7 de agosto do ano em referência.
4. As condições de candidatura são as consignadas nas disposições gerais, devendo ser enviada a candidatura por correio eletrónico para geral@spaic.pt
   a) No corpo da mensagem de correio eletrónico deverão ser incluídos o título do trabalho e os dados dos autores;
   b) Deverá ser enviado como anexo em formato pdf (portable document format) uma versão detalhada do protocolo do estudo, que deverá seguir um modelo recomendado de publicação de protocolos, que inclua o enquadramento teórico, a novidade do projeto, os objetivos, a metodologia a utilizar, os resultados esperados, o cronograma e, caso aplicável, outras fontes de financiamento. Neste documento não poderão constar quaisquer referências aos autores ou à instituição de proveniência.
5. A decisão do júri deverá ser fundamentada no carácter de originalidade, excelência e relevância que os trabalhos premiados representem na Imunoalergologia Portuguesa.
6. A comunicação da atribuição dos prémios aos autores deverá ocorrer até 10 dias antes da data da entrega do prémio, no ano em referência.
7. Os trabalhos premiados deverão ser enviados para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC (Revista Portuguesa de Imunoalergologia ou European Annals of Allergy and Clinical Immunology), no prazo máximo de 12 meses, após a atribuição do prémio.
8. O valor numerário do prémio será entregue em duas frações, a primeira metade após a entrega do prémio e a segunda metade após confirmação da aceitação do trabalho para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC acima indicados.

REGULAMENTO DO PRÉMIO SPAIC – LABORATÓRIOS VITÓRIA

LABORATÓRIOS VITÓRIA, S.A.
GRUPO VITÓRIA

A SPAIC, com o patrocínio dos Laboratórios Vitória, instituiu anualmente uma bolsa de estudo destinada a subsidiar um projeto de formação específica fora do país.

1. Ter formação comprovada em Alergologia e Imunologia Clínica ou estar nos dois últimos anos do Internato da Especialidade de Imunoalergologia à data da candidatura.
2. Ter o aval do responsável do centro de proveniência e do centro estrangeiro onde o candidato pretende estagiar.
3. O estágio não poderá ter duração superior a 3 meses e deverá ter o seu início entre o dia 7 de agosto do ano em referência e o dia 1 de dezembro do ano subsequente.
4. O montante global do subsídio é de 5000 euros a ser distribuído por um só candidato ou subdividido, caso haja projetos de formação a que o júri atribua igual qualidade.
5. O processo de candidatura tem de incluir:
   a) resumo curricular do candidato;
   b) enquadramento, descrição detalhada dos objetivos da formação e cronograma;
   c) declarações autenticadas com o aval das instituições envolvidas.

   Estes elementos de avaliação devem ser enviados por correio eletrónico para geral@spaic.pt em formato pdf (*portable document format*).
6. O prazo de concurso decorrerá até ao dia 7 de agosto do ano em referência.
7. A decisão da escolha será da competência da Direção da SPAIC, segundo o enunciado nas disposições gerais, e deverá ser fundamentada na valia do projeto apresentado, privilegiando o interesse institucional e pessoal do estágio.
8. A comunicação da atribuição do prémio ao(s) candidato(s) deverá ocorrer até 10 dias antes da data da entrega do prémio, no ano em referência.
9. O(s) autor(es) premiado(s) obriga(m)-se a apresentar à Direção da SPAIC um relatório do estágio no prazo de um mês a contar da data de finalização do estágio.
10. O valor numerário do prémio será entregue em duas frações, a primeira metade após a entrega do prémio e a segunda metade após receção do relatório correspondente, que poderá ser objeto de publicação na Revista Portuguesa de Imunoalergologia.

REGULAMENTO DO PRÉMIO SPAIC – TECNIFAR

TECNIFAR

A SPAIC, a fim de fomentar no país o desenvolvimento de trabalhos de investigação na área da asma, atribui, com o patrocínio da firma TECNIFAR, uma bolsa dirigida ao melhor trabalho sobre asma a submeter à reunião anual da Associação Brasileira de Alergia e Imunologia (ASBAI) que decorre no ano da atribuição do prémio.

1. Consideram-se como admissíveis ao concurso apenas trabalhos originais sobre asma, cujo primeiro autor seja sócio efetivo da SPAIC e que à data da submissão não tenham sido comunicados e/ou publicados no país ou no estrangeiro.
2. O prazo de candidatura decorrerá até dia 30 de junho do ano em referência.
3. As condições de candidatura são as consignadas nas disposições gerais, devendo ser enviada a candidatura por correio eletrónico para geral@spaic.pt.
   a) No corpo da mensagem de correio eletrónico deverão ser incluídos o título do trabalho e os dados dos autores;
   b) Deve ser enviado em anexo um documento em formato pdf (*portable document format*) com o resumo do trabalho em português a submeter à reunião anual da ASBAI. Neste documento não poderão constar quaisquer referências aos autores ou à instituição de proveniência.
4. O 1.º autor do trabalho candidato obriga-se a submeter um trabalho da mesma linha de investigação à Reunião Anual da SPAIC.
5. O prémio consistirá no pagamento ao primeiro autor do trabalho premiado das despesas de inscrição, deslocação e estadia relacionadas com a sua participação no Congresso Anual da ASBAI desse ano.
6. A decisão do júri será fundamentada no caráter de originalidade e excelência do trabalho, bem como na qualidade da sua apresentação e discussão.
7. A comunicação da atribuição da bolsa será efetuada na sessão de abertura da Reunião Anual da SPAIC.
8. No caso de o 1.º autor do trabalho premiado não poder ou não querer ir ao Congresso Anual da ASBAI, a bolsa será atribuída ao 1.º autor do trabalho classificado na posição imediatamente seguinte.

REGULAMENTO PRÉMIO SPAIC MELHORES COMUNICAÇÕES CIENTÍFICAS NA REUNIÃO ANUAL

A SPAIC, a fim de fomentar a investigação científica na especialidade de Imunoalergologia, promovendo a sua discussão pública e posterior publicação, institui anualmente, no âmbito da sua Reunião Anual, prémios às melhores comunicações apresentadas, quer sob a forma de comunicação oral, quer sob a forma de poster.

1. Consideram-se como elegíveis os trabalhos submetidos para apresentação durante a Reunião Anual da Sociedade, segundo prazo limite anualmente divulgado, aqui considerado prazo de candidatura, sendo que pelo menos um dos autores deverá ser sócio da SPAIC.
2. Serão atribuídos prémios em todas as sessões de comunicações.
3. O valor pecuniário será distribuído por duas categorias: melhor comunicação oral (1.º prémio no valor de 700 euros e o 2.º prémio no valor de 500 euros) e melhor *poster* (1.º prémio no valor de 400 euros e o 2.º prémio no valor de 300 euros).
4. Serão nomeados pela Direcção da SPAIC júris compostos por dois ou três elementos de reconhecido mérito, que avaliarão todos os trabalhos apresentados em cada uma das sessões, que ponderarão a investigação científica, bem como a apresentação e discussão efetuadas.
5. Durante a sessão de encerramento da Reunião Anual serão divulgados os trabalhos vencedores.
6. O valor numerário do prémio será entregue em duas frações, a primeira metade após a entrega do prémio e a segunda metade após confirmação da aceitação do trabalho para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC (Revista Portuguesa de Imunoalergologia ou European Annals of Allergy and Clinical Immunology).

BOLSA SPAIC – LETI MELHOR TRABALHO SOBRE IMUNOTERAPIA COM ALERGÉNIOS

A SPAIC, a fim de fomentar no país o desenvolvimento de trabalhos de investigação na área da imunoterapia com alergénios (ITA), atribui, com o patrocínio dos Laboratórios LETI, uma bolsa dirigida ao melhor trabalho sobre ITA apresentado durante a Reunião Anual da SPAIC.

1. Consideram-se admitidos ao concurso todos os trabalhos sobre ITA aceites para serem apresentados na supracitada Reunião Anual da SPAIC cujo primeiro autor seja sócio efetivo da SPAIC.
2. O prazo de candidatura é o mesmo da submissão dos trabalhos à Reunião Anual da SPAIC.
3. O prémio consistirá no pagamento ao primeiro autor do trabalho premiado das despesas de inscrição, deslocação e estadia relacionadas com a sua participação no Congresso Anual da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica (EAACI) do ano imediatamente seguinte, com o objetivo de aí poder apresentar essa linha de investigação.
4. A decisão do júri será fundamentada no caráter de originalidade e excelência do trabalho, bem como na qualidade da sua apresentação e discussão.
5. A comunicação da atribuição da bolsa será efetuada na sessão de encerramento da Reunião Anual da SPAIC.
6. O 1.º autor do trabalho premiado obriga-se a submeter um trabalho da mesma linha de investigação ao Congresso da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica (EAACI) do ano imediatamente seguinte.
7. No caso de o 1.º autor do trabalho premiado não poder ou não querer ir ao Congresso da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica (EAACI) do ano imediatamente seguinte, a bolsa será atribuída ao 1.º autor do trabalho classificado na posição imediatamente seguinte.

BOLSA SPAIC – SANOFI GENZYME MELHOR TRABALHO SOBRE DERMATITE ATÓPICA

A SPAIC, a fim de fomentar no país o desenvolvimento de trabalhos de investigação na área da dermatite atópica, atribui, com o patrocínio da SANOFI-GENZYME, uma bolsa dirigida ao melhor trabalho sobre dermatite atópica apresentado durante a Reunião Anual da SPAIC.

1. Consideram-se admitidos ao concurso todos os trabalhos sobre dermatite atópica aceites para serem apresentados na supracitada Reunião Anual da SPAIC.
2. O prazo de candidatura é o mesmo da submissão dos trabalhos à Reunião Anual da SPAIC.
3. O prémio consistirá no reembolso, mediante apresentação de comprovativo, das despesas de inscrição, deslocação e estadia do primeiro autor do trabalho premiado relacionadas com a sua participação no Congresso Anual da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica (EAACI) do ano imediatamente seguinte, com o objetivo de aí poder apresentar essa linha de investigação, até ao montante máximo de 2500 euros.
4. A decisão do júri será fundamentada no caráter de originalidade e excelência do trabalho, bem como na qualidade da sua apresentação e discussão.
5. A comunicação da atribuição da bolsa será efetuada na sessão de encerramento da Reunião Anual da SPAIC.
6. O 1.º autor do trabalho premiado obriga-se a submeter um trabalho da mesma linha de investigação ao Congresso da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica (EAACI) do ano imediatamente seguinte.
7. No caso de o 1.º autor do trabalho premiado não poder ou não querer ir ao Congresso da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica (EAACI) do ano imediatamente seguinte, a bolsa será atribuída ao 1.º autor do trabalho classificado na posição imediatamente seguinte.

BOLSAS SPAIC – LETI REUNIÃO ANUAL DA SPAIC

A Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica (SPAIC), em parceria com os Laboratórios LETI, anuncia o concurso para 15 (quinze) bolsas para a participação dos seus sócios na Reunião Anual da SPAIC. Estas bolsas reforçam as ações da SPAIC na sua missão de promover o avanço na investigação e a educação médica pós-graduada na área da Imunoalergologia.

Elegibilidade: Sócios da SPAIC, sem quotas em atraso, que participem com trabalho científico na Reunião Anual da SPAIC e que declarem:

1. não ter outro apoio para a participação na Reunião Anual;
2. comprometerem-se a submeter o seu trabalho para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC (Revista Portuguesa de Imunoalergologia ou European Annals of Allergy and Clinical Immunology) no prazo máximo de 10 meses após a atribuição da bolsa. Em caso de incumprimento deste ponto os respetivos sócios ficarão impedidos de se candidatarem a qualquer bolsa da SPAIC para participação em encontros científicos, incluindo a Reunião Anual, nos dois anos subsequentes.

A atribuição das bolsas SPAIC-LETI será feita pela seguinte ordem de preferência:

1. Ser interno em formação específica de Imunoalergologia;
2. Ser especialista em Imunoalergologia e Jovem Imunoalergologista Português (JIP);
3. Ser especialista em Imunoalergologia.

Em caso de empate serão critérios de desempate pela seguinte ordem de preferência:

1. Ser primeiro autor no trabalho científico;
2. A data de submissão mais precoce do trabalho científico no site do congresso.

Prazos: O prazo de candidatura será o prazo limite de submissão de resumos para a reunião anual da SPAIC. As candidaturas têm de ser submetidas por via eletrónica no site da Reunião Anual da SPAIC aquando da submissão do resumo, assinalando em local próprio se se candidata às bolsas SPAIC-LETI, aceitando expressamente as duas condições referidas na rubrica Elegibilidade.

Comunicação dos resultados: Os resultados serão comunicados por correio eletrónico na mesma data da comunicação da aceitação dos trabalhos para a Reunião Anual da SPAIC.

Valor do apoio: A bolsa compreende o custo da inscrição na Reunião Anual da SPAIC, o custo dos almoços de trabalho e o custo do alojamento em quarto *single* e em regime de alojamento e pequeno-almoço para o período da Reunião Anual da SPAIC, em hotel a definir pela organização da Reunião Anual da SPAIC.

Avaliação posterior: Os candidatos que recebam as bolsas SPAIC-LETI ficarão responsáveis pelo envio ao secretariado da SPAIC dos comprovativos de apresentação e participação na supracitada Reunião Anual da SPAIC, bem como pela submissão do respetivo trabalho para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC, conforme indicado na rubrica Elegibilidade.

BOLSAS SPAIC – SÓCIOS CORRESPONDENTES REUNIÃO ANUAL DA SPAIC

A Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica (SPAIC), na sua missão de promover o avanço na investigação, pretende apoiar a participação de todos os sócios na Reunião Anual da SPAIC, para divulgação e discussão dos seus trabalhos científicos, através da atribuição de 5 (cinco) Bolsas para participação na Reunião Anual da SPAIC.

Elegibilidade: Sócios correspondentes da SPAIC, sem quotas em atraso, que queiram participar na Reunião Anual da SPAIC com trabalho científico sob a forma de *poster* ou apresentação oral (no qual sejam primeiros autores e apresentadores) e que declarem:

1. Não ter outro apoio para a participação na supracitada Reunião Anual;
2. Comprometer-se a submeter o seu trabalho para publicação, sob a forma de artigo original, num dos órgãos oficiais da SPAIC (Revista Portuguesa de Imunoalergologia ou European Annals of Allergy and Clinical Immunology), no prazo máximo de 10 meses, após a atribuição da Bolsa. Em caso de incumprimento deste ponto os respetivos sócios ficarão impedidos de se candidatarem a qualquer bolsa da SPAIC para participação em encontros científicos, incluindo a Reunião Anual, nos dois anos subsequentes.

Prazos: O prazo de candidatura será de 1 a 30 de Junho do ano em questão. As candidaturas têm de ser submetidas por via eletrónica para a SPAIC para o endereço geral@spaic.pt e devem incluir resumo curricular do candidato (no máximo uma página, com menção ao número de sócio da SPAIC), resumo do trabalho a apresentar (obedecendo às respetivas normas de submissão) e um documento anexo como pdf contendo as duas declarações referidas na rubrica Elegibilidade e assinado pelo candidato.

Avaliação das candidaturas: A avaliação das candidaturas será feita pela Direção da SPAIC tendo em conta:

1. A contribuição do trabalho a apresentar para a Alergologia e Imunologia Clínica na divulgação de todas as facetas teóricas e consequências práticas dos conhecimentos acumulados por esta disciplina científica.
2. O potencial impacto da participação no evento.
3. A ordem da submissão da candidatura, sendo dada preferência às candidaturas submetidas mais precocemente.

Comunicação dos resultados: Os resultados serão comunicados por correio eletrónico aos candidatos até ao dia 20 de julho desse ano.

Valor do apoio: A bolsa compreende o custo da inscrição na Reunião Anual da SPAIC, o custo dos almoços de trabalho e o custo do alojamento em quarto *single* e em regime de alojamento e pequeno-almoço para o período da Reunião Anual da SPAIC, em hotel a definir pela organização da Reunião Anual da SPAIC.

Avaliação posterior: Os candidatos que recebam estas bolsas SPAIC ficarão responsáveis pelo envio ao secretariado da SPAIC dos comprovativos de apresentação e participação na supracitada Reunião Anual da SPAIC, bem como pela submissão do respetivo trabalho para publicação num dos órgãos oficiais da SPAIC, conforme indicado na rubrica Elegibilidade.

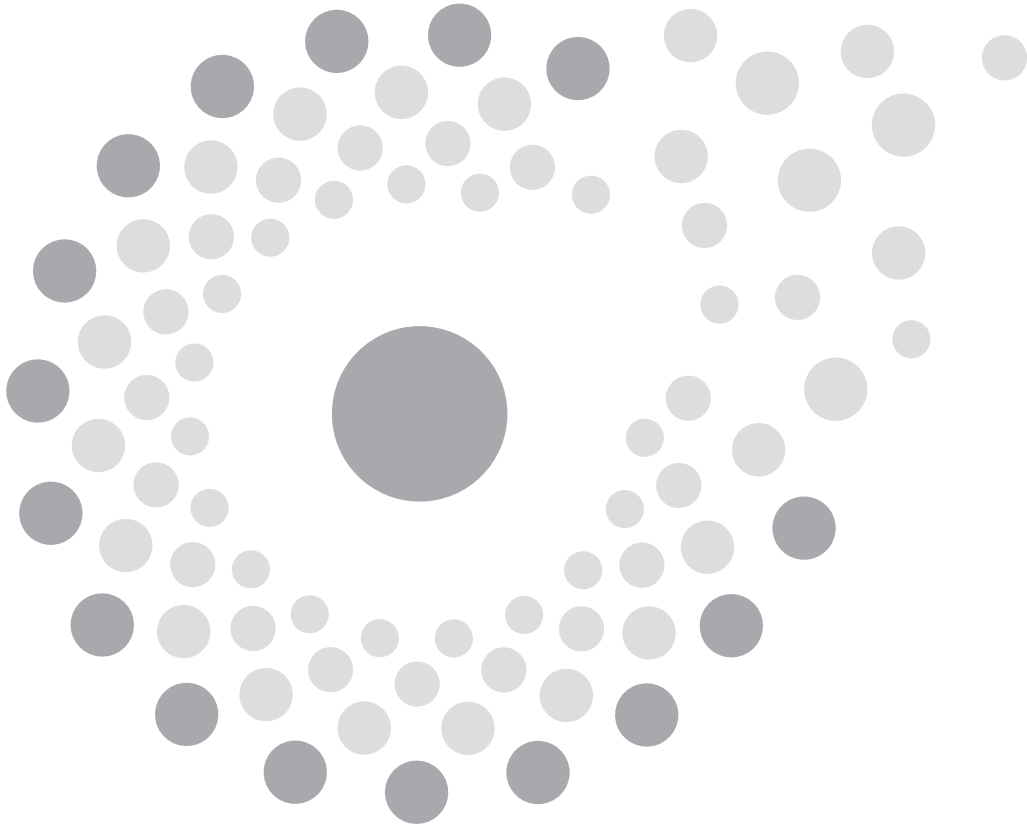
REGULAMENTO
BOLSA SPAIC – THE BINDING SITE

A SPAIC, com o patrocínio da firma The Binding Site Portugal, institui anualmente **uma bolsa de estudo** destinada a subsidiar um projeto de formação específica na área das imunodeficiências humorais primárias e secundárias, num centro da especialidade fora do país.

São condições de candidatura a esta bolsa:

1. Ter formação comprovada em Alergologia e Imunologia Clínica ou estar nos dois últimos anos do internato da especialidade de Imunoalergologia à data da candidatura.
2. Ter o aval do responsável do centro de proveniência e do centro estrangeiro onde o candidato pretende estagiar.
3. O estágio deverá ter uma duração mínima de um mês e deverá ter o seu início entre o dia 7 de agosto do ano em referência e o dia 1 de janeiro do ano subsequente.
4. O montante global da bolsa é de 1500 (mil e quinhentos) euros, a ser atribuída a um único candidato.
5. O processo de candidatura tem de incluir:
   a) resumo curricular do candidato;
   b) enquadramento, descrição detalhada dos objetivos da formação e cronograma;
   c) declarações autenticadas com o aval das instituições envolvidas.

   Estes elementos de avaliação devem ser enviados por correio eletrónico para geral@spaic.pt, em formato pdf (*portable document format*).
6. O prazo de concurso decorrerá até ao dia 7 de agosto de 2021.
7. A decisão da escolha será da competência da Direção da SPAIC, segundo o enunciado nas disposições gerais e deverá ser fundamentada na valia do projeto apresentado, privilegiando o interesse institucional e pessoal do estágio.
8. A comunicação da atribuição da bolsa ao candidato deverá ocorrer até 10 dias antes da data da entrega do prémio, no ano em referência.
9. O candidato premiado obriga-se a apresentar à Direção da SPAIC um relatório do estágio no prazo de um mês a contar da data de finalização do estágio.
10. O valor numerário da bolsa será entregue em duas frações, metade após a entrega do prémio e o restante após receção do relatório correspondente, que poderá ser objeto de publicação na Revista Portuguesa de Imunoalergologia.



1. PREPARAÇÃO DO MANUSCRITO

A RPIA aceita submissões em português de Portugal de acordo com o Novo Acordo Ortográfico, em português do Brasil ou em inglês. Se redigido em inglês, deve ser apresentada uma declaração assinada de um editor / tradutor profissional ou de um dos autores, assumindo a responsabilidade pela qualidade de escrita da língua inglesa.

As submissões são apenas online em https://rpia.spaic.pt/submeter-artigo/login e devem incluir os seguintes elementos:

1.1. Declaração dos autores

A declaração dos autores deve ser assinada por todos os autores e dirigida ao Editor-Chefe da Revista, devendo constar a seguinte informação:

- O artigo não está publicado ou foi encaminhado para publicação noutra revista;
- O artigo não será submetido a outra revista até que seja tomada a decisão final sobre esta submissão;
- Todos os autores leram e concordaram com a versão submetida;
- Qual a contribuição de cada autor para o trabalho submetido;
- No caso de ser aceite para publicação, os direitos autorais do trabalho serão transferidos para a Revista.

De acordo com os Requisitos Uniformes para Manuscritos Submetidos a Revistas Biomédicas, a autoria implica uma contribuição substancial para o manuscrito (ver ponto 4).

1.2. Página de capa

Este documento deve conter apenas informações sobre os autores e o título do manuscrito. As informações dos autores devem ser fornecidas apenas neste documento independente e não incluídas no documento com o manuscrito, a fim de garantir o anonimato dos autores durante o processo de revisão por pares.

1.2.1. Título

O título do manuscrito deve ser curto (máximo de 15 palavras) e definir claramente o assunto em questão. Deve ser apresentado em português e inglês.

1.2.2. Autores

O nome (nome próprio, apelido) e afiliação (Universidade, Faculdade, Unidade de investigação) de cada autor devem ser redigidos da mesma forma e por ordem (ex: João P. António[1], Pedro Silva[2], Nuno Pereira[1] – [1] Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina, Lisboa, Portugal; [2] Universidade do Porto, Faculdade de Medicina, Porto, Portugal). Deve constar de forma obrigatória o e-mail e o ORCID de cada autor. Para o autor correspondente deve ser incluído adicionalmente o endereço e contacto telefónico. Todas as correspondências entre a Revista e os autores serão feitas exclusivamente através da plataforma ou excecionalmente por e-mail.

1.2.3. Conflitos de interesse

Deve ser sempre incluída a menção à existência ou não de conflitos de interesse, para cada um dos autores.

No momento da submissão do artigo, os autores devem relatar quaisquer relações financeiras ou pessoais que tenham tido ou possam ter com pessoas ou instituições que possam gerar conflito de interesses em relação ao artigo submetido para publicação. O potencial conflito de interesses existe independentemente de as partes interessadas considerarem que essas relações podem ou não ter influenciado o seu julgamento científico. Essa informação não influenciará a decisão editorial, mas antes da submissão do manuscrito os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido. Se os autores têm dúvidas sobre o que constitui um relevante interesse financeiro ou pessoal, devem contactar o Editor.

1.2.4. Financiamento (se indicado)

Se indicado, deverão constar todos os apoios financeiros à concretização do artigo.

1.2.5. Agradecimentos (se indicado)

Os agradecimentos devem apenas constar no documento página de capa, para que seja salvaguardado o anonimato dos autores. Devem ser reconhecidas pessoas e/ou instituições que permitiram a execução ou forneceram contribuições para o trabalho.

1.2.6. Prémio (se indiciado)

Mencionar se o trabalho recebeu prémio SPAIC e qual, incluindo por apresentação em congresso.

1.3. Texto do artigo em PDF

1.3.1. Resumo e Palavras-chave

Esta secção aplica-se apenas aos artigos originais, de revisão, casos clínicos e educacionais. Deverá constar de forma repetida o título do manuscrito em português e em inglês.

Os resumos devem ser submetidos em português e inglês, com um limite de palavras que depende do tipo de artigo (ver secção 2). Nos artigos de revisão de autor o resumo deve apontar os principais pontos de revisão/discussão, com ou sem uma breve introdução. Nos casos clínicos, o resumo deve ser estruturado em introdução, descrição do caso e discussão/conclusões.

Os resumos dos artigos originais e de revisões sistemáticas devem ser estruturados da seguinte forma:

- Fundamentos: Qual ou quais as questões que induziram a execução do estudo?
- Objetivos: Qual foi o objetivo do estudo?
- Métodos: Como é que o estudo foi efetuado?
- Resultados: Quais foram os resultados encontrados, relevantes para o estudo?
- Conclusões: Qual a conclusão mais importante do estudo? Se possível, tentar resumir, numa única frase, os conceitos-chave ou implicações diagnósticas ou terapêuticas mais significativas do estudo.

As palavras-chave (3-6) devem ser apresentadas em português e inglês, por ordem alfabética, para permitir a indexação do artigo de acordo com a terminologia utilizada no Medical Index "Medical Subject Headings".

1.3.2. Manuscrito

Este documento não deve fazer referência à identidade dos autores, a fim de evitar a sua identificação durante o processo de revisão.

Deve apresentar numeração das páginas e das linhas na margem esquerda. Todo o texto, incluindo corpo do artigo, referências, legendas de figuras e tabelas com legendas, deve estar em fonte Arial, tamanho 12, espaço duplo e justificado. As margens devem ser de 2,5 cm em todo o documento.

1.3.3. Referências

As referências devem ser listadas após o texto principal, numeradas sequencialmente pela ordem de citação no texto, onde devem ser **apresentadas entre parêntesis curvos antes de vírgulas ou pontos finais**. Deve-se assegurar que cada referência citada no texto está presente na lista de referências (e vice-versa). Os autores devem verificar se todas as referências estão de acordo com os documentos originais, bem como se estão conformes aos Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals (www.nlm.nih.gov/ bsd/ uniform_requirements.html) e se utilizam os nomes abreviados das publicações adotados pelo Index Medicus (www.nlm.nih.gov).

Devem seguir o estiloVancouver e é obrigatório constar o Digital Object Identifier (DOI) sempre que disponível para essa publicação. Consultar mais informações em: https://rpia.spaic.pt/normas-referencias

A lista de referências não deve incluir citações de material não publicado. As referências a artigos ou livros aceites para publicação, mas ainda não publicados, devem incluir o nome da revista e a menção "in press".

1.3.4. Tabelas

Cada tabela deve ser numerada sequencialmente, por ordem de referência no texto, e apresentada em página individual no final do artigo e acompanhada de título e legenda explicativa, quando esta for necessária. Todas as abreviaturas ou símbolos necessitam de legenda. Não devem ser utilizadas linhas verticais.

1.4. Figuras

As figuras do manuscrito não devem ser colocadas dentro do corpo do artigo. Todas as figuras / ilustrações deverão ser apresentadas em **documentos separados** em formato digital, com boa qualidade. As figuras devem ser gravadas em TIFF ou JPEG com resolução mínima de 300 dpi; as figuras que contenham linhas (por ex. imunoeletroforese) ou conjunto de pontos (por ex. immunoblotting) devem ser gravadas com resolução mínima de 800 dpi. Sempre que forem usadas letras, números e símbolos, o seu tamanho e proporção devem ser claros o suficiente para serem legíveis.

Todas as figuras devem ser citadas no texto e numeradas na respetiva ordem. Todas as figuras devem ser acompanhadas de título e legenda explicativa que deve figurar no final do manuscrito.

Fotografias ou exames complementares de doentes deverão impedir a sua identificação, devendo ser acompanhadas pela autorização para a sua publicação dada pelo doente ou pelo seu responsável legal.

Se uma figura foi publicada anteriormente, a fonte original deve ser identificada e incluída na lista de referências. Para cumprir os regulamentos de direitos autorais, a reprodução de fotos, figuras ou gráficos de outras publicações deve ter autorização prévia dos detentores dos direitos autorais, autor/editor. A autorização assinada deve ser submetida no processo de submissão. A permissão é necessária independentemente da propriedade, exceto para documentos públicos.

1.5. Material suplementar (anexos)

Em certos casos, os materiais muito grandes ou anexos podem ser colocados no site da Revista para consulta, sendo referidos como materiais complementares. (Esses documentos não devem ter nenhuma referência à identidade do autor, a fim de evitar a sua identificação durante o processo de revisão.)

2. TIPOS DE TRABALHOS PUBLICADOS

2.1. Editoriais

Elaborados pelo Editor ou a convite deste, com um máximo de 750 palavras.

2.2. Artigos de Revisão

Podem ser solicitados pelo Editor ou submetidos sem solicitação prévia artigos de revisão sobre temas imunoalergológicos de particular interesse prático ou atualidade. São aceites para avaliação revisões sistemáticas e revisões de autor. O texto deve estar organizado de forma lógica e de leitura fácil e deve respeitar todos os seguintes limites:

- Resumo em português e inglês com máximo de 150 palavras
- Texto principal com máximo de 7000 palavras (excluindo título, resumo, figuras, tabelas e referências);
- Máximo de 10 tabelas e/ou figuras;
- Máximo de 60 referências.

2.3. Artigos Originais

Devem conter o resultado de investigação original experimental, epidemiológica ou clínico-laboratorial. Quando indicado, deverá ser explicitamente mencionada a obtenção de consentimento informado dos doentes, bem como a obtenção da aprovação da Comissão de Ética. O texto deve ser organizado nas secções: Introdução, Material e métodos, Resultados, Discussão e Conclusões e deve respeitar todos os seguintes limites:

- Resumo em português e inglês com máximo de 300 palavras
- Texto principal com um máximo de 4000 palavras (excluindo título, resumo, figuras, tabelas e referências);
- Máximo de 6 tabelas e/ou figuras;
- Máximo de 35 referências.

2.4. Casos Clínicos

Devem ser casos clínicos exemplares, devidamente estudados e discutidos e conter uma breve introdução, a descrição do(s) caso(s) e uma discussão sucinta que incluirá uma conclusão sumária, respeitando os limites seguintes:

- Resumo em português e inglês com máximo de 150 palavras
- Texto principal com um máximo de 1500 palavras (excluindo título, resumo, figuras, tabelas e referências);
- Máximo de 2 tabelas e/ou figuras;
- Máximo de 10 referências.

2.5. Artigos Comentados

Solicitados pelo Conselho Editorial, devem comentar artigos publicados em revistas da especialidade nos 6 meses anteriores, sumariando o trabalho e discutindo as suas conclusões segundo o ponto de vista do comentador. Devem ter no máximo 500 palavras (excluindo título, nome da revista e autores).

2.6. Cartas ao Editor

Comentários sucintos a artigos publicados na RPIA ou relatando de forma muito breve e objetiva resultados de observação clínica ou investigação original que não justifiquem publicação mais extensa. Não devem exceder 1000 palavras, 1 tabela e/ou figura e 5 referências.

2.7. AllergYmage

Imagem de tema imunoalergológico, clínica ou de exames complementares que pelas suas características mereça destaque. A imagem deve ter alta resolução e deve ser gravada em TIFF (Tagged-Image File Format) ou JPEG com pelo menos 300 dpi para permitir a sua impressão em meia página e acompanhada de um comentário descritivo sucinto em português e inglês (máximo 100-200 palavras cada) e no máximo 3 referências.

2.8. Página Educacional

Nesta secção pretende-se incluir uma diversidade de artigos de caráter educativo, como protocolos de atuação clínicos ou protocolos/ /metodologias de projetos de investigação, artigos de perspetiva de peritos, respostas a perguntas sobre temas específicos. Os protocolos/ /*guidelines* clínicos nacionais devem preferencialmente ser emitidos através dos grupos de interesse da SPAIC, ou submetidos por grupos com reconhecida experiência na matéria. A revisão final e aprovação destes documentos envolverão também a Direção da SPAIC. Serão aceites traduções de protocolos/*guidelines* internacionais devidamente autorizados pelas respetivas organizações internacionais. No caso de o conteúdo do documento ser muito extenso, este poderá ser publicado como 1.ª parte e 2.ª parte em revistas sequenciais ou eventualmente publicado em suplemento.

2.8.1. Regulamento para publicação de protocolos

A RPIA aceita para publicação protocolos de investigação e protocolos clínicos, que devem seguir normas específicas.

2.8.1.1. Protocolos de Investigação

Os protocolos de investigação devem relatar estudos de investigação planeados ou recentemente iniciados. Se a recolha de dados já estiver completa, não consideramos o manuscrito nesta modalidade. Encorajamos a submissão de protocolos num estadio inicial do estudo. Os protocolos próximos à conclusão da coleta de dados serão tratados caso a caso e a decisão final sobre a consideração de um protocolo para publicação será do Editor.

A publicação de protocolos de investigação permite que investigadores e entidades de financiamento se mantenham atualizados, expondo as atividades de investigação que, de outra forma, não seriam amplamente divulgadas. Isso pode ajudar a evitar a duplicação desnecessária de trabalho e, esperamos, permitir a colaboração. A publicação de protocolos na íntegra também disponibiliza mais informações do que as atualmente exigidas pelos registos e aumenta a transparência, facilitando que outras pessoas (editores, revisores e leitores) vejam e entendam quaisquer desvios do protocolo que ocorrem durante a condução do estudo.

A RPIA irá considerar para publicação protocolos de investigação para qualquer projeto de estudo, incluindo estudos observacionais e revisões sistemáticas.

Encorajamos os investigadores a aderirem às recomendações da rede Equator (www.equator-network.org) ao elaborarem os seus protocolos e incluírem uma lista de verificação completa adequada ao

tipo de estudo. São exemplos destas recomendações e respetivas listas de verificação: SPIRIT (Standard Protocol Items for Randomized Trials) no caso de ensaios clínicos aleatorizados ou PRISMA-P para protocolos de revisão sistemática e/ou meta-análise.

Aplicam-se as políticas gerais de publicação da RPIA, nomeadamente sobre a formatação do manuscrito, políticas editoriais, consentimento informado (quando aplicável aos desenhos de estudo).

Os protocolos devem incluir, no mínimo, os seguintes itens:

- As datas do estudo devem ser incluídas no manuscrito e na carta de apresentação.
- Protocolos para estudos que exigirão aprovação ética, como ensaios, não serão considerados até terem recebido essa aprovação.
- **Título**: deve incluir o tipo de estudo específico, por ex. ensaio clínico randomizado.
- **Resumo**: deve ser estruturado com as secções Introdução; Objetivos, Métodos e análises; Ética e divulgação. Os detalhes do registo devem ser incluídos como uma secção final, se apropriado.
- Incluir após o resumo **Pontos fortes e potenciais limitações deste estudo**, contendo até cinco pontos curtos, com no máximo uma frase cada, relacionados especificamente aos métodos.
- **Introdução:** explica as razões para o estudo e que lacunas de evidência ele pode preencher. Literatura anterior apropriada deve ser referenciada, incluindo revisões sistemáticas relevantes.
- **Objetivos**: O(s) objetivo(s) do estudo devem estar definidos de forma completa e clara, incluindo objetivo principal e eventuais objetivos secundários.
- **Métodos e análises**: fornecer uma descrição completa do desenho do estudo, incluindo uma classificação do mesmo (desenho do estudo), como a amostra será selecionada (método de amostragem e, sempre que aplicável, período e locais de recrutamento); intervenções a serem medidas e respetivos comparadores; o cálculo do tamanho da amostra (com base na literatura anterior) com uma estimativa de quantos participantes serão necessários para que o resultado primário seja estatisticamente, clinicamente e/ou politicamente significativo; que resultados serão medidos, quando, como e por quem; um plano de análise de dados (incluindo definição das variáveis, métodos de análise estatística, eventuais análises de subgrupos e respetivas justificações. Consoante o tipo (desenho) de estudo, incluir aspetos específicos, por exemplo no caso de um estudo aleatorizado indicar os métodos de atribuição aleatória da intervenção.
- **Resultados esperados e possíveis limitações**: os autores deverão discutir quais os resultados que serão esperados, bem como limitações e vieses que poderão decorrer da metodologia do estudo, assim como eventuais medidas com que os autores pretendem superar essas limitações ou minorar o seu impacto.
- **Ética e divulgação:** considerações éticas e de segurança e qualquer plano de disseminação dos resultados (publicações, congressos, etc).
- **Contribuições dos autores:** indique como cada autor esteve envolvido na redação do protocolo.
- **Declaração de financiamento.**
- **Declaração de conflito de interesses.**
- **Limites**: Máximo de 4000 palavras (excluindo título, resumo, figuras, quadros e referências); Máximo de 6 quadros e/ou figuras; Máximo de 35 referências.

2.8.1.2. Protocolos Clínicos / Publicação de recomendações ("Guidelines") / Algoritmos de diagnóstico ou tratamento

Os protocolos / *guidelines* clínicos nacionais devem preferencialmente ser emitidos através dos grupos de interesse da SPAIC ou por eles revistos, ou submetidos por grupos com reconhecida experiência na matéria.

2.9. Secção ASBAI (Associação Brasileira de Alergia e Imunologia)

Devido à colaboração específica entre os dois países, está reservado espaço para artigos submetidos do Brasil, nos formatos Original, de Revisão, Caso Clínico e Carta ao Editor.

2.10. Outras secções

Sob orientação do Conselho Editorial, a RPIA poderá ainda publicar outras secções, nomeadamente Notícias, Calendário de Eventos, Atividade Científica da SPAIC (onde podem ser incluídos resumos alargados de palestras, conferências ou trabalhos apresentados em reuniões nacionais ou internacionais), etc.

3. PROCESSAMENTO EDITORIAL DOS ARTIGOS

O autor correspondente receberá notificação da receção do manuscrito e decisões editoriais por e-mail. Todos os manuscritos submetidos são inicialmente revistos pelo editor da RPIA para uma primeira apreciação, no sentido de aferir se os critérios de submissão estão cumpridos, se o artigo não foi publicado, na íntegra ou em parte, nem submetido para publicação noutros locais e se o artigo submetido se enquadra no âmbito da revista. Posteriormente serão enviados para dois revisores, que no prazo de 3-4 semanas enviarão a sua apreciação para o Editor.

Os manuscritos são avaliados de acordo com os seguintes critérios: originalidade, atualidade, clareza de escrita, método de estudo apropriado, dados válidos, conclusões adequadas e apoiadas pelos dados, importância, com significância e contribuição científica para o conhecimento da área.

Após receção dos comentários dos peritos/revisores, o autor correspondente receberá, via informática, a decisão do Conselho Editorial, de entre as seguintes:

a) aceite sem alterações;
b) aceite após modificações propostas pelos revisores científicos;
c) recusado

Quando são propostas alterações, o autor deverá, no prazo estipulado, submeter 3 documentos em PDF:

1. Manuscrito com as alterações em formato *track changes*
2. Manuscrito com as alterações sem as *track changes* (limpo)
3. Resposta ao editor/revisores: resposta breve e estruturada, ponto por ponto, a cada questão colocada pelos revisores e/ou editor, localizando-a no texto revisto – exemplo: "Foi corrigido o erro ortográfico … para …. – ver linha 12 e 13 no documento revisto".

4. CRITÉRIOS DE AUTORIA

A revista segue os critérios de autoria do International Commitee of Medical Journal Editors (ICMJE). Todos os designados como autores devem ter participado significativamente no trabalho para tomar responsabilidade pública sobre o seu conteúdo e contributo na autoria.

São considerados Autores todos os que: 1. Tenham uma contribuição intelectual substancial, direta, no desenho e elaboração do artigo; 2. Participem na análise e interpretação dos dados; 3. Participem na elaboração e revisão do manuscrito. A autoria requer uma contribuição substancial para o manuscrito, sendo pois necessário adicionar na declaração dos autores o contributo de cada autor para o trabalho. Todos os que contribuíram para o artigo, mas que não encaixam nos critérios de autoria, devem ser listados nos agradecimentos.

5. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Proteção de seres humanos e animais. Na descrição de investigação realizada em seres humanos deve mencionar-se que os procedimentos seguidos estão de acordo com as diretrizes éticas da comissão responsável pela investigação em humanos (institucional ou regional) e com a Associação Médica Mundial e a Declaração de Helsínquia. Quando se trata de investigação com animais, o texto deve mencionar se foram seguidas as regras de uma instituição ou conselho internacional de investigação ou uma lei regulatória nacional sobre o cuidado e uso de animais de laboratório.

Confidencialidade dos dados

Os autores são responsáveis por seguir os protocolos estabelecidos pelos seus respetivos centros hospitalares para acesso aos registos médicos dos doentes com o objetivo de redigir um artigo com fins de investigação / divulgação para a comunidade e, portanto, devem declarar o cumprimento dessa exigência.

Direito à privacidade e consentimento informado

O autor deve garantir que foi cumprido o requisito de informar todos os doentes inscritos no estudo e que os mesmos detêm um documento assinado pelos doentes após receber as informações suficientes, onde foi dado o consentimento informado por escrito para participar no estudo. Os autores devem citar, na seção "Métodos", que os procedimentos utilizados nos doentes e controlos foram realizados após a obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido.

O autor também é responsável por garantir o direito à privacidade dos doentes, protegendo a sua identidade, tanto no texto do artigo quanto nas imagens. Não podem ser usados nomes, iniciais ou números de registos hospitalares (ou qualquer outro tipo de dado irrelevante para a investigação que possa identificar o doente) no texto ou nas fotografias, a menos que esta informação seja essencial para fins científicos, que se for o caso pode ser incluído no artigo desde que o doente, ou seus pais ou responsáveis, tenha dado consentimento informado por escrito para a sua publicação. Os autores são responsáveis por obter o consentimento informado por escrito dos doentes autorizando a publicação, reprodução e circulação das suas informações em suporte de papel e na Internet de acesso público.

Obtenção de permissões

Deve constar na declaração de autores que o conteúdo do artigo é original e não foi publicado anteriormente nem submetido à consideração de qualquer outra publicação, total ou parcial. Os autores devem estar cientes de que não revelar que o material submetido foi total ou parcialmente publicado é uma violação grave da ética científica. Da mesma forma, os autores que reproduzem no seu artigo material publicado anteriormente (texto, tabelas ou figuras) são responsáveis por obter as devidas permissões para reproduzir esse material na RPIA. Os autores devem obter autorização por escrito do autor e da editora que publicou este material e enviar uma cópia do mesmo junto com o artigo para a Revista.

Publicação redundante ou duplicada

A Revista não aceita material publicado anteriormente e não considerará para publicação manuscritos submetidos simultaneamente a outras revistas ou publicações redundantes ou duplicadas, ou seja, artigos que se sobreponham substancialmente a outro artigo já publicado, impresso ou disponível em meio eletrónico. Na Carta de Apresentação, os autores devem mencionar quaisquer submissões ou publicações anteriores do mesmo trabalho, no todo ou em parte, que possam ser consideradas uma publicação redundante ou duplicada. As referências bibliográficas dessas publicações anteriores devem ser citadas e incluídas no novo manuscrito. Essas restrições não se aplicam a resumos apresentados em reuniões científicas nacionais ou internacionais.

Revisões e ajustes

Sempre que a aceitação de um artigo está pendente devido à necessidade de ajustes por parte dos autores, as revisões solicitadas devem ser enviadas em 15 dias para alterações *minor* ou 30 dias para alterações *major*.

Na ausência de resposta após o prazo estipulado o artigo deixará de ser considerado para publicação e terá de ser ressubmetido.

Após revisão linguística e produção gráfica do artigo, a prova final será enviada ao autor correspondente por email para aprovação. Os ajustes necessários devem ser comunicados dentro do prazo previsto, conforme estabelecido pelo conselho editorial para o cumprimento do cronograma da Revista. A ausência de resposta no prazo estipulado às revisões linguísticas e de produção gráfica do artigo serão entendidas como aceitação da versão final apresentada.

Lista de verificação dos documentos a apresentar

- Declaração dos autores (obrigatório)
- Página de capa (obrigatório)
- Manuscrito (obrigatório)
- Figuras
- Material suplementar (anexos)
- Consentimento para publicação de dados (autorização de codetentores de direitos autorais, autor / editor das fotos, figuras ou gráficos de outras publicações usadas no submetido manuscrito)
- Declaração assinada pela entidade / autor responsável pela qualidade da língua inglesa

1. MANUSCRIPT PREPARATION

RPIA accepts submissions in Portuguese from Portugal in accordance with the New Orthographic Agreement, in Brazilian Portuguese or in English. If written in English, a signed statement from a professional editor/translator or one of the authors must be submitted, taking responsibility for the quality of writing in the English language.

Submissions are only accepted online at https://rpia.spaic.pt/submeter-artigo/login and must include the following elements:

1.1. Authors' declaration

The authors' declaration must be signed by all authors and addressed to the Editor-in-Chief of the Journal, including the following information:

- The article is not published or submitted to be published in another journal
- The article will not be submitted elsewhere until the final decision on this submission is taken
- All authors read and agreed with the submitted version
- The contribution of each author to the submitted work should be clearly stated
- In case the manuscript is accepted for publication, the copyright of the work will be transferred to the Journal.

According to the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, authorship implies a substantial contribution to the manuscript (see point 4).

1.2. Cover page

This document should only contain information about the authors and the title of the manuscript. Author information should be provided only in this independent document, and not included in the manuscript document, to ensure authors' anonymity during the peer review process.

1.2.1. Title

The title of the manuscript must be short (maximum of 15 words) and clearly define the subject in question. It must be presented in Portuguese and English.

1.2.2. Authors

The name (first name, surname) and affiliation (University, Faculty, Research Unit) of each author must be written in the same way and in order (e.g., João P. António[1], Pedro Silva[2], Nuno Pereira[1] - 1University of Lisbon, Faculty of Medicine, Lisbon, Portugal; 2University of Porto, Faculty of Medicine, Porto, Portugal). The e-mail and ORCID of all authors are mandatory. For the corresponding author, the address and telephone number must also be included. All correspondence between the Journal and the authors will be made exclusively through the platform or exceptionally by email.

1.2.3. Conflicts of interest

The journal requires that all authors disclose any potential sources of conflict of interest. At the time of article submission, authors must report any financial or personal relationships they have had or may have with people or institutions that could generate a conflict of interest in relation to the article submitted for publication. The potential conflict of interest exists regardless of whether the interested parties consider that these relationships may or may not have influenced their scientific judgment. This information will not influence the editorial decision, but before submitting the manuscript, authors must secure all necessary authorizations for the publication of the submitted material. If authors have questions about what constitutes a relevant financial or personal interest, they should contact the Editor.

1.2.4. Financing (if indicated)

If indicated, all financial support for the implementation of the article must be included.

1.2.5. Acknowledgments (if indicated)

Acknowledgments must only appear on the document's cover page, to guarantee the authors' anonymity. Persons and/or institutions that allowed the execution or provided contributions to the work must be recognized.

1.2.6. Award (if indicated)

Mention whether the work received a SPAIC award and which one, including for presenting at a congress.

1.3. Text of the article in PDF

1.3.1. Summary and Keywords

This section applies only to original, review, clinical case, and educational articles. The title of the manuscript in Portuguese and in English must be repeated. Abstracts must be submitted in Portuguese and English, with a word limit that depends on the type of article (see section 2). For the review articles, the abstract should point out the main points of review/discussion, with or without a brief introduction. In clinical cases, the abstract should be structured in an introduction, case description and discussion/conclusions. Abstracts of original articles and systematic reviews must be structured as follows:

- Background: What issue(s) prompted the study to be carried out?
- Aims: What was the purpose of the study?
- Methods: How was the study carried out?
- Results: What results were found, relevant to the study?
- Conclusions: What is the most important conclusion of the study? If possible, try to summarize, in a single sentence, the most significant key concepts or diagnostic or therapeutic implications of the study.

The keywords (3-6) must be presented in Portuguese and English, in alphabetical order, to allow the article to be indexed according to the terminology used in the Medical Index "Medical Subject Headings".

1.3.2. Manuscript

This document should not refer the identity of the authors, in order to avoid their identification during the review process.

All lines should be numbered in the left margin, starting at number 1. All text, including body of the article, references, figure captions and tables with captions, must be in Arial font, size 12, double spaced and justified. Margins should be 2.5 cm throughout the document.

1.3.3. References

References must be listed after the main text, numbered sequentially in order of citation in the text, where they must be **presented in curved parentheses before commas or periods**. It must be ensured that each reference cited in the text is present in the list of references (and vice versa). Authors must verify that all references are in accordance with the original documents, as well as that they comply with the Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals (www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html) and that use the abbreviated publications' names adopted by Index Medicus (www.nlm.nih.gov).

References must follow the Vancouver style and it is mandatory to include the Digital Object Identifier (DOI) whenever available for this publication. See more information at: https://rpia.spaic.pt/normas-referencias.

The list of references must not include citations of unpublished material. References to articles or books accepted for publication but not yet published must include the name of the journal and the mention "in press".

1.3.4. Tables

Each table must be numbered sequentially, in the same order as mentioned in the text, and each one presented on an individual page at the end of the article and accompanied by a title and explanatory caption, when necessary. All abbreviations or symbols need a caption. Vertical lines must not be used.

1.4. Figures

Manuscript figures should not be placed inside the body of the article. All figures/illustrations must be submitted in separate docu-

ments in digital format, with good quality. Figures must be recorded in TIFF or JPEG with a minimum resolution of 300 dpi; figures containing lines (eg immunoelectrophoresis) or a set of dots (eg immunoblotting) must be recorded with a minimum resolution of 800 dpi. Whenever letters, numbers and symbols are used, their size and proportion must be clear enough to be legible.

All figures must be cited in the text and numbered in order. All figures must be accompanied by a title and an explanatory caption that must appear at the end of the manuscript.

Photographs or complementary examinations of patients must prevent their identification and must be accompanied by the authorization for their publication issued by the patient or their legal guardian.

If a figure has been previously published, the original source must be identified and included in the reference list. To comply with copyright regulations, the reproduction of photos, figures or graphics from other publications must have prior permission from the copyright holders, author/publisher. The signed authorization must be submitted in the submission process. Permission is required regardless of ownership, except for public documents.

1.5. Supplementary material (attachments)

In certain cases, very large materials or attachments may be placed on the Journal's website for consultation, being referred to as supplementary materials (these documents should have no reference to the author's identity in order to avoid their identification during the review process).

2. MANUSCRIPT CATEGORIES AND REQUIREMENTS

2.1. Editorials

Prepared by the Editor or at his invitation, with a maximum of 750 words.

2.2. Review Articles

Review articles on immunoallergic topics of particular practical or current interest may be requested by the Editor or submitted without prior request. Systematic reviews and author reviews are accepted for evaluation. The text must be logically organized and easy to read and must respect all of the following limits:

- Abstract in Portuguese and English with a maximum of 150 words
- Main text with a maximum of 7000 words (excluding title, abstract, figures, tables and references)
- Maximum of 10 tables and/or figures
- Maximum of 60 references

2.3. Original Articles

They must contain the result of original experimental, epidemiological or clinical-laboratory investigation. When indicated, obtaining informed consent from patients must be explicitly mentioned, as well as obtaining approval from the Ethics Committee. The text must be organized into sections: Introduction, Material and methods, Results, Discussion and Conclusions and must respect all the following limits:

- Abstract in Portuguese and English with a maximum of 300 words
- Main text with a maximum of 4000 words (excluding title, abstract, figures, tables and references)
- Maximum of 6 tables and/or figures
- Maximum of 35 references

2.4. Case Reports

They must be exemplary clinical cases, properly studied and discussed, and contain a brief introduction, a description of the case(s) and a succinct discussion that will include a summary conclusion, respecting the following limits:

- Abstract in Portuguese and English with a maximum of 150 words
- Main text with a maximum of 1500 words (excluding title, abstract, figures, tables and references)
- Maximum of 2 tables and/or figures
- Maximum of 10 references

2.5. Commented Articles

Requested by the Editorial Board, they must comment on articles published in specialized journals in the previous 6 months, summarizing the work and discussing their conclusions according to the commentator's point of view. They must have a maximum of 500 words (excluding title, journal name and authors).

2.6. Letters to the Editor

Brief comments on articles published in RPIA or reporting in a very brief and objective way results of clinical observation or original investigation that do not justify more extensive publication. Must not exceed 1000 words, 1 table and/or figure and 5 references.

2.7. AllergYmage

Immunoallergic image, clinical or complementary exam, that deserves attention due to its characteristics. The image must have high resolution and must be recorded in TIFF (Tagged-Image File Format) or JPEG with at least 300 dpi to allow printing on half a page and accompanied by a brief descriptive comment in Portuguese and English (maximum 200 words each) and a maximum of 3 references.

2.8. Educational Page

This section is intended to include a variety of educational articles, such as clinical performance protocols or research project protocols/methodologies, articles from the perspective of experts or answers to questions on specific topics. Translations of international protocols/guidelines duly authorized by the respective international organizations will be accepted. If the content of the document is very extensive, it may be published as part 1 and part 2 in sequential journals or possibly published as a supplement.

2.8.1. Regulation for publication of protocols

RPIA accepts for publication research protocols and clinical protocols, which must follow specific standards.

2.8.1.1. Research Protocols

Research protocols must report planned or newly initiated research studies. If data collection is already complete, we do not consider the manuscript in this modality. We encourage submission of protocols at an early stage of the study. Protocols close to completion of data collection will be handled on a case-by-case basis and the Editor will make the final decision on considering a protocol for publication.

The publication of research protocols allows researchers and funding bodies to stay up-to-date, exposing research activities that otherwise would not be widely publicized. This can help to avoid unnecessary duplication of work and hopefully enable collaboration. Publishing full protocols also provides more information than is currently required by registries and increases transparency by making it easier for others (editors, reviewers and readers) to see and understand any deviations from the protocol that occur during the conduct of the study.

RPIA will consider for publication research protocols for any study design, including observational studies and systematic reviews.

We encourage researchers to adhere to the recommendations of the Equator network (www.equator-network.org) when developing their protocols and including a comprehensive checklist appropriate to the type of study. Examples of these recommendations and respective checklists are: SPIRIT (Standard Protocol Items for Randomized Trials) in the case of randomized clinical trials or PRISMA -P for systematic review and/or meta-analysis protocols.

The general RPIA publication policies apply, namely on manuscript formatting, editorial policies, informed consent (when applicable to study designs).

Protocols must include at least the following items:

- Study dates must be included in the manuscript and cover letter.
- Protocols for studies that will require ethical approval, such as trials, will not be considered until they have received that approval.
- **Title**: must include the specific type of study, e.g. randomized clinical trial.

- **Abstract**: must be structured with the following sections: Introduction; Aims; Methods and Analysis; Ethics and disclosure. Registration details should be included as a final section if appropriate.
- Include after the abstract "**Strengths and potential limitations of this study**", containing up to five short points, with a maximum of one sentence each, specifically related to the methods.
- **Introduction**: explains the reasons for the study and what evidence gaps it can fill. Appropriate prior literature should be referenced, including relevant systematic reviews.
- **Aims**: The aim(s) of the study must be completely and clearly defined, including the main outcome and any secondary outcomes.
- **Methods and analysis**: provide a complete description of the study design, including a classification of the study (study design), how the sample will be selected (sampling method and, where applicable, recruitment period and locations); interventions to be measured and respective comparators; calculating the sample size (based on previous literature) with an estimate of how many participants will be needed for the primary outcome to be statistically, clinically and/or politically significant; what results will be measured, when, how and by whom; a data analysis plan (including definition of variables, statistical analysis methods, any subgroup analyzes and respective justifications. Depending on the type (design) of study, include specific aspects, for example in the case of a randomized study, indicate the attribution methods randomization of the intervention.
- **Expected results and possible limitations**: the authors should discuss what results will be expected, as well as limitations and biases that may arise from the study methodology, as well as any measures the authors intend to use to overcome these limitations or lessen their impact.
- **Ethics and disclosure**: ethical and safety considerations and any plan for dissemination of results (publications, conferences, etc.).
- **Author contributions**: indicate how each author was involved in drafting the protocol.
- **Financing statement**.
- **Conflict of Interest Statement**.
- **Limits**: Maximum of 4000 words (excluding title, abstract, figures, tables and references); Maximum of 6 tables and/or figures; Maximum of 35 references.

2.8.1.2. Clinical Protocols / Publication of recommendations ("Guidelines") / Diagnosis or treatment algorithms

National clinical protocols / guidelines should preferably be issued through or reviewed by SPAIC interest groups or submitted by groups with recognized experience in the field. The final review and approval of these documents will also involve SPAIC´s Board.

2.9. ASBAI Section (Brazilian Association of Allergy and Immunology)

Due to the specific collaboration between the two countries, a space is reserved for articles submitted from Brazil, in the original, review, clinical case and letter to the editor formats.

2.10. Other Sections

Under the guidance of the Editorial Board, the RPIA may also publish other sections, namely News, Calendar of Events, Scientific Activity of SPAIC (which may include extended summaries of lectures, conferences or works presented at national or international meetings), etc.

3. EDITORIAL PROCESSING OF ARTICLES

The corresponding author will receive notification of receipt of the manuscript and editorial decisions by email. All submitted manuscripts are initially reviewed by the RPIA editor for a first assessment, in order to verify whether the submission criteria are met, the article was not published, in full or in part, nor submitted for publication elsewhere, and whether the submitted article falls within the scope of the journal. Subsequently, they will be sent to two reviewers, who within 3-4 weeks will send their appreciation to the Editor.

Manuscripts are evaluated according to the following criteria: originality, timeliness, clarity of writing, appropriate study method, valid data, adequate conclusions supported by data, and importance, with significance and scientific contribution to the knowledge of the area.

After receiving the comments from the experts/reviewers, the corresponding author will receive one of the following decisions of the Editorial Board:

a) accepted without changes;
b) accepted after modifications proposed by scientific reviewers;
c) rejected

When changes are proposed, the author must, within the stipulated deadline, submit 3 documents in PDF:

1. Revised article with marked changes in track changes format
2. Revised article without the track changes (clean)
3. Reply to editor/reviewers: brief and structured response, point by point, to each question posed by the reviewers and/or Editor, locating it in the revised text – example "Spelling has been corrected … to …. – see line 12 and 13 in the revised document"

4. AUTHORSHIP CRITERIA

The journal follows the authorship criteria of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). All designated authors must have participated significantly in the work to take public responsibility for its content and contribution to authorship.

Authors are all those who: 1. Have a substantial, direct intellectual contribution to the design and elaboration of the article; 2. Participate in data analysis and interpretation; 3. Participate in the drafting and review of the manuscript. Authorship requires a substantial contribution to the manuscript, and it is therefore necessary to add each author's contribution to the work in the authors' declaration. All contributors to the article but who do not fit the authorship criteria should be listed in the acknowledgments.

5. ETHICAL CONSIDERATIONS

Protection of humans and animals

In the description of research carried out on human beings, it should be mentioned that the procedures followed are in accordance with the ethical guidelines of the commission responsible for research on human beings (institutional or regional) and with the World Medical Association and the Declaration of Helsinki. When it comes to research with animals, the text should mention whether the rules of an international research institution or board or a national regulatory law on the care and use of laboratory animals have been followed.

Confidentiality of Data

The authors are responsible for following the protocols established by their respective hospital centers for accessing the patients' medical records in order to write an article for research / dissemination purposes to the community and, therefore, must declare compliance with this requirement.

Right to privacy and informed consent

The author must ensure that the requirement to inform all patients enrolled in the study has been met and that they hold a document signed by the patients after receiving sufficient information, where written informed consent has been given to participate in the study. Authors should mention, in the "Methods" section, that the procedures used in patients and controls were performed after obtaining the informed consent form.

The author is also responsible for guaranteeing the patients' right to privacy, protecting their identity, both in the text of the article and

in the images. No names, initials or numbers from hospital records (or any other type of data irrelevant to research that could identify the patient) may be used in the text or photographs, unless this information is essential for scientific purposes, which if applicable, may be included in the article, provided that the patient, or their parents or guardians, have given written informed consent for its publication. Authors are responsible for obtaining written informed consent from patients, authorizing the publication, reproduction and circulation of their information in paper format and on the publicly accessible Internet.

Obtaining permissions

The authors' declaration must state that the content of the article is original and has not been previously published or submitted for consideration by any other publication, in whole or in part. Authors should be aware that not disclosing that the submitted material has been published in whole or in part is a serious violation of scientific ethics. Likewise, the authors who reproduce previously published material in their article (text, tables or figures) are responsible for obtaining the necessary permissions to reproduce this material in RPIA. Authors must obtain written authorization from the author and publisher who published this material and send a copy of it along with the article to the Journal.

Redundant or duplicate publication

The Journal does not accept previously published material and will not consider for publication manuscripts submitted simultaneously to other journals or redundant or duplicate publications, that is, articles that substantially overlap with another article already published, printed or available electronically. In the Cover Letter, authors should mention any previous submissions or publications of the same work, in whole or in part, that could be considered a redundant or duplicate publication. Bibliographic references of these previous publications must be cited and included in the new manuscript. These restrictions do not apply to abstracts presented at national or international scientific meetings.

Revisions and Adjustments

Whenever the acceptance of an article is pending due to the need for adjustments by the authors, the requested revisions must be sent within 15 days for minor changes or 30 days for major changes.

In the absence of a reply after the stipulated deadline, the article will no longer be considered for publication and will have to be re-submitted.

After linguistic revision and graphic production of the article, the final proof will be sent to the corresponding author by email for approval. The necessary adjustments must be communicated within the stipulated period, as established by the editorial board in order to comply with the Journal's schedule. Failure to respond within the stipulated period to the linguistic and graphic production revisions of the article will be understood as acceptance of the final version presented.

Checklist of documents to be submitted

- Authors' declaration (mandatory)
- Cover page (required)
- Text of the article / Manuscript (required)
- Figures
- Supplementary material (attachments)
- Consent to publish data (authorization of copyright co-holders, author / editor of photos, figures or graphics of other publications used in the submitted manuscript)
- Declaration signed by the entity / author responsible for the quality of the English language