

Anafilaxia à fava

Fava bean anaphylaxis

Rev Port Imunoalergologia 2007; 15 (4): 339-347

Sofia Campina Costa¹, Ana Margarida Reis¹, Natália Fernandes¹, Marta Neto², Francisca Carvalho², Teresa Conde³, Alcinda Campos Melo⁴, Conceição Pereira Santos⁵, Margarida Trindade⁶

¹ Internato Complementar de Imunoalergologia.

² Assistente Hospitalar de Imunoalergologia.

³ Assistente Hospitalar Graduada de Imunoalergologia.

Unidade de Imunoalergologia do Hospital Pulido Valente, EPE, Lisboa.

⁴ Licenciada em Biologia.

⁵ Investigadora Principal.

Unidade de Imunologia Clínica. Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

⁶ Chefe de Serviço. Unidade de Imunoalergologia do Hospital Pulido Valente, EPE, Lisboa.

RESUMO

A alergia a legumes é prevalente na região mediterrânica, em virtude do lugar central que estes ocupam na dieta, podendo determinar reacções potencialmente graves em doentes sensibilizados. Os alergénios dos legumes são habitualmente descritos como resistentes à acção do calor e sensíveis à acção de ácidos e enzimas, apresentando uma elevada reactividade cruzada e surgindo frequentemente como alergénios ocultos. Embora estejam descritos casos de anafilaxia a vários legumes, não temos conhecimento na literatura de casos clínicos de anafilaxia à fava, alimento frequente na cozinha tradicional portuguesa. A fava pertence à ordem das Fabales, família das *Papilionaceae*, na qual também estão incluídas outras espécies, nomeadamente a lentilha, a ervilha, a soja, o grão-de-bico, o amendoim, o feijão e o tremço. Os autores apresentam o caso clínico de uma doente de 34 anos com história de urticária generalizada e lipotimia na primeira hora após a ingestão de favas. Estes episódios tiveram remissão completa sob auto-medicação com anti-histaminicos orais. Os testes cutâneos por picada ao extracto alergénico estandardizado de fava e à fava fresca, nas suas formas crua e cozida, revelaram-se negativos. As IgE específicas para a fava, a ervilha, o feijão vermelho e branco, o grão-de-bico, o amendoim, a soja e a lentilha revelaram-se negativas. O SDS-PAGE *Immunoblotting* não identificou bandas de fixação de IgE específica para a fava no soro da doente. O teste de activação dos basófilos (TAB) ao extracto estandardizado de fava revelou-se negativo. A prova de provocação oral (PPO) realizada com favas congeladas guisadas foi negativa e positiva com favas frescas. A anafilaxia alimentar alérgica é a tradução clínica de uma reacção imunológica adversa a um alimento, em mais do que um órgão/sistema, de forma potencialmente grave. Neste caso clínico, a reprodutibilidade da sintomatologia, a sua correlação com a ingestão da

fava e a sua instalação aguda ($\leq 1h$) sugerem um mecanismo de hipersensibilidade imediata. Os métodos laboratoriais utilizados não permitiram a confirmação imunológica de uma reacção IgE mediada à fava. Por seu lado, a PPO, considerada determinante para o diagnóstico de alergia alimentar, foi positiva. Contudo, ao ser apenas positiva com favas frescas e não com as congeladas, faz supor a eventual perda de alergenidade do alimento, determinada pelo método de congelação. A aplicabilidade do TAB na investigação de alergia alimentar é também discutida neste caso clínico.

Palavra-chave: *Vicia fava*, anafilaxia, teste de activação dos basófilos, prova de provocação oral.

ABSTRACT

Legume allergy is frequent in Mediterranean countries where their consumption is common and may cause life-threatening reactions in sensitized individuals. They contain multiple allergens with a significant degree of cross-reactivity among different species. It has been suggested that legume allergens are heat-stable and sensitive to the action of acids and enzymes. There is little information about allergy to other legumes besides peanut and soybean. Fava bean belongs to the Papilionaceae family of the Fabales botanical order, and is regularly used in traditional Portuguese cooking, but until now few data has been published on fava bean allergy. We report the clinical case of a 34-year-old woman who suffered from anaphylactic reactions after fava bean ingestion. Skin prick tests were performed with extracts from fava bean, beans, pea, chick-pea, lentil, peanut and soybean, all of them were negative. Prick-prick test were also negative to fresh fava bean, on its raw and boiled forms. Specific IgE to these legumes including to fava bean were $<0,35U/L$. Molecular mass of the IgE binding proteins was determined by SDS-PAGE Immunoblotting assay, and did not reveal any relevant IgE-binding bands on the patient serum. Basophil activation test, using IgE/CD63 double labelling was performed using serial dilution of fava bean extract, and was evaluated by flow-cytometry. For a stimulation concentration of $2mg/ml$ fava bean extract expression of CD63 above spontaneous expression was $<5\%$, considered negative. Oral challenge with boiled frozen and fresh fava bean was also carried out. It turned out positive with fresh fava bean however it was negative with its frozen form. We present a case of anaphylactic reaction after ingestion of fresh fava bean. Laboratory methods were unable to confirm an IgE mediated mechanism. Cross-reactivity to other legumes was not demonstrated. Oral challenge was the unique useful test for the diagnosis of legume allergy in this case, the process of freezing could be responsible for altering the allergenicity of the allergens. The usefulness of basophil activation test as a tool for investigating food allergy is discussed.

Key-words: *Vicia fava*, anaphylactic reaction, basophil activation test, oral challenge.

ABREVIATURAS

PPO: prova de provocação oral

SDS-PAGE: sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis

TAB: teste de activação dos basófilos

TSC: testes de sensibilidade cutânea

CAST: cellular allergen stimulation test

EAST: enzyme allergosorbent test

INTRODUÇÃO

As leguminosas pertencem à ordem das Fabales e são plantas dicotiledóneas que se dividem em três famílias: *Caesalpinaceae*, *Mimosaceae* e *Papilionaceae* ou *Fabacea*. Pertencentes a esta última família, comumente designada por legumes, encontram-se as espécies responsáveis pela maioria das reacções alérgicas, nomeadamente: *Lens culinaris* (lentilha), *Cicer arietinum* (grão), *Pisum sativum* (ervilha), *Arachis hipogea* (amendoim), *Phaseolus vulgaris* (feijão) e *Glycine max* (soja). Menos frequentemente envolvidos em reacções alérgicas estão a *Vicia fava* (fava) e o *Lupinus albus* (tremoço)¹.

Pelo seu elevado conteúdo proteico e baixo teor lipídico (exceptuando o amendoim), são parte integrante da dieta habitual de muitos países, sendo uma importante fonte de proteínas vegetais. O principal hidrato de carbono é o amido, com uma composição variável em carotenos, tiamina, riboflavina, vitamina K, ácido ascórbico, cálcio e ferro². Está descrito que os legumes na sua forma crua possuem igualmente fitatos, taninos, saponinas, inibidores da tripsina, alcalóides e lectinas. Estas substâncias “tóxicas” são termolábeis e, portanto, facilmente eliminadas pelo processo de cozedura³.

Por outro lado, alguns legumes são utilizados para a produção de solventes, estabilizadores ou espessantes, como são exemplo a soja, o amendoim e o tremoço. Este facto favorece o seu aparecimento como alergénio oculto e o potencial risco acrescido de sensibilização daí decorrente⁴.

O consumo de legumes é particularmente notório nas regiões mediterrânica, do Médio Oriente e da Índia, destacando-se a lentilha e o grão como os que com maior frequência surgem associados a reacções alérgicas⁵. De facto, em Espanha, os legumes são a quinta causa mais frequente de alergia alimentar na idade pediátrica, com uma importante expressão da lentilha^{5,6}. Por sua vez, nos países anglo-saxónicos e, especialmente, nos EUA, a soja e o amendoim surgem como importantes alergénios alimentares. Nos EUA, o amendoim assume um papel preponderante

na epidemiologia da alergia alimentar, não só na idade pediátrica, como também na adolescência e idade adulta, sendo uma importante causa de anafilaxia⁷.

A constituição proteica dos legumes inclui as globulinas (80%) e as albuminas, sendo que a maioria dos alergénios identificados são globulinas. Estas são proteínas de armazenamento e subdividem-se em vicilinas e leguminas⁸.

Tem sido demonstrado que os alergénios dos legumes são resistentes à acção do calor (ex.: processo de cozedura) e sensíveis à acção de ácidos e enzimas (ex.: tripsina). Este facto foi descrito, entre outros, por Burks *et al.*⁹ e Hong *et al.*¹⁰ no que respeita à soja e ao amendoim; e por Ibañez *et al.*¹¹ e Martínez *et al.*¹² relativamente à lentilha e ao grão. Alguns estudos, por outro lado, sugerem que o processo de ebulição pode determinar o aparecimento de neoantigénios¹¹⁻¹³.

Outro aspecto que importa referir é o da reactividade cruzada entre legumes, justificada pela frequente homologia entre as suas proteínas estruturais, se bem que de diferente intensidade, dependendo das diferentes espécies. De facto, o elevado grau de reactividade cruzada entre legumes foi já amplamente demonstrado *in vivo* e *in vitro*. Bernhisel-Broadbent *et al.*¹⁴ encontraram reactividade cruzada entre amendoim, soja, feijão, ervilha e grão em cerca de 80% dos doentes estudados por imunotransferência e *immunoblotting*. Uma prevalência semelhante de reactividade cruzada detectada por ELISA-inibição entre a lentilha, a ervilha e o grão foi demonstrada por Martínez M¹⁵. Para além do diagnóstico imunológico da reactividade cruzada, o conhecimento da sua exacta repercussão clínica é um aspecto determinante na abordagem dos doentes, já que a sensibilização a alergénios de diferentes espécies não implica sempre manifestações clínicas.

Como referido, a prevalência de alergia a legumes e as espécies implicadas variam consoante a região geográfica e os respectivos hábitos alimentares. Em Portugal, a *Vicia fava* (fava) tem um consumo considerável por se tratar de um prato tipicamente regional. Até à data não se encontram descritos na literatura casos de reacções alérgicas graves à ingestão deste alimento.

CASO CLÍNICO

Doente do sexo feminino de 34 anos, natural de Lisboa, contabilista, referenciada à nossa consulta de Imunoalergologia por um quadro clínico de reacção sistémica potencialmente grave após a ingestão de fava.

O primeiro episódio ocorreu aos 27 anos na sequência de uma refeição de favas guisadas, com instalação de prurido palmar e plantar, urticária generalizada e lipotimia cerca de 15 minutos após a ingestão do alimento. Três anos depois, a doente refere sintomatologia semelhante 30 minutos após a ingestão de um prato de favas guisadas. Aos 33 anos tem o terceiro episódio 60 minutos após a ingestão de um aperitivo de favas fritas, de menor intensidade, surgindo apenas prurido palmar e plantar e urticária generalizada. A remissão completa do quadro clínico ocorreu após auto-medicação com anti-histamínico oral. Os três episódios descritos correspondem às únicas vezes que a doente ingeriu favas, negando o aparecimento de sintomas semelhantes noutra circunstância que não a da ingestão deste alimento. De referir ainda que as favas eram frescas nos dois primeiros episódios, desconhecendo se eram frescas ou congeladas no último. Não há descrição de angioedema associado, sintomatologia do foro respiratório, do foro gastrointestinal ou qualquer relação com a prática de exercício físico ou com a ingestão de fármacos. Salienta-se a ausência de qualquer reacção aquando da ingestão de outros legumes e dos outros ingredientes utilizados na confecção das favas guisadas.

Dos antecedentes pessoais, destaca-se a presença de rinosinusite não alérgica intermitente ligeira, sem história pregressa de asma ou outras queixas sugestivas de alergia alimentar ou medicamentosa. Não existe história familiar de atopia, nomeadamente diagnóstico de alergia alimentar ou anafilaxia.

Da investigação alergológica de rotina salienta-se: 1) IgE total 88kU/L; 2) testes de sensibilidade cutânea (TSC) por picada para aeroalergénios com extractos comerciais standardizados (Bial-aristegui™) negativos para ácaros do pó doméstico, pólenes, fungos e epitélios de gato, cão e

barata; 3) G6PD de 8,16 UI/gHb (valores de referência 8-8,6 UI por grama de hemoglobina).

A reprodutibilidade clínica e a associação dos sintomas à ingestão de favas levou à necessidade de uma investigação alergológica orientada para uma possível alergia alimentar. Assim, foram realizados TSC por picada ao extracto alergénico standardizado de fava (Bial Aristegui™) e TSC pelo método *prick-prick* à fava (na sua forma fresca) crua e cozida, que se revelaram todos negativos. Os TSC por picada aos extractos standardizados (Bial Aristegui™) e as IgE específicas (UniCAP Pharmacia™) para ervilha, feijão vermelho e branco, grão-de-bico, amendoim, soja e lentilha revelaram-se também negativos (Quadro 1).

Pela inexistência de extracto standardizado para a fava no nosso hospital ou noutros centros nacionais de referência, a IgE específica para a fava foi determinada pelo método EAST (*Enzyme AllergoSorbent Test*) no laboratório de imunologia da Bial-Aristegui, em Bilbao, Espanha. A IgE específica para a fava revelou-se inferior a 0,35 kU/L (Quadro 1). Foi igualmente efectuado o SDS-PAGE (*sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis*) IgE-*Immunoblotting* para a fava, na presença e ausência de 2-mercaptoetanol (desnaturante químico que rompe as ligações inter e intracatenárias). Não foi possível identificar bandas de fixação de IgE específica, sendo que as bandas observadas surgem quer com o soro da doente quer com o soro utilizado como controlo negativo (composição de soros de indivíduos não atópicos) (Figura 1).

Quadro 1. Resultados do doseamento de IgE específicas

	IgE específica	
	kU/L	Classe
Ervilha	< 0,35	0
Feijão vermelho	< 0,35	0
Feijão branco	< 0,35	0
Grão-de-bico	< 0,35	0
Amendoim	< 0,35	0
Soja	< 0,35	0
Lentilha	< 0,35	0
Fava	< 0,35	0

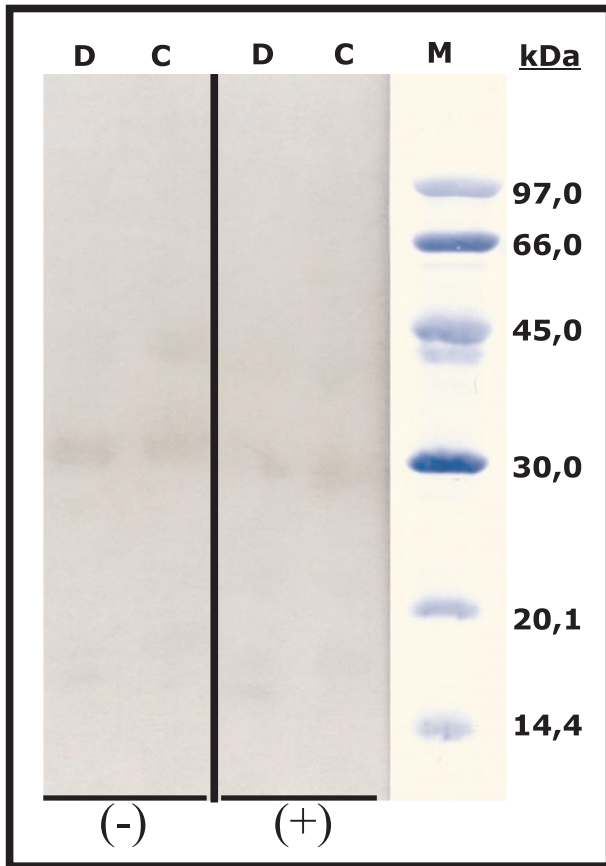


Figura 1. SDS-PAGE *Immunoblotting* para a fava. **D:** soro da doente. **C:** soro controlo negativo. **M:** padrão de massas moleculares. **(-):** sem mercaptoetanol. **(+):** com mercaptoetanol.

Realizou-se também o teste de activação dos basófilos (TAB) (Basotest™, Orpegen Pharma, Heidelberg, Germany), com avaliação por citometria de fluxo (FACSCALIBUR, Becton Dickinson). A expressão de CD63 à superfície celular foi o parâmetro utilizado para a avaliação da activação dos basófilos. A estimulação com o extracto da fava (BialAristegui™) nas diluições 1:40 (2mg/mL) e 1:160 (0,2mg/mL) revelou-se negativa, tendo-se registado uma percentagem de activação de basófilos de 1,72% e 1,41%, respectivamente (Figura 2).

Mantendo-se a suspeita clínica de reacção sistémica à fava, e perante uma investigação laboratorial negativa, foi decidido efectuar a prova de provocação oral (PPO), após consentimento informado, pelo seu papel determinante

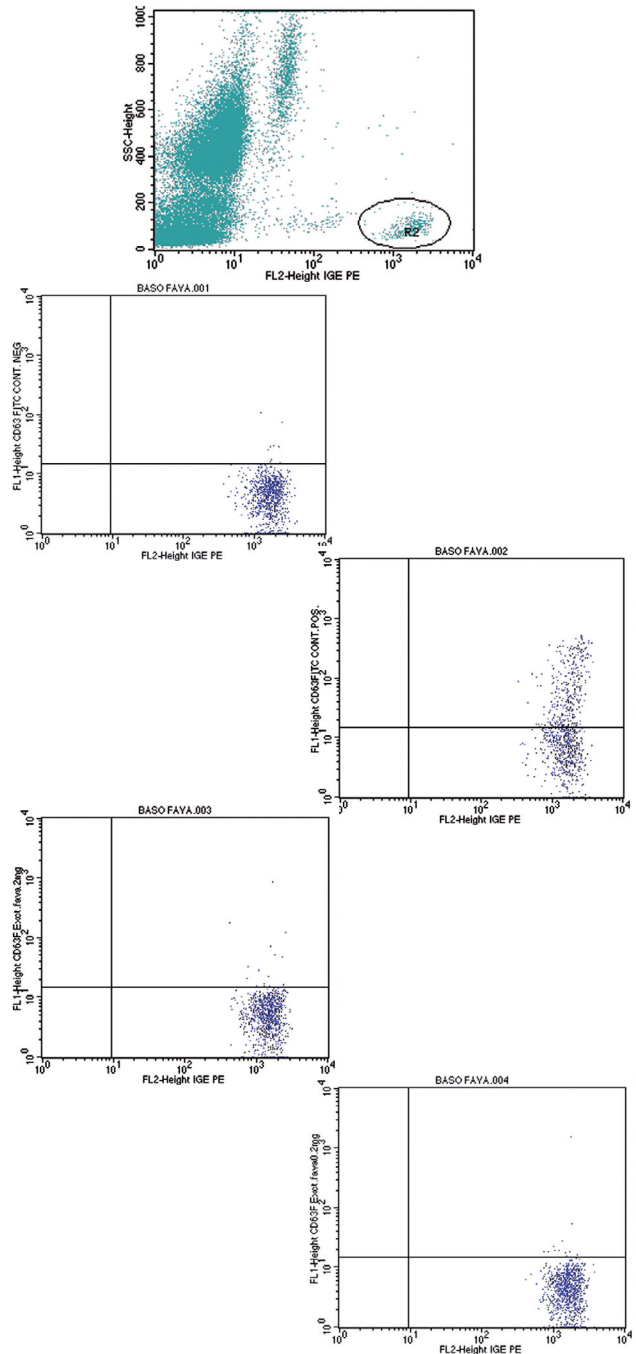


Figura 2. Teste de activação dos basófilos com avaliação por citometria de fluxo. R2: definição da *gate* de basófilos por *side-scatter*/IgE como as células IgE^{bright}. BASOFAYA.001: controlo negativo (solução tampão). BASOFAYA.002: controlo positivo (*N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine* or fMLP). BASOFAYA.003: estimulação com extracto de fava na diluição 1:40. BASOFAYA.004: estimulação com extracto de fava na diluição 1:160.

no diagnóstico de uma alergia alimentar. A PPO foi realizada de forma aberta pela dificuldade de ocultação e de controlo com placebo do alimento em questão, utilizando favas guisadas preparadas pela doente, de forma semelhante ao primeiro episódio descrito. A PPO com favas congeladas foi negativa. Por outro lado, a PPO com favas frescas revelou-se positiva, com instalação inicial de prurido palmar e plantar e, posteriormente, de urticária generalizada aos 45 minutos, com uma dose cumulativa de cerca de 30 favas. Em função da evidência clínica incontornável, estabelecemos o diagnóstico provável de anafilaxia alérgica à fava.

DISCUSSÃO

A colheita de uma anamnese detalhada é fundamental para o diagnóstico de uma alergia alimentar, orientando o pedido de exames complementares para uma investigação alergológica direccionada. Assim, a hipótese de alergia à fava surge perante um quadro clínico com evidente relação temporal com a ingestão de favas, e a ausência de sintomatologia semelhante noutra circunstância que não a da ingestão deste alimento, nomeadamente com outros alimentos ou com a ingestão de fármacos, reforça esta hipótese diagnóstica. O atingimento muco-cutâneo foi a manifestação predominante, se bem que associado a lipotimia no primeiro episódio. A instalação precoce (na primeira hora) desta reacção sistémica, potencialmente grave, após a ingestão de favas, faz suspeitar de uma anafilaxia alimentar, de provável natureza IgE mediada.

Os métodos actualmente disponíveis para o diagnóstico de reacções mediadas pela IgE incluem a realização de TSC, o doseamento de IgE específica, os testes funcionais *in vitro* e a PPO¹⁶.

Os TSC para alimentos têm um valor preditivo positivo inferior a 50%, mas quando negativos um valor preditivo negativo superior a 95%¹⁷. A realização dos TSC pelo método *prick-prick*, com o alimento na sua forma natural, demonstrou aumentar a sensibilidade comparativamente

ao uso de extractos comerciais, particularmente no que respeita aos frutos e aos legumes¹⁸. Por sua vez, o doseamento de IgE específica apresenta uma elevada especificidade mas uma menor sensibilidade do que os TSC no diagnóstico de reacções IgE mediadas. Nesta doente, apesar do quadro clínico sugestivo, os TSC e o doseamento de IgE específica não confirmaram a suspeita inicial de uma reacção imediata à fava. De facto, os TSC por picada pelos métodos *prick* e *prick-prick* a este alimento revelaram-se negativos. A elevada prevalência de reactividade cruzada entre legumes, mesmo na ausência de manifestações clínicas, justificou também a realização dos TSC e o doseamento das IgE específicas para a ervilha, o feijão vermelho e branco, o grão-de-bico, o amendoim, a soja e a lentilha, todas com resultado negativo.

O *immunoblotting*, por sua vez, é um método *in vitro* de elevada especificidade e sensibilidade para reacções IgE mediadas. O SDS-PAGE *immunoblotting* neste caso clínico não identificou no soro da doente bandas de fixação de IgE específica para a fava, comparativamente ao soro utilizado como controlo.

Relativamente aos testes de activação celular, estes não são utilizados como exames de primeira linha na investigação alergológica, mas teoricamente podem permitir o estudo *in vitro* da reactividade celular do doente perante a estimulação de um alergénio específico. O teste de activação dos basófilos baseia-se na detecção por citometria de fluxo da expressão de CD63 à superfície dos basófilos após estimulação com um determinado alergénio¹⁹. O CD63 é uma glicoproteína presente nos grânulos citoplasmáticos do basófilo quiescente. A sua expressão na superfície celular correlaciona-se com a activação do basófilo induzida pelo alergénio ou por anticorpos IgE via receptor de alta afinidade para a IgE (FcεRI), ou anticorpos anti-FcεRI²⁰.

A utilidade do TAB na detecção de reacções IgE mediadas para alergénios inalantes, látex e venenos de himenópteros tem sido amplamente demonstrada em vários estudos publicados²¹⁻²³. A sua aplicabilidade no diagnóstico de alergia alimentar e medicamentosa é mais

controversa; tem suscitado grande interesse na comunidade científica e tem sido alvo de um crescente número de trabalhos. Moneret-Vautrin *et al.*²⁴ estudaram a aplicabilidade do teste de libertação de leucotrienos (CAST – *cellular allergen stimulation test*) e do TAB no diagnóstico de alergia alimentar. Verificaram que em alguns doentes ocorria uma libertação espontânea de histamina, independente da desgranulação dos basófilos ou da libertação de leucotrienos. Este facto reforçava a utilidade do CAST e TAB no diagnóstico de alergia alimentar em doentes com elevada libertação espontânea de histamina, comparativamente ao teste de libertação de histamina. Garcia-Avilés *et al.*²⁵ estudaram o contributo do TAB na marcha diagnóstica da alergia alimentar e encontraram uma correlação positiva entre o TAB, os TSC, o doseamento de IgE específica, o teste de libertação da histamina e o CAST. Neste mesmo trabalho, o TAB apresentou uma sensibilidade de 82,3% e uma especificidade de 62,5%, utilizando um *cutt-off* de activação de basófilos de 11%. A necessidade de estabelecer valores de *cutt-off* e critérios de positividade é crucial para a interpretação dos resultados do TAB. Está descrita uma variabilidade de percentagens de activação de basófilos para diferentes alérgenos, e os valores de *cutt-off* propostos por Sanz *et al.*¹⁹ para alérgenos alimentares é de 15%. Este valor em conjunto com um índice de estimulação (quociente entre a % de basófilos activados após estimulação alérgica e a % de basófilos activados no controlo negativo) superior a 2, constitui o critério de positividade para um TAB no diagnóstico de alergia alimentar¹⁹. Didier *et al.*²⁶, mais recentemente, descreveram uma sensibilidade de 88% e especificidade de 75% do TAB no diagnóstico de síndrome de alergia oral pólen-frutos, para um *cut-off* ligeiramente inferior, de 10%. Em 2005, Erdmann *et al.*²⁷ foram os primeiros a utilizar alérgenos recombinantes no TAB, obtendo uma elevada sensibilidade e especificidade. No que respeita à utilização do TAB na abordagem de doentes com alergia a legumes, poucos são os dados disponíveis, surgindo apenas alguns estudos sobre a avaliação da reactividade cruzada entre o amendoim e frutos secos^{28,29}.

Na interpretação do TAB devem ser considerados outros aspectos não menos importantes. Em primeiro lugar, é fundamental não esquecer que podem existir distintos processos de activação dos basófilos, com padrões de expressão molecular variáveis, que podem indicar diferentes mecanismos de hipersensibilidade. Para além disso, considerando a activação do basófilo IgE mediada, esta também é influenciada por inúmeros factores: 1) densidade de FcεRI à superfície dos basófilos (i.e. número de FcεRI/célula); 2) proporção de IgE específica na célula em relação à IgE total; 3) sensibilidade intrínseca dos basófilos (i.e. número de IgE específica necessária para desencadear 50% da resposta celular máxima); 4) reactividade celular dos basófilos (i.e. resposta celular máxima após óptima estimulação-IgE); 5) características bioquímicas e estruturais do alérgeno implicado; 6) natureza dos agregados IgE-alérgeno (i.e. dímeros, trímeros, oligómeros)³⁰. Em segundo lugar, destaca-se o facto de o CD63 não ser selectivo de basófilos, encontrando-se expresso noutros leucócitos e em plaquetas activadas. Desta forma, a utilização no TAB da expressão de CD63 como parâmetro da activação do basófilo pode contribuir para uma menor sensibilidade da técnica³⁰. Alguns estudos recentes no âmbito de alérgenos inalantes e venenos de himenópteros^{31,32} apontam para um acréscimo de sensibilidade diagnóstica do TAB com a utilização do CD203c como marcador de activação basofílica. O CD203c é constitutivo e específico dos basófilos e mastócitos, sendo expresso em células quiescentes, mas com um aumento significativo e precoce da sua expressão aquando da activação e desgranulação dos basófilos³³. Assim, Ocmant *et al.*³¹ e Eberlein-Konig *et al.*³² demonstraram que o incremento de expressão de CD203c é um marcador de activação dos basófilos mais sensível do que a expressão de CD63 para o diagnóstico de alergia ao gato e ao veneno de himenópteros, respectivamente.

No caso da doente estudada, o TAB para o extracto da fava, com avaliação por citometria de fluxo da expressão de CD63, foi claramente negativo (1,72% e 1,41% de basófilos activados para as concentrações de 2mg/mL e

0,2mg/mL respectivamente). Contudo, tendo em conta os aspectos interpretativos referidos, este resultado não permite excluir categoricamente a hipótese de alergia à fava. As conclusões de Ocmant *et al.*³¹ e Eberlein-Konig *et al.*³² no âmbito de alergia ao gato e a venenos de himenópteros não podem ser extrapoladas para os alérgenos alimentares. De qualquer forma, fica em aberto se a realização de TAB com avaliação da expressão do CD203c poderia neste caso clínico acrescentar alguma informação diagnóstica.

A prova de provocação oral duplamente cega e controlada por placebo continua a ser o *gold standard* para o diagnóstico de alergia alimentar^{34,35}. Contudo, não é um procedimento isento de riscos, particularmente nos casos de anafilaxia, onde está contra-indicada. Neste caso clínico, apesar da suspeita de anafilaxia à fava (verificou-se atingimento de mais de um órgão/sistema no primeiro episódio), a remissão da sintomatologia verificou-se após uma toma única de anti-histamínico oral e toda a investigação alergológica direccionada revelou-se negativa. Apesar de ser discutível, os autores realizaram a PPO após o consentimento informado da doente. A PPO foi realizada de forma aberta pela dificuldade de ocultação e de controlo com placebo do alimento em questão, utilizando favas guisadas em semelhança ao primeiro episódio descrito. A PPO com favas congeladas foi negativa, revelando-se positiva com favas frescas, com o aparecimento de prurido palmar e plantar e urticária generalizada na primeira hora. Os autores sugerem como hipótese explicativa a eventual perda de alergenicidade do alimento, determinada pelo método de congelação.

A PPO positiva permitiu concluir a marcha diagnóstica, em que a reprodutibilidade clínica foi o fio condutor da investigação alergológica, mesmo perante a negatividade dos exames que podem demonstrar reacção IgE mediada. A evidência clínica foi mandatória na abordagem desta doente e indicia com grande probabilidade uma reacção de hipersensibilidade imediata à fava. O mecanismo de hipersensibilidade envolvido fica, no entanto, por demonstrar.

REFERÊNCIAS

1. Martinez M, Ibañez MD, Fernandez-Caldas E. Hypersensitivity to members of the botanical order Fabales (legumes). *Invest Allergol Clin Immunol* 2000; 10:187-99.
2. Mataix J, Salido GM. Importancia de las legumbres en la nutrición humana. *Fundación Española de la Nutrición: série Informes n.º 1*, 1985.
3. Liener IE. Toxic factors in edible legumes and their elimination. *Am J Clin Nutr* 1962; 11:281-98.
4. Steinman HA. Hidden allergens in foods. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98:241-50.
5. Ibáñez MD, Martínez M, Fernández-Caldas E, Sánchez JJ, Marañón F, Alonso E. Allergy to legumes. *Clinical and immunological studies. Cuadernos de Inmunoalergología Pediátrica* 1997; 12:57-8.
6. Crespo JF, Pascual C, Burks AW, Helm RM, Esteban MM. Frequency of food allergy in a pediatric population from Spain. *Paediatr Allergy Immunol* 1995; 6:39-43.
7. Sicherer SH, Muñoz-Furlong A, Burks AW, Sampson HA. Prevalence of peanut and tree nut allergy in the US determined by a random digit dial telephone survey. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103:559-62.
8. Breitereder H, Ebner C. Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106:27-36.
9. Burks AW, Williams LW, Thresher W, Connaughton C, Cockrell G, Helm RM. Allergenicity of peanut and soybean extracts altered by chemical or thermal denaturation in patients with atopic dermatitis and positive food challenges. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90:889-97.
10. Hong SJ, Michael JG, Fehring A, Leung DY. Pepsin digested peanut maintains T cell epitopes but no IgE epitopes. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104:473-7.
11. Ibañez MD, Martínez M, Marañón F, Fernández-Caldas E, Alonso E, Laso MT. Specific IgE determination to crude and boiled lentil (*Lens culinaris*) extracts in lentil-sensitive children and controls. *Allergy* 1999; 54:1209-14.
12. Martínez M, Ibañez MD, Fernández-Caldas E, Marañón F, Rosales MJ, Laso MT. Specific IgE levels to *Cicer arietinum* (chick-pea) in tolerant and non-tolerant children. Evaluation of boiled and raw extracts. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 121:137-43.
13. Codina R, Oehling AG, Lockey RF. Neoallergens in heated soybean hull. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; 117:120-5.
14. Bernhisel-Broadbent J, Sampson HA. Cross-reactivity in the legume botanical family in children with food hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83:435-40.
15. Martínez M. Estudio clínico-epidemiológico de la sensibilización a legumbres, identificación y caracterización de los alérgenos principales de diferentes legumbres. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid, 2001.

16. Crockard AD, Ennis M. Laboratory-based allergy diagnosis: should we go with the flow? *Clin Exp Allergy* 2001; 31:975-7.
17. Sampson HA. Update on food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113:805-19.
18. Ortolani C, Ispano P, Pastorello EA, Ansaloni R, Magri GC. Comparison of results of skin prick tests (with fresh foods and commercial food extracts) and RAST in 100 patients with oral allergy syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83:683-90.
19. De Weck AL, Sanz ML. Flow-cytometric cellular allergen stimulation test (FAST/FlowCAST). Technical and clinical evaluation of a new diagnostic test in allergy and pseudo-allergy. *Allergy Clin Immunol Int* 2002; 14:204-15.
20. Knol EF, Mul FJ, Jansen H, Calafat J, Ross D. Monitoring human basophil activation via CD63 monoclonal antibody. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 88:328-38.
21. Sanz ML, Sánchez G, Gamboa PM et al. Allergen-induced basophil activation: CD63 cell expression detected by flow cytometry in patients allergic to *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Lolium perenne*. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:1007-13.
22. Ebo DG, Lechkar B, Schuerwegh AJ, Bridts CH, De Clerck LS, Stevens WJ. Validation of two-color flow cytometric assay detecting in vitro basophil activation for the diagnosis of IgE-mediated natural rubber latex allergy. *Allergy* 2002; 57:706-12.
23. Sainte-Laudy J, Sabbah A, Drouet M, Lauret MG, Loiry M. Diagnosis of venom allergy by flow cytometry. Correlation with clinical history, skin tests, specific IgE, histamine and leukotriene C4 release. *Clin Exp Allergy* 2000; 30:1166-71.
24. Moneret-Vautrin DA, Sainte-Laudy J, Kanny G, Fremont S. Human basophil activation measured by CD63 expression and LCT4 release in IgE-mediated food allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82:33-40.
25. Garcia-Aviles C, Sanchez-Lopez G, Sanz ML et al. Flow cytometric Cellular Allergen Stimulation Test (FAST) in the in vitro diagnosis of food allergy. *Allergy* 2000; 55 (Suppl 63):128.
26. Ebo DG, Hagendorens MM, Bridts CH, Schuerwegh AJ, De Clerck LS, Stevens WJ. Flow Cytometric analysis of in vitro activated basophils, specific IgE and skin tests in the diagnosis of pollen-associated food allergy. *Cytometry B Clin Cytom* 2005; 64:28-33.
27. Erdmann SM, Sachs B, Schmit A, et al. In vitro analysis of birch-pollen associated food allergy by use of recombinant allergens in the basophil activation test. *Int Arch Allergy Immunol* 2005; 136:230-8.
28. Leon MP, Drew AC, Glaspole IN, Suphiolu C, O'Hehir RE, Rolland JM. IgE cross-reactivity between the major peanut allergen Ara h 2 and tree nut allergens. *Mol Immunol* 2007; 44:463-71.
29. Leon MP, Drew AC, Glaspole IN, Suphioglu C, Rolland JM, O'Hehir RE. Functional analysis of cross-reactive immunoglobulin E antibodies: peanut-specific immunoglobulin E sensitizes basophils to tree nut allergens. *Clin Exp Allergy* 2005; 35:1056-64.
30. Kleine-Tebbe J, Erdmann S, Knol EF, MacGlashan DW Jr, Poulsen LK, Gibbs BF. Diagnostic tests based on human basophils: potentials, pitfalls and perspectives. *Int Arch Allergy Immunol* 2006; 141:70-90.
31. Ocmant A, Peignois Y, Mulier S, Hanssens L, Michils A, Schandené L. Flow cytometry for basophil activation markers: the measurement of CD203c expression is as reliable as CD63 up-regulation in the diagnosis of cat allergy. *J Immunol Methods* 2007; 320:40-8.
32. Eberlein-König B, Varga R, Mempel M, Darsow U, Behrendt, Ring J. Comparison of basophil activation test using CD63 or CD203c expression in patients with insect venom allergy. *Allergy* 2006; 61:1084-5.
33. Bühring HJ, Streble A, Valent P. The basophil-specific ectoenzyme E-NPP3 (CD203c) as a marker for cell activation and allergy diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 133:317-29.
34. Bruijnzeel-Koomen C, Ortolani C, Aas K, et al. Adverse reactions to food. European Academy of Allergology and Clinical Immunology Subcommittee. *Allergy* 1995; 50:623-35.
35. Bindslev-Jensen C, Ballmer-Weber BK, Bengtsson U, et al. Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods – position paper from the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 2004; 59:690-7.