

Curso de alérgenos e imunoterapia – Abordagem molecular

Rev Port Imunoalergologia 2014; 22 (4): 291-301

Amélia Spínola Santos¹, Elisa Pedro², Manuel Branco Ferreira³, Célia Costa⁴, Luís Delgado⁵, Maria Conceição Santos⁶

¹ Assistente Hospitalar Graduada de Imunoalergologia, Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Lisboa Norte;

² Assistente Hospitalar Graduada Sénior de Imunoalergologia, Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Lisboa Norte;

³ Assistente Hospitalar Graduado de Imunoalergologia, Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Lisboa Norte; Professor Auxiliar Convitado, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa;

⁴ Assistente Hospitalar de Imunoalergologia, Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Lisboa Norte;

⁵ Professor Associado Agregado, Regente de Imunologia Básica, Imunologia Clínica, Faculdade de Medicina da Universidade Porto; Assistente Graduado Sénior, Serviço de Imunoalergologia do Centro Hospitalar de São João, Porto;

⁶ Professora Associada de Imunologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa; Investigadora Coordenadora do Laboratório de Imunologia do Instituto de Medicina Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

A 2.^a edição do **Curso alérgenos e Imunoterapia – A abordagem molecular**, decorreu em paralelo com o primeiro dia da Reunião Anual da Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica (SPAIC), dia 3 Outubro de 2014. Foi organizado pelo Grupo de Interesse de Alérgenos e Imunoterapia com o apoio da *Thermo Fisher Scientific*, e a sua coordenação teve a cargo da Dra. Amélia Spínola Santos, Dra. Elisa Pedro, Prof. Doutor Luís Delgado e Prof. Doutora Maria da Conceição Santos, destinou-se a Internos, Especialistas de Imunoalergologia e outros profissionais de saúde com interesse nesta área e teve como objetivos principais:

- Atualização nos métodos de diagnóstico em Imunoalergologia com base no contributo dos componentes moleculares.
- Caracterização do perfil de sensibilização de doentes com alergia alimentar, respiratória e a veneno de himenópteros.

- Implicações no diagnóstico pelos principais componentes sensibilizantes na decisão terapêutica – evicção e/ou imunoterapia com alérgenos (ITA)

O curso contou com 37 participantes e decorreu em três partes, na 1.^a parte iniciou-se com uma mensagem de boas vindas a todos os participantes pelo Prof Dr. Luís Delgado que de seguida fez apresentação dos palestrantes. Em seguida tomou a palavra Dr. Paulo Dias, Diretor Ibérico da *Thermo Fisher Scientific* agradeceu a oportunidade de poder apoiar uma ação formativa da SPAIC numa área de ponta da Imunoalergologia. Em seguida, o Prof. Manuel Branco Ferreira desenvolveu o tema “**Resposta Imune e Alergia**”, onde abordou a imunofisiopatologia da resposta alérgica, nas duas vertentes de resposta imediata e de resposta tardia, chamando-se a atenção para o papel central que a inflamação alérgica desempenha neste processo e para os seus desencadeantes, nomeadamente os principais alérgenos em Portugal. Foram

abordados os conceitos de reatividade cruzada e, embora de uma forma sucinta, os mecanismos de modulação imunitária induzidos pela imunoterapia com alérgenos. O resumo da sua apresentação está disponibilizado abaixo. Seguiu-se o Prof. Doutor Ángel Barahona com os seguintes temas: “**Introdução ao diagnóstico *in vitro*. Diagnóstico por componentes. Componentes nativos e recombinantes. Componentes isolados e microarray – ImmunoCap e ISAC**”. Iniciou a sua apresentação alertando para o facto de o diagnóstico molecular contribuir para alteração da praxis clínica alergológica. Abordou as metodologias de determinação dos alérgenos moleculares disponíveis, caracterizou os alérgenos moleculares importantes na prática clínica e o impacto da sensibilização primária e secundária no diagnóstico preciso e suas consequências nomeadamente no impacto decisão de imunoterapia a alérgenos ou na análise de fatores de risco de gravidade de doença.

Na 2.^a parte foram apresentados três temas teórico-práticos incluindo a discussão de dois casos clínicos para cada um dos temas. Estes temas tiveram a seguinte sequência:

- 1 – Alergia respiratória:** Marcadores de sensibilização e reatividade cruzada, apresentado pela Dra. Amélia Spínola Santos;
- 2 – Alergia alimentar:** Marcadores de sensibilização e reatividade cruzada, apresentado pela Dra. Célia Costa.
- 3 – Alergia a veneno de himenópteros:** Marcadores de sensibilização e reatividade cruzada, apresentado pela Dra. Elisa Pedro.

O conteúdo de cada uma destas apresentações encontra-se resumido pelos seus autores abaixo.

A 3.^a parte, foi moderada pela Prof. Doutora Maria da Conceição Santos, que se iniciou com o resumo dois casos clínicos de cada um dos prelectores anteriores e apresentação do resultado do estudo molecular de cada caso clínico, permitindo a comparação e discussão das

respostas de uma forma didática com sistema televoto relativamente a avaliação inicial sem estudo molecular.

Ainda na 3.^a parte a Professora Conceição Pereira Santos fez a **demonstração prática dos métodos de diagnóstico *in vitro* – ImmunoCap e ISAC**.

Antes de finalizar os prelectores dos temas teórico-práticos, mostram os algoritmos de diagnóstico na alergia respiratória, na alergia alimentar e na alergia ao veneno de himenópteros, destacando o contributo dos principais componentes sensibilizantes nesses algoritmos e a sua implicação nas decisões diagnósticas e terapêuticas.

As conclusões estiveram a cargo dos Prof. Doutores Maria da Conceição Santos, Ángel Barahona e Manuel Branco Ferreira, que destacaram a importância crescente dos componentes moleculares no diagnóstico da doença alérgica, sensibilização genuína versus reatividade cruzada em doentes polissensibilizados, no prognóstico, avaliando o risco de reacção sistémica grave no caso concreto da alergia alimentar, levando a uma considerável melhoria em termos de prática clínica. Destacou-se se a necessidade do conhecimento do perfil de sensibilização nomeadamente na área de alergia respiratória permitindo a seleção dos candidatos à imunoterapia a alérgenos assim com a escolha da composição desta imunoterapia.

RESPOSTA IMUNE E ALERGIA

As reacções alérgicas são reacções de hipersensibilidade, mediadas por mecanismo imunológico. Aquelas em que não há um mecanismo imunológico designam-se “não alérgicas” sendo muitas vezes mediadas por mecanismos enzimáticos. Nas reacções alérgicas podem estar envolvidos mecanismos IgE mediados, designando-se estas por doenças atópicas, referindo-se a atopias a uma tendência pessoal ou familiar para produzir IgE em resposta a doses baixas de alérgenos e para desenvolver sintomas típicos de asma, rinoconjuntivite ou dermatite (Figura 1).



Figura 1. Classificação das reações de hipersensibilidade

No entanto, a resposta alérgica não se confina à desgranulação IgE-mediada das células mediadoras, sendo na sua globalidade uma resposta inflamatória complexa com participação de múltiplas células e que se inicia com a penetração dos alérgenos em maior profundidade, franqueando as primeiras barreiras de defesa do organismo. Aí são captados e processados pelas células apresentadoras de antígeno, que desempenham um papel de charneira no desencadear da resposta alérgica subsequente, que sumariamente consiste na apresentação a células T que são desviadas para um fenótipo Th2, cooperação entre estas células T e células B, induzindo a diferenciação linfocitária B e consequente transformação em plasmócitos após o *switch* isotípico que faz com que estas células passem a produzir IgE específica para os alérgenos em questão. Todo este processo está na dependência de múltiplos co-estímulos (citocinas, moléculas de adesão e de activação ou regulação celular) que podem fazer como que o processo avance ou, pelo contrário, se frene.

Uma vez que esta resposta alérgica esteja suficientemente desenvolvida, o organismo irá então passar a responder de forma imediata ao contacto com os alérgenos respectivos, cuja ligação às IgE à superfície de células mediadoras desencadeia uma cadeia de eventos de activação que levam à desgranulação celular. Esta desgranulação implica a libertação de mediadores pré-formados que estão contidos nos grânulos (histamina, citocinas e enzimas várias) e também a activação da produção de mediadores neoformados, quer a partir dos fosfolípidos da membrana (leucotrienos e pros-

taglandinas) quer a partir da activação da síntese proteica intracelular. Depois de libertados, estes mediadores vão atuar quer nas células dos órgãos-alvo desencadeando os vários sintomas da doença alérgica (Quadro 1) quer em outras células do sistema imune, activando-as e recrutando-as para o processo inflamatório num ciclo de amplificação que, nestes casos, é mais deletério que benéfico (Figura 2).

Quadro 1. Alguns mediadores da doença alérgica e respectivas consequências

Histamina, Serotonina, PAF, Cininas, Leucotrienos Prostaglandinas, Tromboxano ECP, Proteínas Eosinofílicas Citocinas	Vasodilatação, Edema, Exsudação plasmática, Contração músculo liso, Hipercremia, Discrinia, Estimulação das terminações nervosas Broncoconstrição, Tosse, Pieira, Dispneia Rinorreia, Esternutos, Obstrução, Prurido nasal, Hiperémia, Prurido conjuntival, Lacrimejo Urticária, Diarreia, Vômitos, Hipotensão, Choque
---	--

Existem múltiplas possibilidades de intervenção terapêutica nos vários pontos que estão alterados. Algumas dessas intervenções são independentes dos alérgenos causais, como é o caso da farmacoterapia actual ou como será o caso de novas intervenções que visem alterar o balanço Th2/Th1 ou a estimulação de células T reguladoras (pré e próbióticos, oligonucleótidos, endotoxinas, citocinas reguladoras, etc). Outras intervenções, por seu lado, implicam o conhecimento tão exato quanto possível das proteínas que constituem o estímulo desencadeador de todo este processo. Os métodos clínicos correntes utilizam apenas extractos alérgenos (misturas de várias proteínas), tanto nos testes como nas determinações de IgE específica, como na própria intervenção terapêutica que é a imunoterapia com alérgenos. É pois um indubitável avanço científico a identificação de quais as proteínas (dentro da mistura complexa que é um extracto alérgico) que especificamente são as responsáveis pelos sintomas, existindo já evidência de que a utilização dos alérgenos moleculares confere benefícios práticos efectivos na decisão da prescrição de imunoterapia com alérgenos.

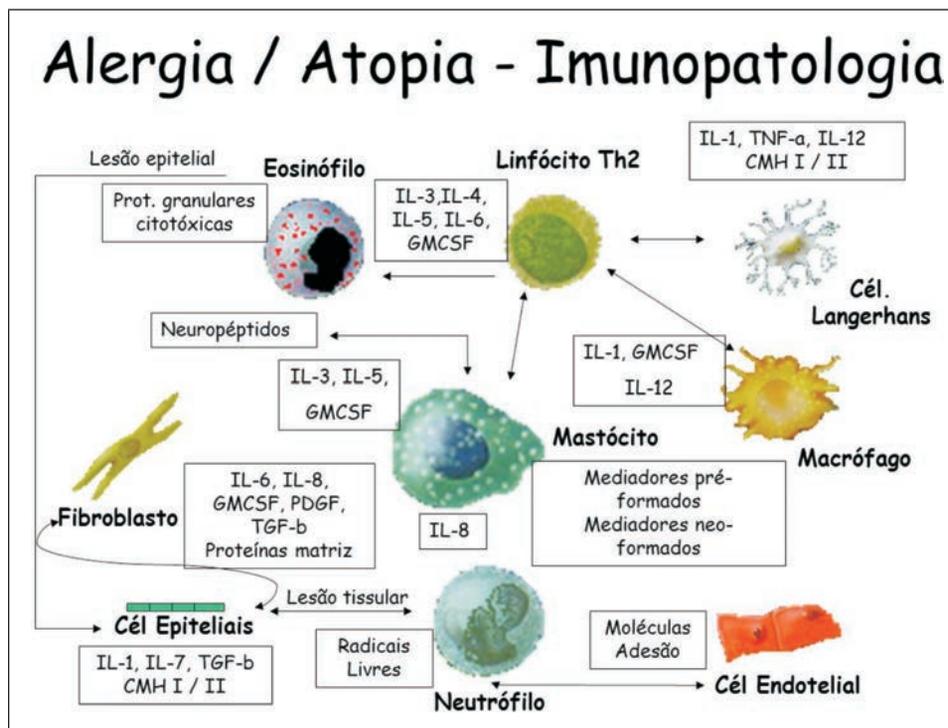


Figura 2. Immunopatologia simplificada das reacções alérgicas IgE-mediadas

ALERGIA RESPIRATÓRIA: MARCADORES DE SENSIBILIZAÇÃO E REATIVIDADE CRUZADA

A determinação de alérgenos moleculares na prática clínica deve estar reservada aos especialistas de imunoalergologia depois da realização de uma completa e detalhada história clínica e da realização de testes cutâneos em picada. A sua determinação pode ser feita por *singleplex* (monocomponentes com a tecnologia *ImmunoCAP*) ou *multiplex* (pela tecnologia *ISAC – ImmunoCAP Solid-Phase Allergen Chip*) que inclui atualmente um painel de 112 alérgenos. A opção por *singleplex* ou *multiplex* deve ser equacionada de acordo com a relação custo benefício e complexidade do caso clínico.

De acordo com os vários trabalhos epidemiológicos cerca de 27,5% a 73,5% dos doentes com alergia respiratória são polissensibilizados. Esta polissensibilização pode ser devida a diferentes sensibilizações primárias ou corresponder à sensibilização de um ou mais panalérgenos, isto é devido a reatividade cruzada.

O conhecimento do perfil de alérgenos moleculares na alergia respiratória é importante em quatro vertentes:

1. Contribuí para a caracterização do perfil de risco do doente;
2. Caracteriza a sensibilização primária;
3. Ajuda a seleccionar os doentes candidatos à imunoterapia com alérgenos (ITA);
4. Otimiza a escolha da composição da ITA.

O perfil de sensibilização está associado a determinados fatores de risco que têm sido referenciados por alguns autores como:

- Sensibilização ácaros do grupo 10 (*Der p 10*, *Der f 10*...) associados a alergia a marisco;
- Sensibilização a *Phl p 5*, está associado a asma e também referenciado como fator de risco de sensibilização a panalergénio – profilina;
- Sensibilização a *Ole e 7* e *Ole e 9*, estão associadas a reação adversa à ITA.

Na sensibilização aos ácaros do pó doméstico, verificamos que uma pequena percentagem de doentes tem alergia aos crustáceos. Na alergia ao camarão os alérgenos moleculares permitem distinguir a sensibilização primária ao camarão da sensibilização por reatividade cruzada. Assim, num doente com história de alergia ao camarão e com teste cutâneo positivo para o camarão, o estudo dos alérgenos moleculares *Der p 1*, *Der p 2* e *Der p 10/Pen a 1* pode diferenciar 3 tipos de situações distintas:

- Sensibilização primária ao camarão (*Der p 1* –, *Der p 2* – e *Der p 10/Pen a 1* +)
- Sensibilização primária aos ácaros com desenvolvimento de sIgE para tropomiosina do camarão (*Der p 1* +, *Der p 2* +, *Der p 10/Pen a 1* +)
- A positividade ao camarão pode ser devida a outra molécula com reatividade cruzada com ácaros (*Der p 1* +, *Der p 2* +, *Der p 10/Pen a 1* -)

Conhecendo o perfil de sensibilização aos ácaros, podemos selecionar os doentes que podem beneficiar com a ITA. Neste contexto, um doente sensibilizado *Der p 1*+ e *Der p 2*+ com *Der p 10* – irá ter uma melhor resposta à imunoterapia com uma vacina 100% *D. pteronyssinus* do que o doente com *Der p 1*+ e *Der p 2*+ e *Der p 10*+. O doente com sensibilização apenas a *Der p 10* não irá beneficiar com este tipo de imunoterapia.

Dado a reatividade cruzada entre ácaros do pó doméstico, o *Lep d 2* é um marcador de sensibilização primária e a sua determinação pode discriminar os candidatos a imunoterapia ácaros de armazenamento.

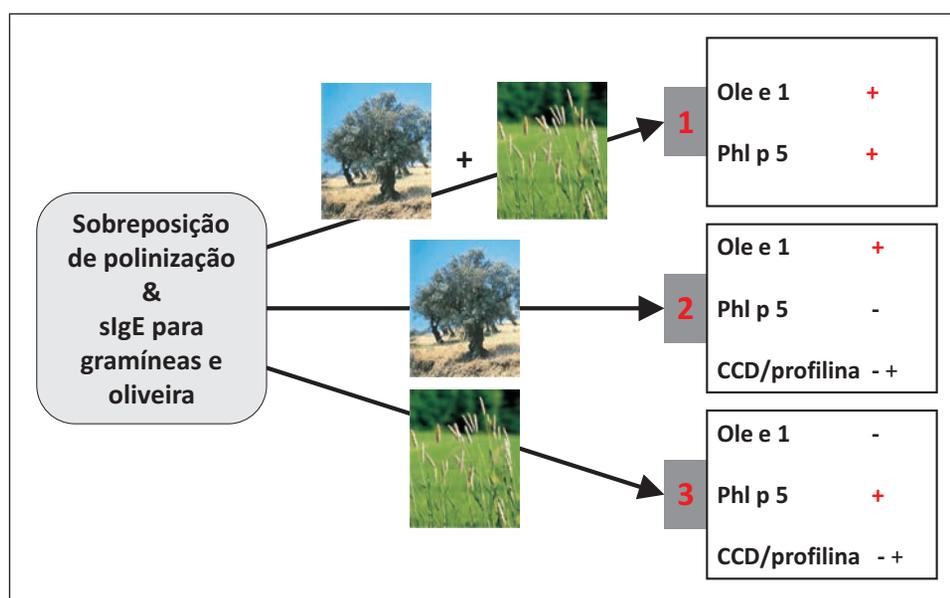


Figura 1. Sensibilização específica: Escolha da composição de imunoterapia

A sensibilização aos pólenes tem vindo a aumentar e a presença de panalergénios como a profilina (*Phl p 12*) ou a polcalcina (*Phl p 7*) são sensibilizações frequentes e são reconhecidos como marcadores de reatividade cruzada. A sua determinação pode ser importante no sentido de prever uma menor eficácia da resposta à ITA, condicionando escolha da composição da imunoterapia adequada com base na sensibilização primária.

Em Portugal os dois pólenes mais implicados na alergia respiratória são os de gramíneas e oliveira. É impossível determinar a sensibilização primária com base na história clínica e testes cutâneos pois a polinização ocorre em simultâneo. Nos doentes que têm testes positivos a estes dois alergénios é importante distinguir os doentes com sensibilização primária dos de sensibilização cruzada. As *sIgE* para o extrato total também não nos permitem diferenciar, assim a determinação de monocomponentes *Phl p 5*, *Phl p 12* e *Ole e I* permite optar pela vacina ou vacinas de acordo com o perfil de sensibilização do doente como se pode ver na Figura 1.

Os estudos internacionais na área de alergia respiratória sobretudo na sensibilização aos pólenes, têm demonstrado que determinação dos alergénios moleculares têm um papel importante na seleção e otimização da ITA e verificam que de uma forma geral que cerca de 50% dos doentes têm necessidade de reformular a decisão/ composição de imunoterapia a alergénios.

REFERÊNCIAS

1. Resch Y, Weghofer M, Seiberler S, Horak F, Scheibhofer S, Linhart B et al. Molecular characterization of Der p 10: a diagnostic marker for broad sensitization in house dust mite allergy. *Clin Exp Allergy* 2011;4:1468-77.
2. Tripodi S, Frediani T, Lucarelli S, Macri F, Pingitore G, Di Rienzo Businco A et al. Molecular profiles of IgE to Phleum pratense in children with grass pollen allergy: implications for specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:834-39.
3. Sastre J, Landivar ME, Ruiz-García M, Andregnette-Rosigno MV, Mahillo I. How molecular diagnosis can change allergen-specific immunotherapy prescription in a complex pollen area. *Allergy* 2012;67:709-11.
4. Barber D, Arias J, Boquete M, Cardona V, Carrillo T, Gala G et al. Analysis of mite allergic patients in a diverse territory by improved diagnostic tools. *Clin Exp Allergy* 2012;42:1129-38.
5. Canonica GW, Ansotegui IJ, Pawankar R, Schmid-Grendelmeier P, van Hage M, Baena-Cagnani CE, et al. A WAO-ARIA-GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World Allergy Organ J* 2013;6:17.
6. Passalacqua G, Melioli G, Bonifazi F, Bonini S, Maggi E, Senna G et al (Italian ISAC Study Group). The additional values of microarray allergen assay in the management of polysensitized patients with respiratory allergy. *Allergy* 2013;68:1029-33.
7. Letrán A, Espinazo M, Moreno F. Measurement of IgE to pollen allergen components is helpful in selecting patients for immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013;111:295-7.
8. Stringari G, Tripodi S, Caffarelli C, Dondi A, Asero R, Di Rienzo Businco A, et al. The effect of component-resolved diagnosis on specific immunotherapy prescription in children with hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:75-81.
9. Luengo O, Cardona V. Component resolved diagnosis: when should it be used? *Clin Transl Allergy* 2014;4:28.

ALERGIA ALIMENTAR: MARCADORES DE SENSIBILIZAÇÃO E REATIVIDADE CRUZADA

O **correto diagnóstico** de alergia alimentar é crucial, por um lado, para evitar exposições inadvertidas e subsequente risco de reações sistémicas, incluindo anafilaxia, em doentes verdadeiramente alérgicos e, por outro lado, para prevenir falsos diagnósticos de alergia alimentar e consequentemente dietas restritivas desnecessárias, com risco de situações de subnutrição/desnutrição.

No diagnóstico de alergia alimentar, o *gold-standard* continua a ser a prova de provocação oral. No entanto, esta tem riscos, é dispendiosa, para além do consumo de tempo e de recursos humanos, pelo que a existência de métodos de diagnóstico que a pudessem obviar, com elevado grau de sensibilidade e especificidade, seria de extrema importância na prática clínica. Os estudos efetuados com o resultado dos testes cutâneos (diâmetro médio da pápula) e dos valores séricos da *IgE* específica para extrato total não têm demonstrado valores preditivos suficientemente elevados para serem aplicados à prática clínica, para além da elevada heterogenei-

dade dos *cut-off* obtidos nos diferentes estudos, os quais são influenciados por vários fatores, como a idade do doente, a patologia alérgica de base, o tipo de alimento, o método utilizado entre outros. Nos últimos anos, a inclusão dos alérgenos moleculares na prática clínica tem vindo a melhorar alguns dos aspectos anteriormente referidos, otimizando a abordagem diagnóstica e terapêutica de alergia alimentar.

Dada a complexidade e a identificação crescente de múltiplos alérgenos num mesmo alimento, as múltiplas possibilidades de sensibilização e a existência do fenómeno de reatividade cruzada entre os vários alérgenos alimentares e entre estes e os aeroalérgenos, a **abordagem molecular na alergia alimentar** é extremamente relevante e permite:

- **Aumentar a sensibilidade diagnóstica**
 - **Diferenciar entre sensibilização primária, sensibilização cruzada ou co-sensibilização**
 - **Avaliar o risco de reação e a sua gravidade, minimizando a necessidade da realização de provas de provocação, não isentas de risco, e melhorar o aconselhamento relativo a medidas de evicção**

- **Avaliar o prognóstico (perfis de sensibilização associados a persistência de alergia)**
- **Determinar padrões regionais de sensibilização**
- **Determinar alérgenos relevantes para imunoterapia**

Ao longo da palestra, foram abordados os algoritmos diagnósticos relativos aos principais grupos de alimentos de origem animal (leite, ovo, peixe, mariscos) e vegetal (frutos frescos, amendoim e frutos secos) de modo a facilitar o correto diagnóstico de alergia alimentar na prática clínica. A identificação de sensibilização a alérgenos moleculares que permitam de uma forma simples e com pouco ou nenhum risco clínico, mas com elevada sensibilidade e especificidade na determinação da probabilidade de alergia clínica e qual o seu prognóstico, em termos de duração e gravidade, tem-se mostrado de extrema importância prática na avaliação de doentes com alergia alimentar.

De salientar, por exemplo, a caseína na alergia ao leite, o ovomucoide na alergia ao ovo e a parvalbumina na alergia ao peixe. A IgE específica para caseína (*Bos d 8*) é um bom indicador **de reação clínica** e de **persis-**

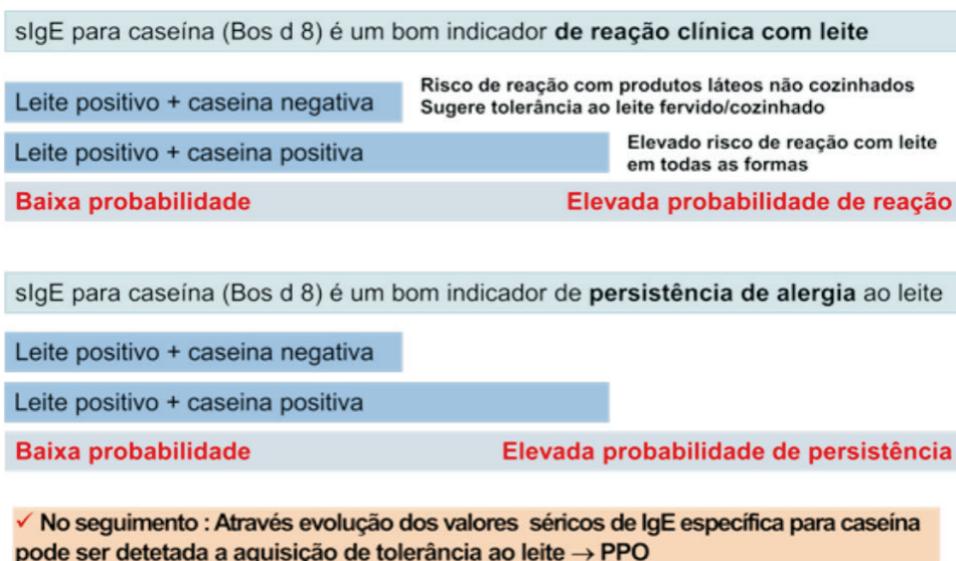


Figura 1. Algoritmo de diagnóstico / prognóstico de alergia ao leite de vaca

tência de alergia ao leite de vaca em todas as formas, quer cru, quer cozinhado. A ausência de sensibilização à caseína sugere tolerância ao leite fervido/cozinhado, embora possa haver risco de reação com produtos láteos não cozinhados (Figura 1). sIgE para **Gal d 1 (ovomucoide)** é um bom indicador de **reação clínica e de persistência** da alergia ao ovo em todas as apresentações (quer cru, quer cozinhado). A ausência de sensibilização ao ovomucoide sugere tolerância ao **ovo extensamente cozinhado**, embora possa haver risco de reação com **ovo crú ou mal cozinhado** (Figura 2).

Relativamente aos alimentos de origem vegetal, estão descritos vários alérgenos, nomeadamente proteínas de transferência lipídica (LTPs), profilinas, proteínas análogas de *Bet v 1* ou proteínas de defesa do grupo 10 (PR-10), polcacinas, taumatinas, proteínas de armazenamento, marcadores CCD (*cross-reactive carbohydrate determinants*), os quais existem, na maioria dos casos, simultaneamente no mesmo alimento, condicionando diferentes perfis de sensibilização, com diferente repercussão clínica e prognóstica na doente alérgico. O risco de causar sintomas resulta da estabilidade (térmica e enzimática) da proteína alérgica à qual o doente está sensibilizado e da quantidade de

alergénio existente no alimento. Habitualmente, o maior potencial para desencadear reação alérgica e de maior gravidade, estão proporcionalmente associados com sensibilização a profilina, PR-10, LTP, proteínas de armazenamento, respetivamente.

Presentemente, a identificação molecular dos principais alérgenos alimentares tem permitido avanços importantes na terapêutica de alergia de alimentar, nomeadamente a produção de extratos para imunoterapia com alérgenos alimentares, já com aplicabilidade na prática clínica como a imunoterapia sublingual com *Pru p 3*.

Em Conclusão, **a abordagem molecular na alergia alimentar** permite uma **maior sensibilidade no diagnóstico, prognóstico e terapêutica** desta patologia tão complexa.

REFERÊNCIAS

1. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, et al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy* 2014; 69:1008-25.
2. Sampson HA, Gerth van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Burks AW, et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral

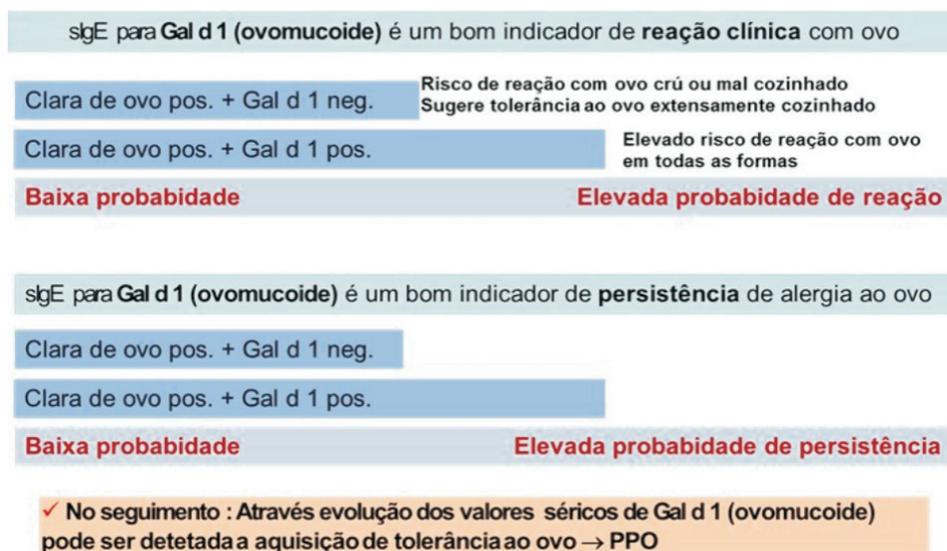


Figura 2. Algoritmo de diagnóstico / prognóstico de alergia ao ovo

food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology - European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130: 1260-74.

3. Järvinen KM, Sicherer SH. Diagnostic oral food challenges: procedures and biomarkers. *J Immunol Methods* 2012; 383:30-8.
4. Kattan JD, Wang J. Allergen Component Testing for Food Allergy: Ready for Prime Time? *Curr Allergy Asthma Rep* 2013; 13: 58-63.
5. Canonica GW, Ansotegui IJ, Pawankar R, Schmid-Grendelmeier P, van Hage M, Baena-Cagnani CE, et al. A WAO – ARIA – GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World Allergy Organization J* 2013; 6:17.
6. 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* 2013; 42: 1529-39.
7. Sokolova A, Costa AC, Pereira Barbosa M, Trindade JC, Bento L, Pereira Santos MC. *Microarray-immuno solid-phase allergen chip* na avaliação do perfil de sensibilização às proteínas do leite de vaca. *Rev Port Imunoalergologia* 2009;17:325-42.
8. Duarte F, Costa AC, Trindade JC, Bento ML, Pereira Santos C. The use of recombinant fish parvalbumins (*rCyp c1*; *rGad c1*) in the diagnosis and prognosis of fish allergic patients. *Allergy* 2009; 64 (Suppl 90): 48-9.
9. Rodrigues-Alves R, Lopez 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.
10. Luz S, Lopes A, Spínola Santos A, Costa AC, Pereira Barbosa M, Pereira Santos MC. Tree nuts allergy: LTPs sensitisation as a possible increasing risk factor of systemic symptoms. *Allergy* 2010; 65 (Suppl.92): 401.
11. Costa AC, Melo A, Duarte F, Pedro E, M Pereira Barbosa, MC Pereira Santos. Efficacy and safety of sublingual specific immunotherapy with *Pru p 3* in a portuguese population -clinical and immunological evaluation during 12 months *World Allergy Organization Journal* 2014;7(Suppl 1): 11.
12. Costa AC, Melo A, Duarte F, Pedro E, Pereira Barbosa M, Pereira Santos MC. Sublingual Specific Immunotherapy with *Pru p 3* in 10 Portuguese Patients – Clinical and Immunological Evaluation along 12 months. *International J Immunorehabilitation* 2014;16:43-4.

ALERGIA A VENENO DE HIMENÓPTEROS: MARCADORES DE SENSIBILIZAÇÃO E REATIVIDADE CRUZADA.

A percentagem de anafilaxia com picada de himenóptero na população geral é superior a 3%, mais frequentemente com abelha ou vespa.

O diagnóstico da alergia a veneno de himenópteros é baseado na história clínica de reacção sistémica (RS) com a picada do inseto, testes cutâneos (TC) positivos e IgE específicas (IgEs) positivas para o veneno de abelha, vespa ou polistes, com o objetivo de identificar o inseto responsável pela reacção. A triptase sérica basal deve ser doseada nos casos de RS grave e quando está elevada é um fator de risco para anafilaxia (Figura 1).

Os TC positivos e a presença de IgEs são devidos a estruturas homólogas primárias (hialuronidase, dipeptidil peptidases IV, vitelogeninas) e a CCDs (cross-reactive carbohydrate determinants) que estão presentes na maioria dos alergénios dos venenos.

Estima-se que mais de 30% dos doentes com história de RS têm TC negativos para todos os venenos, geralmente pela limitada sensibilidade dos extratos alergénicos utilizados nos TC e que destes, 57% também têm IgEs negativas.

Por outro lado mais de 59% dos doentes com alergia ao veneno de himenóptero revelam dupla positividade nas IgEs para abelha e vespa, nestes casos são necessários exames laboratoriais adicionais e os alergénios recombinantes podem distinguir dupla sensibilização primária de reatividade cruzada, contribuindo para o diagnóstico correto.

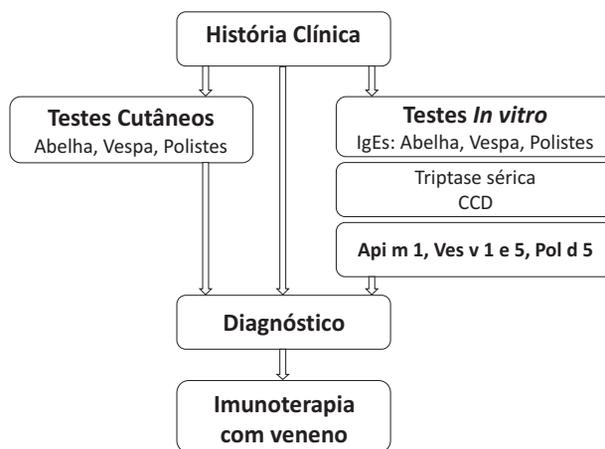


Figura 1. Alergia a veneno de himenóptero – Diagnóstico e tratamento

Os principais alergénios específicos de espécie com reconhecido valor diagnóstico, atualmente identificados, são: *Api m 1* para *Apis mellifera*, *Ves v 1* e *Ves v 5* para *Vespa vulgaris* e *Pol d 5* para *Polistes dominulus*. A fosfolipase A2 (*Api m 1*) é o principal alergénio da abelha enquanto o antígeno 5 (*Ves v 5* e *Pol d 5*) é o principal alergénio dos vespídeos (vespa e polistes). A fosfolipase A1 (*Ves v 1* e *Pol d 1*) ajuda ao diagnóstico de alergia a vespídeos (Figura 2).

A hialuronidase (*Api m 2*, *Ves v 2*, *Pol d 2*) comum aos três venenos é responsável pela reatividade cruzada. Os CCD (*cross-reactive carbohydrate determinants*) também implicados na reatividade cruzada têm fraca sensibilidade e pouca relevância clínica.

Quando os doentes têm dupla positividade nos TC e/ou nas IgEs pode tratar-se de verdadeira dupla sensibilização primária ou de reatividade cruzada.

Sabe-se que existe reatividade cruzada imunológica significativa entre *Apis* e *Bombus*, e entre *Vespidae* (*Vespa*, *Vespa* e *Dolichovespula*), que a reatividade cruzada entre *Vespidae*, *Apis* e *Polistes* é reduzida e que não há reatividade cruzada entre polistes europeia e polistes americana.

Nos casos de alergia ao veneno de abelha, o diagnóstico feito através da determinação de um único alergénio recombinante pode ser limitado, a *Api m 1* apenas detecta 72% dos casos de alergia, a *Api m 10* (icarapina) está presente em 61% dos casos e a *Api m 3* em 50%. Estas

sensibilizações podem também explicar os casos de ausência ou fraca resposta à imunoterapia com veneno de abelha, já que apenas 80-90% dos doentes ficam totalmente protegidos e 20-40% têm efeitos secundários com a vacina.

Recentemente foram identificadas outras proteínas, *Api m 12* e *Ves v 6* (vitelogeninas), que poderão estar implicadas na reatividade cruzada.

Conclusão: A análise de um painel de alergénios recombinantes aumenta a sensibilidade do diagnóstico de alergia ao veneno de himenópteros comparativamente com um alergénio isolado e pode distinguir entre dupla sensibilização primária e reatividade cruzada nos casos de dupla positividade nos testes cutâneos e IgE específicas (Figura 2).

BIBLIOGRAFIA

1. Mittermann I, Zidarn M, Silar M, Markovic-Housley Z, Aberer W, Korosec P, et al. Recombinant allergen-based IgE testing to distinguish bee and wasp allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:1300-7.
2. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010;40:1442-60.
3. Monsalve RI, Vega A, Marqués L, Miranda A, Fernández J, Soriano V, et al. Component-resolved diagnosis of vespid venom-allergic individuals: phospholipases and antigen 5s are necessary to identify *Vespa* or *Polistes* sensitization. *Allergy* 2012;67:528-36.

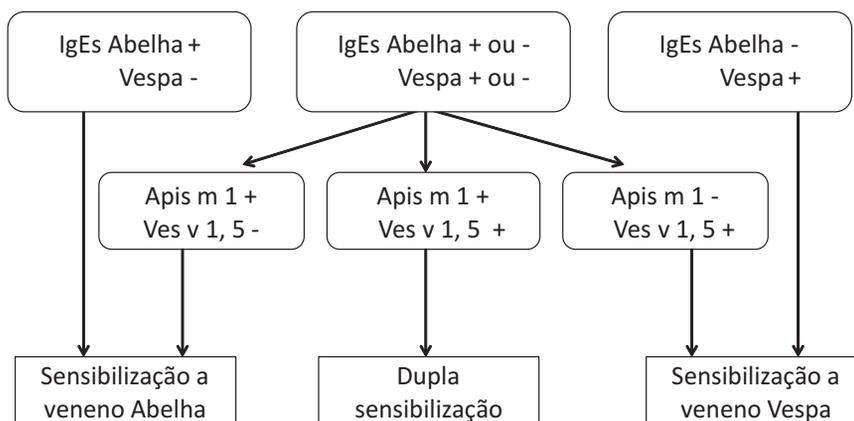


Figura 2. Alergia a veneno de himenóptero – Algoritmo de diagnóstico

4. Shin YS, Liu JN, Hur GY, Hwang EK, Nam YH, Jin HJ, et al. Clinical Features and the Diagnostic Value of Component Allergen-Specific IgE in Hymenoptera Venom Allergy. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2012;4:284-9.
5. Eberlein B, Krischan L, Darsow U, Ollert M, Ring J. Double positivity to bee and wasp venom: Improved diagnostic procedure by recombinant allergen-based IgE testing and basophil activation test including data about cross-reactive carbohydrate determinants. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:155-61.
6. Canonica GW, Ansotegui IJ, Pawankar R, Schmid-Grendelmeier P, van Hage M, Baena-Cagnani CE, et al. A WAO – ARIA – GA2LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World Allergy Organization Journal* 2013;6:17.
7. Köhler J, Blank S, Müller S, Bantleon F, Frick M, Huss-Marp J, et al. Component resolution reveals additional major allergens in patients with honeybee venom allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:1383-9.