



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Pediatria

Reatividade Cruzada Entre Alergénios de Fungos – a propósito de um Caso Clínico

Sofia Vilar Jorge nº14911

Junho'2018



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Pediatria

Reatividade Cruzada Entre Alergénios de Fungos – a propósito de um Caso Clínico

Sofia Vilar Jorge nº14911

Orientado por:

Dra. Joana Fermeiro

Junho'2018

Resumo:

A alergia alimentar corresponde a um efeito adverso, conseqüente a uma resposta imunitária, dirigida a antígenos de um alimento. Embora os fungos sejam largamente conhecidos por induzir principalmente reações alérgicas por via inalatória, estão documentados também casos de reatividade após ingestão de certos fungos. Por sua vez, a reatividade cruzada entre alérgenos corresponde a reatividade a várias proteínas com estruturas homólogas, podendo desencadear reação a um alérgeno ao qual um indivíduo não teve exposição prévia, tendo sido antes sensibilizado por um alérgeno homólogo.

O diagnóstico de alergia alimentar deverá alicerçar-se na história clínica do doente, mediante a documentação de sintomas, e em testes *in vivo*, como o *prick-prick test*; ou *in vitro*, através da determinação de IgE específicas. A prova de provocação oral pode ser útil para confirmação de diagnósticos mais duvidosos. As medidas terapêuticas são baseadas principalmente na evicção do alérgeno específico, não existindo ainda terapêutica dirigida eficaz e segura, como imunoterapia, para a grande maioria das alergias alimentares. Descreve-se o caso de uma criança de cinco anos, do sexo masculino, que teve dois episódios de anafilaxia após ingestão de cogumelos, com *prick-prick test* negativo, mas em que as IgE específicas determinadas por ImmunoCAP®/ISAC revelaram sensibilização ao alérgeno Asp f 1 do fungo *Aspergillus fumigatus*. Este alérgeno está documentado como homólogo a alguns alérgenos do *Agaricus bisporus*, que foi a espécie de cogumelo ingerido.

Palavras-chave: alergia alimentar, alérgeno, fungo, reatividade cruzada, anafilaxia

O trabalho exprime a opinião do autor e não da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Abstract:

Food allergies involve a number of adverse effects, due to an immunity response to food allergens. Although fungus are widely known to induce allergic reactions through inhalation, there are some documented cases of allergenic reactivity after the ingestion of certain fungus. On the other hand, cross reactivity occurs when there is multiple sensitization to homologous allergens and can be the cause of a reaction with an allergen to which an individual person hadn't had exposure, due to previous sensitization to a homologous allergen.

The diagnosis of food allergy is made through the medical history of the patient, record of the symptoms and *in vivo* tests, like the prick-prick test, or *in vitro* tests by determination of serum specific IgE antibodies. Provocation tests can also be useful to confirm doubtful diagnosis. Treatment is based firstly on the specific allergen eviction, while there's no safe or effective specific treatment, like immunotherapy, to most of food allergies. This report describes a five-year-old child, who suffered anaphylaxis twice after mushroom ingestion, with negative prick-prick tests, but with specific IgE determined by ImmunoCAP®ISAC revealing sensitization to Asp f 1 from *Aspergillus fumigatus* fungus. This allergen has been reported as homologous to some *Agaricus birsi* allergens, which was the same species of the ingested mushroom.

Keywords: food allergy, allergen, fungus, cross-reactivity, anaphylaxis

O trabalho exprime a opinião do autor e não da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Índice

Resumo:	2
Abstract:	3
Índice	4
Lista de Abreviaturas	5
Introdução	6
Parte I – Introdução à Doença e ao Tratamento	7
Definições e Conceitos.....	7
Classificação	9
Fisiopatologia.....	10
Epidemiologia	12
Aspetos Clínicos.....	14
Diagnóstico	16
Terapêutica.....	18
Terapêutica Preventiva.....	18
Terapêutica Específica	18
Terapêutica inespecífica.....	19
Parte II – Caso Clínico	20
Anamnese.....	20
Antecedentes familiares	20
Antecedentes pessoais.....	20
História da doença atual	20
Discussão.....	23
Conclusão.....	25
Agradecimentos	26
Bibliografia	27

Lista de Abreviaturas

CRD – Component-Resolved Diagnosis

EAACI – European Academy of Allergy and Clinical Immunology

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

EUA – Estados Unidos da América

FEIA - Fluorescence Enzyme Immuno Assay

IgE, IgG – Imunoglobulinas E e G

sIgE – IgE sérica específica

ImmunoCAP®Isac – Immuno Solid Phase Allergen Chip

OAS – Oral Allergy Syndrome

RAST – Teste *radioallergosorbent*

RC – Reação Cruzada

RIA – Radio Imuno Assay

SDS-PAGE – Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis

WB – Western Blot

WHO – World Health Organization

Introdução

Este trabalho tem como objetivo fazer uma abordagem estruturada e fundamentada, relacionada com o tema Reatividade Cruzada entre alergénios de fungos, nomeadamente entre os fungos *Aspergillus fumigatus* e *Agaricus bisporus*. A doença alérgica, sendo das doenças crónicas mais prevalentes no mundo, ganha uma grande importância nas áreas que, mesmo menos estudadas, mais influenciam a qualidade de vida e segurança dos doentes. Como tal, pretende-se sumarizar os estudos e ocorrências já revistos na literatura e discutir os mesmos perante um caso clínico.

O trabalho está dividido em duas partes: a **primeira parte** corresponde a uma revisão teórica da literatura disponível, de forma a ser mais compreensível o que é a doença alérgica, a reatividade cruzada, classificação da doença, fisiopatologia, epidemiologia, aspetos clínicos, testes de diagnóstico e a terapêutica tanto atual como a que ainda está sob processo de investigação.

Na **segunda parte** é apresentado um caso clínico de um doente em idade pediátrica que tem alergia alimentar com possível reatividade cruzada entre os dois fungos referidos; é feita uma contextualização do mesmo com a primeira parte, um resumo dos conceitos desenvolvidos e uma discussão final de todos os assuntos abordados.

Parte I – Introdução à Doença e ao Tratamento

Definições e Conceitos

O termo atopia descreve a tendência genética de um indivíduo produzir anticorpos IgE contra antígenos inofensivos. Estes são denominados alérgenos e são uma entidade molecular com capacidade de ligação a anticorpos IgE e de provocar uma reação alérgica.^{[1],[2]} Ao primeiro processo de indução de IgEs após exposição a um alérgeno denomina-se sensibilização.^[3] Os alérgenos são quase sempre de origem proteica, sendo compostos por vários epítomos – local tridimensional de ligação aos anticorpos, compostos por 5 a 7 aminoácidos^[4, 5].

A maioria dos alérgenos pode ser agrupado em famílias de proteínas, independentemente da sua origem biológica^[6] e são nomeados respetivamente pelos nomes latinos: Ara h 1 é o alérgeno 1 de *Arachis hypogea* (amendoim), ou Asp f 1 é o alérgeno 1 de *Aspergillus fumigatus*^[4]. Por sua vez, os panalérgenos são alérgenos pertencentes a famílias de proteínas bem preservadas do ponto de vista evolutivo através de uma vasta variedade de espécies, capazes de desencadear ligações com anticorpos IgE^[5, 7]. Os panalérgenos são uma das mais importantes linhas de investigação, porque são causa frequente de alergia alimentar grave^[8].

Os fungos constituem uma importante fonte alérgica sendo também responsáveis por patologia respiratória como asma e rinite alérgica^[8]. A investigação destes, o seu potencial alérgico e inflamatório tem sido difícil pela enorme variedade de espécies existentes e a sua capacidade de mutar frequentemente^[9]. Mais de 80 géneros de fungos têm sido associados a alergias respiratórias, mas só algumas espécies como *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata* e *Cladosporium herbarum* têm sido mais investigadas.^[8] Estas espécies são também as mais comuns como fonte de alérgenos, podendo a exposição a estes ser feita através de inalação de esporos, contacto cutâneo ou ingestão de cogumelos^[10]. A inalação de *Aspergillus fumigatus* é responsável por várias doenças alérgicas respiratórias e Asp f 1 e Asp f 2 são considerados os alérgenos *major* da espécie^[11].

Alergia alimentar é definida como “um efeito adverso causado por uma resposta imunitária específica e reprodutível à exposição a um determinado alimento”^[3]. Esta

definição corresponde a todos os tipos de reação imuno-mediada, incluindo as do sistema imune inato e adaptativo^[3]. A alergia alimentar afeta vários milhões de pessoas e é responsável por grande morbidade, diminuição da qualidade de vida, custos para o próprio, para a família e para a sociedade^[12], podendo em alguns casos ser fatal^[13]. Existe uma associação entre a sensibilização a aeroalergénios de bolor com consequente reação sistémica após ingestão de cogumelos, mas está pouco documentada^[14]. Esta associação pode ser consequência direta de reatividade cruzada – termo usado para descrever uma reação clínica a um alergénio sem ter existido exposição prévia ao mesmo.^[6, 7]

Em doentes com alergia respiratória, reatividade cruzada entre aeroalergénios e alergénios alimentares pode induzir alergia alimentar, com sintomas desde OAS a anafilaxia grave^[7]. Uma das entidades clínicas conhecida de reação cruzada é alergia a fungos, nomeadamente síndrome *Alternaria*-espinafre, em que 80% dos doentes se encontra sensibilizada ao alergénio Alt a 1^[7]. Estão também documentadas reações cruzadas entre alergénios homólogos de bolores e cogumelos *Agaricus bisporus*^[7]. O conceito de alergénios homólogos baseia-se na semelhança das sequências observadas entre moléculas, independentemente da sua origem^[5]. Pela WHO uma proteína pode causar reatividade cruzada com um alergénio se partilharem pelo menos 35% de similaridade num fragmento de 80 aminoácidos^[5]. No entanto, é pouco provável a ativação de mastócitos e basófilos se a semelhança for menor do que 70%. Esta semelhança é mais provável em panalergénios^[5].

Classificação

As reações adversas a alimentos classificam-se de acordo com o mecanismo fisiopatológico subjacente à reação e têm um amplo espectro de sintomatologia associada^[15].

Os esporos de mais de 80 fungos constituintes do bolor foram estudados como causadores de alergia IgE-mediada e estão frequentemente associados a alergia respiratória^[15]. De todos os fungos, os que predominam no interior dos edifícios são *Penicillium* e *Aspergillus*^[15]. Da lista de alergénios, existem quatro espécies de *Aspergillus*: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, destes os mais frequentes (80% das infeções relacionadas com *Aspergillus*) são os correspondentes ao *Aspergillus fumigatus*: Asp f 1, Asp f 2, Asp f 3, Asp f 4, Asp f 5 e Asp f 6. Dos mais importantes destes, temos o Asp f 1, um alergénio não glicosilado que é abundantemente segregado após germinação dos esporos e durante as primeiras fases de crescimento do fungo^[15].

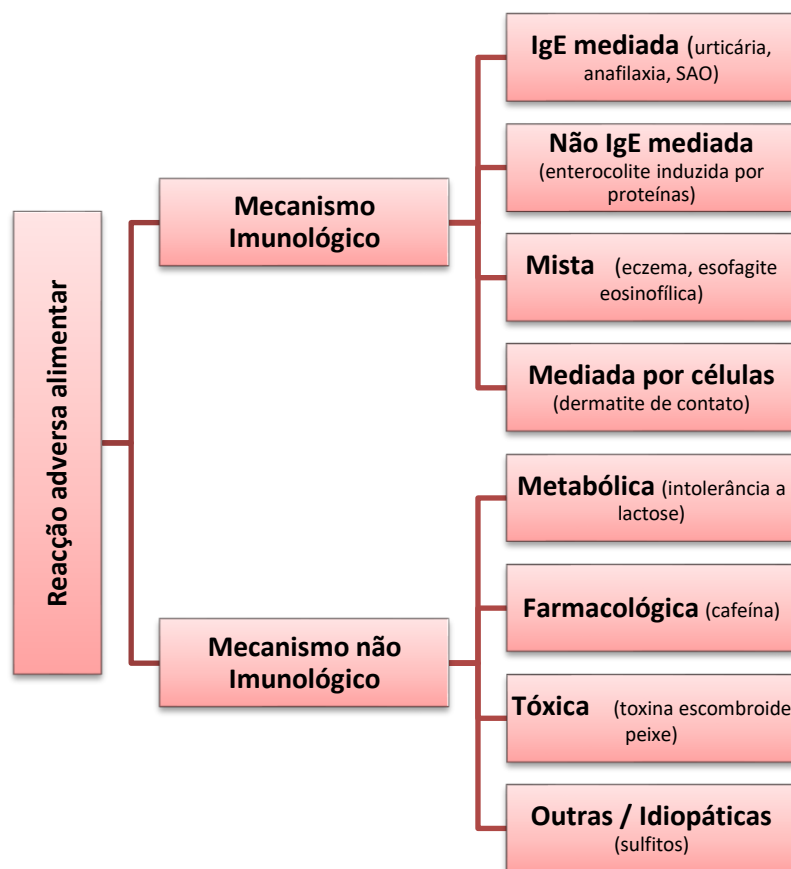


Fig. 1 – Esquema da classificação de reações adversas a alimentos^[16, 17]

Fisiopatologia

Os alérgenos têm várias origens: pólenes, ácaros, fungos, produtos animais, alimentos, latex, etc., e têm capacidade de induzir a produção de anticorpos IgE de alta afinidade e desencadear sintomas alérgicos em indivíduos sensibilizados^[6]. Os processos como aquecer, fermentar, tratamentos químicos, congelar ou descascar alimentos podem reduzir o potencial alérgico de um alimento, mas não em todos os casos^[6, 11], sendo importante, então, conhecer a estrutura proteica e categorizar a proteína na sua família^[11]. Alérgenos que são estáveis ao calor e à digestão têm maior probabilidade de causar reações graves, enquanto alérgenos menos estáveis provocam habitualmente reações leves a moderadas^[11]. Estas diferenças de estabilidade justificam que alguns alimentos sejam tolerados crus e outros tenham de ser cozinhados^[4].

A sensibilização pode ser feita por duas vias: alimentos de classe 1: alérgenos orais que causam sensibilização através do trato gastrointestinal; e classe 2: aeroalérgenos que causam sensibilização através do trato respiratório. Na segunda via referida, a sensibilização pode então ser responsável por reações cruzadas com alérgenos alimentares homólogos^[3].

Quando as IgE interagem com antígenos, ocorre um processo de *crosslink* e estas ligam-se a mastócitos e basófilos pelo recetor FcεRI de alta afinidade. Este processo leva a libertação de grânulos com mediadores inflamatórios como a histamina, tal como síntese *de novo* de outros mediadores inflamatórios como os leucotrienos, proteases e citocinas inflamatórias (IL4). Mastócitos e basófilos são ativados em poucos minutos após *crosslinking* das IgEs, em que os sintomas ocorrem logo após o contacto com o alérgeno, pelo que esse processo é chamado reação alérgica imediata^[3].

Para além das reações imediatas, mais frequentes, também existem reações tardias, em que horas após a ingestão, há um influxo de basófilos e eosinófilos. Foi demonstrado que eosinófilos entéricos contribuem não só para inflamação, como também controlam células dendríticas para iniciar uma resposta imune primária Th2-mediada^[18]. Doentes com OAS presenciam tanto resposta inflamatória imediata como a tardia. A OAS é causada por uma sensibilização a um aeroalérgeno que estruturalmente é semelhante a algum alérgeno alimentar, levando a uma reação cruzada imunitária. A forma de OAS mais comum desenvolve-se com sensibilização a alérgenos de pólen, Bet v 1, que reage de forma cruzada com maçãs, nozes, cenouras e aipo^[3].

No geral, é necessária a exposição repetida ao alergénio para induzir uma reação alérgica e, para além disso, para haver reação cruzada (RC) os níveis de IgEs específicos e a sua afinidade são importantes^[3], pois estes reconhecem e ligam-se a uma molécula nova (não sensibilizada), mas homóloga a uma previamente sensibilizada, induzindo uma resposta imune^[5-7]. A RC representa uma vantagem na defesa contra infeções, mas tem um efeito negativo em doenças do sistema imunitário, incluindo doenças autoimunes e doenças alérgicas.^[5] A estrutura e características das proteínas são um fator determinante, já que as reações cruzadas acontecem quando proteínas partilham as mesmas características a nível primário e terciário^[3]. Normalmente é necessário 70% ou mais de semelhança para existir RC^[3], o que acontece normalmente em moléculas de espécies próximas ou moléculas com uma função que se preserva em várias espécies diferentes e que pertencem à mesma família de proteínas^[7].

Um grande número de proteínas alergénicas tem agora as suas sequências de cDNA e as suas estruturas 3D determinadas. A maioria dos alergénios podem ser agrupados em pequenas famílias de proteínas de diferentes origens e é esta a base molecular da reatividade cruzada^[19]. Os cogumelos que compõem a classe Basidiomycetes enquanto os bolores são considerados fungos imperfeitos. A reação cruzada entre ambos existe e estima-se que ocorra nas proteínas com peso molecular entre 43- e 67-kD^[19]. A importância clínica da RC está dependente de vários fatores, incluindo a resposta imune do indivíduo contra o alergénio, a exposição e o próprio alergénio^[6, 7].

Epidemiologia

A doença alérgica é atualmente perspetivada como uma ameaça de saúde pública, representando a mais frequente das doenças crónicas, afetando as vidas de mais de 60 milhões de pessoas na Europa e provavelmente perto de um bilião de pessoas no mundo inteiro, tendo um grande impacto nos serviços de saúde^[2]. Enquanto no *séc.XX* eram vistas como doenças raras, as últimas décadas viram um enorme aumento da prevalência da doença^[2]. A industrialização e revolução tecnológica conduziram a mudanças no ambiente, variação climática, poluição e esterilização microbiana, que poderão afetar as nossas respostas imunitárias e inflamatórias normais^[2]. A maioria das doenças alérgicas têm início na infância e a EAACI prevê que, em 15 anos, mais de metade da população Europeia irá sofrer de algum tipo de alergia^[2].

A alergia alimentar é frequente, atingindo prevalências de 2-4% em crianças e adolescentes e de 10% em adultos^[7, 20], havendo uma elevada associação de alergia alimentar a outras doenças alérgicas, incluindo rinite alérgica e asma^[7]. Em 2009-2010 nos EUA estavam estimados cerca de 8% das crianças com alergia alimentar, em que 2.4% tem múltiplas alergias e 3% tem reações alérgicas graves^[21]. Os aeroalergénios, por sua vez, são fonte comum de doença alérgica, com uma prevalência estimada em 8% da população adulta e 20-25% nas crianças^[8]. A alergia alimentar oral ocorre em 35-70% dos doentes com alergia ao pólen, sendo que os sintomas ocorrem após contacto com certos alimentos, normalmente não cozinhados^[19]. A existência de alergia respiratória pode indicar um risco aumentado de alergia alimentar IgE mediada^[7]. A asma, independentemente da gravidade, tem sido associada com risco aumentado de reações alérgicas mais graves, nomeadamente anafilaxia^[7].

As reações IgE-mediadas são induzidas por várias espécies de fungos, sendo os mais importantes pertencentes à filo Ascomycota: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Candida*, entre outros^[15]. A incidência destas alergias oscila entre 6-24%^[22] na população geral, 44% na população atópica^[23] e 80% nos asmáticos^[24]. Os fungos podem ser encontrados ao longo de todo o mundo e podem servir como aeroalergénios respiratórios tanto dentro como fora de casa e dependendo das condições climáticas, as taxas de sensibilização variam entre 5% a 20%. Em Portugal a prevalência de sensibilização a fungos (*Alternaria* e *Cladosporium*) é relativamente baixa (3%) em comparação com a Espanha (20%)^[8]. Num estudo, 77,7% dos doentes alérgicos a *Aspergillus fumigatus*

tiveram *skin prick test* positivo para cogumelos, encontrando-se uma relação de reatividade cruzada^[8].

Aspetos Clínicos

A expressão clínica da alergia alimentar IgE-mediada pode ter um amplo espectro^[19]. Como os alérgenos alimentares entram na corrente sanguínea pelo trato gastrointestinal, os sintomas podem desenvolver-se diretamente nos locais de contacto (boca, esófago, intestino)^[3], resultando em sintomas como angioedema, prurido faríngeo, sintomas gastrintestinais, entre outros^[6]. Reações sistémicas ocorrem quando os alérgenos passam a barreira da mucosa e entram em circulação^[3].

Os fatores que contribuem para o tipo e gravidade da reação são a quantidade ingerida, estabilidade do alérgeno em relação à digestão e permeabilidade da barreira epitelial^[3]. A reação alérgica imediata pode ser fatal, já que pode levar a choque anafilático^[3].

Relativamente à alergia alimentar a fungos, existem alguns casos referidos na literatura, seguindo abaixo vários exemplos:

Foi reportado um caso anafilaxia numa doente de 38 anos alérgica a fungos de bolor após ingestão de cogumelos *Agaricus bisporus*, tendo sido confirmada reatividade cruzada por proteínas de ligação IgE entre *A. Bisporus* e aeroalérgenos do bolor. A conclusão retirada foi que a primeira sensibilização primária com o bolor causou posteriormente a reação grave após ingestão dos cogumelos^[14].

Encontra-se descrito o caso clínico de uma doente japonesa com 38 anos, com antecedentes de asma brônquica que apresentou reação anafilática imediata após ingestão de cogumelos Matsutake (*Tricholoma matsutake*). Passado um ano, com ingestão do mesmo cogumelo cozinhado teve urticária generalizada e dor abdominal. Outros tipos de cogumelos (Shiitake, por exemplo) nunca lhe causaram reação. Em *prick-test* verificou-se reatividade cutânea para cogumelos Matsutake^[20].

De referir ainda o caso de uma doente de 26 anos, com antecedentes de rinite alérgica, que teve sintomas imediatos de prurido oral (lábios, palato e orofaringe) após ingestão de cogumelos crus, não ocorrendo estes sintomas com cogumelos cozinhados. Os *prick tests* foram positivos para cogumelo cru e quatro espécies de fungos e negativos para cozinhados. Por SDS-PAGE verificou-se que existem bandas comuns entre bolores de aeroalérgenos e os cogumelos crus, estando ausentes no cogumelo cozinhado^[19].

Relativamente a doentes em idade pediátrica, foi reportada anafilaxia fatal num adolescente sensibilizado a aeroalergénios de fungos após ter ingerido uma massa de panquecas contaminada por bolor^[25].

Diagnóstico

O diagnóstico da doença alérgica é feito com base na história clínica do doente, através da documentação de sintomas, da relação temporal com a ingestão de alimentos suspeitos^[3] e da confirmação de sensibilização alérgica *in vivo* (*skin prick tests*) ou *in vitro* (RAST, ELISA, WB ou ImmunoCap®/ISAC) ^[6, 15].

Os testes *in vitro* detectam IgEs específicas de alérgenos, sendo um exemplo o ImmunoCap®, um teste com uma sensibilidade entre 84-95% e especificidade de 85-94%, que faz uma medição de níveis de IgE específicas de alérgenos no soro ou plasma do doente, por ligação de enzimas anti-IgE às IgE específicas do indivíduo, em celulose de fase sólida^[26].

A determinação de sIgE comprova a sensibilização ao alérgeno, mas não necessariamente a sua relevância clínica. Assim, mesmo tendo em conta que o seu aumento eleva o risco clínico de sintomas alérgicos, a positividade de sIgE não está sempre associada a sintomas^[3]. Isto pode acontecer porque alguns antígenos reagem com sIgE, mas sem atividade alérgica. Para além disso, alguns alérgenos podem ser degradados ou não passar a barreira epitelial em quantidades suficientes^[3]. Um teste negativo, no entanto torna a sua relevância clínica pouco provável^[6]

Os testes cutâneos detetam desgranulação mastocitária IgE mediada, e no âmbito da investigação etiológica de alergia alimentar incluem o *skin-prick test* e o *prick-to-prick test*^[3]. Tal como os testes *in vitro*, confirmam sensibilização alérgica, mas não necessariamente alergia.

A especificidade e sensibilidade destes testes depende muito da qualidade dos extratos de fungos utilizados, que é bastante insatisfatória – a qualidade dos extratos varia entre laboratórios e não há padronização dos mesmos, havendo discrepâncias de diagnóstico^[10]. Estes problemas poderão ser ultrapassados com o uso de alérgenos recombinantes, que serão padronizados e reprodutíveis, dando resultados mais consistentes; para além disso, é possível produção em grandes quantidades e diagnosticar casos de reatividade cruzada ^[10, 15].

As provas de provocação alimentar constituem o procedimento *gold standard* para diagnóstico e monitorização de alergia alimentar^[3].

Relativamente à ocorrência de reatividade cruzada entre alergénios de fungos, esta encontra-se descrita para alergénios de fungos, nomeadamente *P. Ostreatus*, *A. Alternata*, *Fusarium solania*, *Aspergillus Fumigatus*, entre outros^[15]. Alguns dos alergénios responsáveis por reatividade cruzada são proteínas intracelulares, mas também podem ser segregados como no caso do *Aspergillus* (Asp f 1)^[15].

Os alergénios recombinantes podem ser agrupados em famílias com funções biológicas semelhantes, estruturas primárias e de reatividade cruzada. É possível atualmente testar reatividade IgE contra diversos alergénios em simultâneo. Foram criados chips de alergénios com *microarrays* para este fim. Os componentes mais relevantes podem assim ser identificados para ajudar no desenvolvimento de tratamento alergénio-específico e terapêuticas preventivas^[3].

O termo *biochip* ou *microarray* refere-se à distribuição de pequenos conjuntos de biomoléculas numa superfície compacta. O CRD com base em *microarray* com pequenas amostras de soro dos doentes permitem distinguir anticorpos IgE específicos contra vários componentes recombinantes ou purificados. Os componentes dos alergénios podem ser classificados por famílias com base na sua função e estrutura^[11]. O grande número de resultados é analisado por uma ferramenta informática^[27].

Em contraste com o diagnóstico convencional, os *microarrays* permitem uma investigação de reatividade IgE a um largo número de componentes alérgicos com um único teste. A quantidade de sangue necessária é bastante menor que a convencional, bastando 20µl para determinar IgEs contra centenas de alergénios individuais, em vez de 50µl para cada alergénio, o que facilita esta técnica em idades pediátricas^[4]. A disponibilidade de *microarrays* de proteínas alérgicas é particularmente relevante nos doentes polissensibilizados^[1].

A utilização de alergénios recombinantes em testes *in vitro* para diagnóstico permite determinar perfis alérgicos individuais. O CRD constitui uma excelente ferramenta de diagnóstico que pode ser usada para melhorar a abordagem de diagnóstico das doenças alérgicas, incluídas as causadas por fungos.

Terapêutica

Terapêutica Preventiva

Não há restrições na dieta da mãe tanto na gravidez como durante a amamentação que tenham sido provadas como eficazes na ação preventiva de alergias nos filhos^[3]. É recomendada a amamentação exclusiva até aos 4-6 meses, prevenindo o aparecimento de algumas alergias e, quando tal não é possível, devem ser administradas ao lactente fórmulas hipoalergénicas^[3]. Também não existe evidência clara que a administração de probióticos ou lipopolissacáridos possa prevenir o desenvolvimento de alergias^[28].

Terapêutica Específica

O tratamento específico mais comum passa por evicção dos alérgenos nas dietas, sendo este o tratamento mais relevante a longo prazo^[3].

A imunoterapia específica poderá vir a possibilitar no futuro um tratamento a longo prazo e modificador de doença para a alergia a bolores^[3]. Imunoterapia é definida como a administração repetida de doses gradualmente crescente do alérgeno ^[15] e o objetivo é induzir um estado de tolerância a um antígeno específico^[1]. No entanto, no caso da alergia alimentar a fungos, a imunoterapia não é atualmente recomendada pela qualidade dos extratos de alérgenos e pelo facto de haver sensibilizações variadas^[15]. Para além disso, num tratamento eficaz é necessário atingir doses terapêuticas que, no caso dos fungos, muitas vezes não é exequível, dados os efeitos secundários, a grande diversidade de alérgenos de fungos e pela má padronização de extratos^[15].

Enquanto a imunoterapia se tem verificado útil para tratamento de alergia de expressão respiratória a fungos, na alergia alimentar há demasiados efeitos adversos na sua utilização, chegando mesmo à anafilaxia^[10]. Estes efeitos parecem ser dose-dependentes e o limiar para manifestações de sintomas não é claro^[10]. No entanto, com a introdução de DNA recombinante na área de caracterização do alérgeno, estão disponíveis inúmeros alérgenos recombinantes. O método de CRD usa estes alérgenos recombinantes para determinar o perfil de reatividade de IgEs específico de um indivíduo^[1]. Com o CRD é possível administrar os alérgenos de forma pura sem outras proteínas que não as necessárias, podendo vir a ser criadas vacinas padronizadas. Para além disso, é possível criar vacinas com atividade alérgica atenuada^[1], mas mantendo a reatividade de células T^[10],

Resultados de ensaios clínicos indicam que indução de alérgenos-específicos IgG que bloqueiem a interação entre alérgenos e IgE são necessários para o sucesso de imunoterapia de alergia alimentar ou respiratória^[3]. É então compreensível que as alergias alimentares e de fungos possam vir a ser tratadas de forma similar às respiratórias^[3]. Decorre atualmente intensa investigação em relação a diferentes formas de imunoterapia e na criação de vacinas bem padronizadas^[12]. Ensaios clínicos têm demonstrado eficácia em imunoterapia que inclui alérgenos recombinantes *wild-type*^[29]. Embora ainda não seja usada na prática clínica em alergias alimentares relacionadas com fungos, é importante investigar e equilibrar os riscos e os benefícios e explorar os subgrupos que mais possam beneficiar desta terapêutica^[12].

Terapêutica Inespecífica

O tratamento inespecífico passa por atenuar os sintomas quando há exposição indevida ou acidental ao alérgeno e pode ser selecionado com base no envolvimento de desgranulação de basófilos ou mastócitos IgE-mediada (anti-histamínicos, inibidores dos leucotrienos, adrenalina) e/ou ativação de células T ou eosinófilos (corticosteroides, anti-IL5)^[3, 10].

Para doentes com anafilaxia prévia deve ser prescrito e feito o ensino da administração de auto-injetor de adrenalina.

Parte II – Caso Clínico

Anamnese

S. A. A. M, 6 anos, sexo masculino, raça negra, nascido a 22-02-2012. Natural de Lisboa, residente na Amadora.

Antecedentes familiares

Filho único de pais não consanguíneos.

Mãe com 37 anos, não fumadora, com sintomatologia sugestiva de rinossinusite.

Pai com 36 anos, fumador, sem antecedentes patológicos relevantes.

Duas tias maternas e prima em 1º grau família materna com asma brônquica

Sem outros antecedentes familiares de atopia conhecidos.

Sem outras doenças de carácter heredo-familiar conhecidas.

Antecedentes pessoais

Gestação de 40 semanas de duração, vigiada e sem intercorrências; parto distócico (ventosa) em meio hospitalar com Índice de Apgar de 9 e 10 ao 1º e 5º minutos, respetivamente. Apresentava os seguintes parâmetros somatométricos à nascença: Peso – 4690 g e Comprimento – 50 cm.

Aleitamento misto desde o nascimento, tendo mantido aleitamento materno até aos dois anos de idade

Diversificação alimentar iniciada aos quatro meses, que decorreu sem intercorrências.

Apresenta desenvolvimento psico-motor e progressão estatura-ponderal adequados e imunizações atualizadas de acordo com o Programa Nacional de Vacinação.

Refere tosse seca rara e obstrução nasal esporádica com início aos 3 anos, sem predomínio sazonal. Nega ocorrência de episódios de sibilância. Sem dermatite atópica.

Teve necessidade de internamento por gastroenterite aguda de provável etiologia viral aos dois anos, sem outras patologias com relevo clínico.

História da doença atual

Criança observada aos 4 anos de idade em Serviço de Urgência Hospitalar por

quadro de disфония, estridor e vômitos, sem febre, com início 3 horas após ingestão inaugural de cogumelos (laminados cozinhados). Sem urticária ou angioedema associados. Foi equacionado como diagnóstico mais provável o de laringite aguda e instituída terapêutica com corticoide oral e adrenalina nebulizada, com resolução completa do quadro.

Cerca de dois meses após o episódio inicial anteriormente descrito, ingeriu cogumelos laminados numa *pizza* e verificou-se ocorrência de disфония, estridor e vômitos repetidos com início cerca de 3 horas após a ingestão dos mesmos, sem manifestações mucocutâneas concomitantes. Foi novamente observado em contexto de urgência hospitalar, tendo-se verificado resolução espontânea do quadro clínico e tido alta com o diagnóstico provável de laringite aguda.

Nega ingestão posterior de cogumelos. Sem ocorrência de novos episódios de anafilaxia. Sem ocorrência posterior de episódios sugestivos de laringite aguda.

Foi referenciado à Consulta de Alergia Alimentar do Hospital de Santa Maria pelo respetivo Médico de Medicina Geral e Familiar por suspeita de alergia alimentar grave a cogumelos.

Ao exame objetivo à data da primeira consulta (aos 5 anos) destacava-se: bom estado geral e de hidratação, sem sinais de dificuldade respiratória, auscultação pulmonar sem alterações relevantes, ausência de deformidade torácica ou hipocratismo digital, hipertrofia de cornetos nasais inferiores com palidez ligeira da mucosa, sem hiperémia conjuntival, sem xerose ou lesões cutâneas sugestivas de dermatite atópica.

Foram realizados testes cutâneos por picada com cogumelo laminado cru e cozinhado (*prick-prick*) e para *Alternaria alternata*, cujos resultados foram negativos (controlo positivo com reatividade cutânea).

Foi feito doseamento de sIgE por ImmunoCAP®Isac, cujos resultados demonstraram sensibilização a alérgenos específicos de espécie de: *Aspergillus fumigatus* (rAsp f 1), Oliveira (rOle e 1), Plátano (rPla a 1, nPla a 2) e Corrijó (rPla I 1).

Foi prescrito auto-injector de adrenalina (0,3 mg) como terapêutica de emergência em situação de anafilaxia.

Como parte integrante da estratégia terapêutica, foi feito ensino verbal e escrito à família acerca da necessidade de evicção absoluta de ingestão de cogumelos, do reconhecimento precoce de ocorrência de anafilaxia e da administração correta da terapêutica de emergência.

Discussão

Nesta criança encontra-se um caso particular de dois episódios de anafilaxia após ingestão de cogumelos *Agaricus bisporus* cozinhados, sendo que a primeira reação ocorreu após a ingestão inaugural de cogumelos. Como referido anteriormente, uma reação alérgica só ocorre após sensibilização prévia a um alérgénio, o que não se verificou no caso dos cogumelos desta espécie. Assim sendo, podemos equacionar que tenha ocorrido sensibilização prévia a outro alérgénio, possivelmente homólogo, que justifique a ocorrência de um mecanismo de reatividade cruzada. Tendo em conta que os resultados do ImmunoCAP®Isac se revelaram positivos, com níveis de IgE específicos elevados para *Aspergillus fumigatus* (rAsp f 1), uma hipótese possível é a existência de reatividade cruzada entre algum alérgénio dos cogumelos *Agaricus bisporus* com o componente alérgénico Asp f 1 do *Aspergillus*.

Admitindo esta hipótese, e sendo o *Aspergillus* um fungo comum do ambiente *indoor*, existe uma grande probabilidade de a criança ter sido exposta ao mesmo, tendo a sensibilização primária ocorrido por via inalatória previamente à ingestão de cogumelos. Tendo em conta que os cogumelos estavam cozinhados, pode admitir-se também que o alérgénio do *Agaricus bisporus* seja minimamente estável do ponto de vista molecular, não tendo sido destruído pela cozedura, podendo, no entanto, ter sofrido algumas alterações. Considerando também que a anafilaxia demorou, em ambas as ocasiões, cerca de quatro horas a ocorrer, coloca-se a hipótese de provável relação entre a digestão dos cogumelos e a reação sistémica ocorrida.

A dificuldade diagnóstica inicial, em relação ao facto de os *prick-prick tests* serem negativos e que motivou a realização ImmunoCAP®Isac, pode também dever-se a esta reação mais tardia e à impossibilidade do alimento utilizado nos testes cutâneos ter sofrido as possíveis alterações decorrentes da passagem do alérgénio pelo sistema digestivo, que poderá conduzir a alterações moleculares necessárias ao reconhecimento como alérgénio homólogo. Posteriormente, e para uma melhor investigação, seria importante aprofundar os estudos sobre os alérgénios de *Agaricus bisporus*, para uma comparação menos empírica da semelhança com o Asp f 1 que, embora documentada, não está molecularmente definida. Seria também interessante do ponto de vista de investigação fazer provas de provocação com cogumelos crus, cozinhados e outras espécies de cogumelos, mas que face ao risco que acarretam não serão passíveis de ser efetuadas.

Gostaria ainda de salientar que neste caso clínico, o diagnóstico de anafilaxia não foi estabelecido em nenhuma das duas admissões, o que impediu a sua abordagem terapêutica adequada com administração de adrenalina intramuscular e o internamento hospitalar para vigilância de ocorrência de reação bifásica.

Provavelmente a inexistência de atingimento mucocutâneo e a ocorrência tardia das manifestações clínicas terão dificultado o reconhecimento de anafilaxia.

Em relação ao seguimento da criança, face aos conhecimentos e investigação atuais, o ideal a recomendar aos pais e ao doente é a evicção total da ingestão de cogumelos.

Relativamente ao tratamento farmacológico, uma vez que se tratava de um doente com episódios de anafilaxia prévios, optou-se por instituir terapêutica de emergência com auto-injector de adrenalina, tendo sido feito o ensino verbal e escrito do reconhecimento precoce de anafilaxia e da sua administração à família.

O doente deve manter seguimento regular em Consulta de Alergia Alimentar, face à importância de reforçar regularmente as medidas de evicção e rever a técnica de administração de auto-injetor de adrenalina.

Conclusão

A alergia alimentar a fungos, e em particular os fenómenos de RC entre alergénios alimentares e aeroalergénios, encontram-se ainda pouco estudada e esclarecida, sendo que a melhor evidência disponível se baseia na publicação de casos clínicos. Também por esse motivo a informação relativa ao prognóstico da alergia alimentar a fungos é escassa. Assim sendo, a terapêutica de evicção instituída deve ser mantida indefinidamente ou até existirem novas abordagens terapêuticas, mais dirigidas que possibilitem a aquisição de tolerância, que ainda estão em estudo.

A alergia alimentar constitui muitas vezes um desafio diagnóstico e terapêutico, sendo fundamental que se continue a investigação também na área de RC, e na sequenciação de alergénios para aprofundar o conhecimento sobre os mesmos, para que seja possível no futuro prever os potenciais riscos entre alergénios homólogos, preferencialmente obviando a necessidade de provas de provocação.

Agradecimentos

Agradeço a todos os que me incentivaram ao longo não só deste trabalho, mas de todos os anos de formação médica.

Em primeiro lugar aos meus pais, irmão e avós, pela presença e apoio constante enquanto trabalhava exaustivamente.

Aos meus queridos colegas e sobretudo grandes amigos Pedro Batista, Pedro Ruivo e João Baptista, que me acompanharam nos bons e maus momentos do curso, nunca me deixaram sozinha e me fizeram sempre ter um olhar positivo na vida. Obrigada pelas piadas, passeios, e estudo coletivo que só com vocês fez sentido.

Aos meus amigos de sempre: Margarida Durand, Francisco e Vera Martins, Tiago Bento, Sofia Marchão, David Ferreira, Viriato Queiroga, Daniela Dinis, André Assunção, Eduardo Carvalho, Sophie Rey, José Pereira, Jorge Governa, Rita Franco e Susana Henriques, que de uma forma ou de outra estiveram comigo e me apoiaram.

À minha “família” em Sabrosa, tia Teresa, Constança e Francisco Canavarro, que estão sempre lá quando preciso de um refúgio do dia-a-dia.

Aos meu amigos e colegas de Taekwondo no Dojang Armando Silva, que todas as semanas me apoiam e me dão força para continuar sempre.

E finalmente,

À Doutora Joana Fermeiro pela orientação não só na dissertação de final de mestrado, como na ajuda na escolha de um tema que tanto me interessou, e também como assistente de Pediatria I, dando-me a melhor introdução à Pediatria que podia ter pedido.

À Professora Doutora Maria do Céu Machado, pela oportunidade de desenvolver este trabalho na Clínica Universitária de Pediatria.

Bibliografia

1. Valenta, R., Lidholm, J., Niederberger, V., Hayek, B., Kraft, D. and Grönlund, H. (1999) The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). *Clinical and Experimental Allergy*, **29**, 896–904.
2. Papadopoulos, N.G., Agache, I., Bavbek, S., Bilo, B.M., Braido, F., Cardona, V., et al. (2012) Research needs in allergy: an EAACI position paper, in collaboration with EFA. *Clinical and Translational Allergy*, **2**, 21.
<http://ctajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/2045-7022-2-21>.
3. Valenta, R., Hochwallner, H., Linhart, B. and Pahr, S. (2015) Food allergies: The basics. *Gastroenterology*, **148**, 1120–1131.
4. Borres, M.P., Ebisawa, M. and Eigenmann, P.A. (2011) Use of allergen components begins a new era in pediatric allergology. *Pediatric Allergy and Immunology*, **22**, 454–461.
5. García, B.E. and Lizaso, M.T. (2011) Cross-reactivity syndromes in food allergy. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, **21**, 162–170.
6. Ferreira, F., Hawranek, T., Gruber, P., Wopfner, N. and Mari, A. (2004) Allergic cross-reactivity: From gene to the clinic. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **59**, 243–267.
7. Popescu, F.-D. (2015) Cross-reactivity between aeroallergens and food allergens. *World journal of methodology*, **5**, 31–50.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26140270>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4482820>.
8. Herrera-Mozo, I., Ferrer, B., Rodriguez-Sanchez, J.L. and Juarez, C. (2006) Description of a novel panallergen of cross-reactivity between moulds and foods. *Immunological Investigations*, **35**, 181–197.
9. Twaroch, T.E., Curin, M., Sterflinger, K., Focke-Tejkl, M., Swoboda, I. and Valenta, R. (2016) Specific antibodies for the detection of *Alternaria* allergens and the identification of cross-reactive antigens in other fungi. *International Archives of Allergy and Immunology*, **170**, 269–278.
10. Twaroch, T.E., Curin, M., Valenta, R. and Swoboda, I. (2015) Mold allergens in respiratory allergy: From structure to therapy. *Allergy, Asthma and Immunology Research*, **7**, 205–220.
11. Sastre, J. (2010) Molecular diagnosis in allergy. *Clinical and Experimental Allergy*, **40**, 1442–1460.
12. De Silva, D., Geromi, M., Panesar, S.S., Muraro, A., Werfel, T., Hoffmann-Sommergruber, K., et al. (2014) Acute and long-term management of food allergy: Systematic review. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **69**, 159–167.

13. Bock, S.A., Muñoz-Furlong, A. and Sampson, H.A. (2007) Further fatalities caused by anaphylactic reactions to food, 2001-2006. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **119**, 1016–1018.
14. Gabriel, M.F., González-Delgado, P., Postigo, I., Fernández, J., Soriano, V., Cueva, B., et al. (2015) From respiratory sensitization to food allergy: Anaphylactic reaction after ingestion of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Medical Mycology Case Reports*, **8**, 14–16.
15. Simon-Nobbe, B., Denk, U., Pöll, V., Rid, R. and Breitenbach, M. (2008) The spectrum of fungal allergy. *International archives of allergy and immunology*, **145**, 58–86.
16. Sampson, H.A., Aceves, S., Bock, S.A., James, J., Jones, S., Lang, D., et al. (2014) Food allergy: A practice parameter update - 2014. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2014: 10.1016/j.jaci.2014.05.013.
17. Muraro, A., Werfel, T., Hoffmann-Sommergruber, K., Roberts, G., Beyer, K., Bindslev-Jensen, C., et al. (2014) EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy*, 2014: 10.1111/all.12429.
18. Chu, D.K., Jimenez-Saiz, R., Verschoor, C.P., Walker, T.D., Goncharova, S., Llop-Guevara, A., et al. (2014) Indigenous enteric eosinophils control DCs to initiate a primary Th2 immune response in vivo. *The Journal of Experimental Medicine*, **211**, 1657–1672. <http://www.jem.org/lookup/doi/10.1084/jem.20131800>.
19. Dauby, P.A., Whisman, B.A. and Hagan, L. (2002) Cross-reactivity between raw mushroom and molds in a patient with oral allergy syndrome. *Ann Allergy Asthma Immunol*, **89**, 319–321.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12269655>
http://ac.els-cdn.com/S108112061061962X/1-s2.0-S108112061061962X-main.pdf?_tid=38bb15d2-ce8f-11e2-9d69-00000aab0f27&acdnat=1370512710_e4658a278888d8902395da1f4c13c1b0%5Cn
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/122>.
20. Toda, T., Yamaguchi, M., Nakase, Y., Sugimoto, N., Suzukawa, M., Nagase, H., et al. (2010) A case of anaphylactic reaction following matsutake mushroom ingestion: demonstration of histamine release reaction of basophils. *Allergology International: Official Journal of the Japanese Society of Allergology*, **59**, 417–419. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20864796>.
21. Sicherer, S.H. and Sampson, H.A. (2014) Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **133**.
22. Salvaggio, J. and Aukrust, L. (1981) Mold-induced asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **68**, 327–346.
23. Corey, J.P., Kaiseruddin, S. and Gungor, a (1997) Prevalence of mold-specific immunoglobulins in a Midwestern allergy practice. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, **117**, 516–20. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9374177>.

24. Hsieh, K.H. and Shen, J.J. (1988) Prevalence of childhood asthma in Taipei, Taiwan, and other Asian Pacific countries. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*, **25**, 73–82.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3182581>.
25. Bennett, A.T. and Collins, K.A. (2001) An unusual case of anaphylaxis. Mold in pancake mix. *The American journal of forensic medicine and pathology*, **22**, 292–5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11563743>.
26. Johansson, S. (2004) ImmunoCAP Specific IgE test: an objective tool for research and routine allergy diagnosis.
27. Melioli, G., Spenser, C., Reggiardo, G., Passalacqua, G., Compalati, E., Rogkakou, A., et al. (2014) Allergenius, an expert system for the interpretation of allergen microarray results. *World Allergy Organization Journal*, **7**, 15.
<http://waojournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1939-4551-7-15>.
28. Osborn, D.A. and Sinn, J.K. (2013) Prebiotics in infants for prevention of allergy. In *Cochrane Database of Systematic Reviews*. .
<http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD006474.pub3>.
29. Valenta, R., Linhart, B., Swoboda, I. and Niederberger, V. (2011) Recombinant allergens for allergen-specific immunotherapy: 10 years anniversary of immunotherapy with recombinant allergens. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **66**, 775–783.