



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da saúde

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Arminda Maria Miguel Jorge

Tese para obtenção do Grau de Doutor em
Medicina
(3º ciclo de estudos)

Orientador: Prof. Doutor Luís Taborda Barata

Coorientador: Prof. Doutor Félix Lorente Toledano

Covilhã, maio de 2020

Agradecimentos

Agradeço a todos os encarregados de educação e crianças pela disponibilidade e amabilidade demonstrada em participar em todas as fases deste projeto, sem as quais seria impossível a realização deste trabalho.

A todos os presidentes, vice-presidentes e docentes dos Jardins de Infância e Escolas de 1º ciclo da Covilhã, Belmonte e Fundão, por aceitarem aplicar os questionários da 1ª etapa em meio escolar, tendo disponibilizado toda a ajuda e informações necessárias acerca do funcionamento e organização das instituições educativas.

À Faculdade de Ciências da Saúde e Comissão de ética do CHUCB, E.P.E., pela aprovação do estudo e realização dos estudos in vivo e in vitro.

A todo o Serviço de pediatria do CHUCB, representado pelo seu director, Dr Carlos Rodrigues, pelo incentivo, apoio e tempo facultados na fase dos estudos de hipersensibilidade das crianças integradas neste projeto.

Ao meu coorientador, por todo o apoio disponibilizado, a nível pessoal e teórico, que permitiram a elaboração deste projeto desde a sua criação, implementação prática, redação crítica e apresentação final. Os meus sinceros agradecimentos pela amizade e confiança depositada.

E de uma forma especial ao meu orientador, pelo tempo disponibilizado e linhas orientadoras em todas as fases deste projeto, possibilitando a criação passo-a-passo de um trabalho crítico, conteúdo adequado, correção formal, entre outros. Aqui fica o meu agradecimento pela promoção do meu crescimento nos âmbitos académico e pessoal e por aumentar (ainda mais) o meu interesse e formação nesta área temática.

À minha família, sempre incansável e generosa no apoio.

A todos, muito obrigada.

Resumo

Introdução: A alergia alimentar é uma epidemia crescente em todo o mundo que afeta cerca de 6-8% das crianças. É uma situação altamente stressante para crianças e suas famílias, gerando elevado nível de ansiedade, associa-se a menor qualidade de vida, por vezes pior do que em muitas outras doenças crónicas e é frequentemente motivo de *bullying*. Os fatores de risco ainda não são totalmente conhecidos e o diagnóstico nem sempre é exato. Não existe uma terapêutica adequada e consensual, sendo a evicção o método de eleição para prevenir reações alérgicas e a adrenalina a terapêutica mais eficaz no tratamento das reações alimentares mais graves, de anafilaxia potencialmente fatal.

É de primordial importância conhecer a realidade da nossa população quanto a aspetos de alergias alimentares, avaliar melhor a patologia envolvida, melhorar a literacia das crianças alérgicas e seus cuidadores, bem como dos profissionais de saúde, em relação a esta área de patologia clínica, com o objetivo de tornar os diagnósticos de alergia alimentar mais exatos, adequar as medidas de evicção evitando as dietas demasiado restritivas e por vezes desnecessárias, prevenir e tratar as reações potencialmente graves.

Objetivos: Construir e validar um questionário destinado a crianças com suspeita de alergia alimentar baseado nos conhecimentos científicos sobre a área, que inclua os aspetos considerados importantes para identificar o(s) alimento(s) suspeito(s) e caracterizar a reação ocorrida de modo a identificar crianças em risco de reação grave e orientar estudos adicionais.

Avaliar a prevalência de reação adversa a alimento (RAA) e alergia alimentar (AA), identificar os alimentos mais implicados e as características clínicas e laboratoriais da alergia alimentar em crianças da Beira Interior.

Avaliar o impacto dos fatores de risco mais consensuais para AA e RAA na população estudada.

Refletir sobre a implicação prática deste estudo, a nível individual, familiar e populacional, nas medidas de saúde pública e na melhoria contínua dos cuidados de saúde.

Materiais e métodos: Construimos um questionário de reações adversas a alimentos baseado em questionários validados em outros países e questionários portugueses não validados. O questionário foi revisto por imunoalergologistas e foi desenvolvida uma análise exploratória com a sua aplicação em crianças com alergia alimentar conhecida. A fiabilidade foi avaliada por teste-reteste em crianças com suspeita de reações adversas a alimentos. Para avaliar a estabilidade temporal e reprodutibilidade usámos o teste de correlação de Spearman Rho e o índice *kapa* de Cohen. Este questionário, designado como Q2, foi aplicado nas crianças que

tinham tido resposta positiva a um curto questionário preliminar simplificado (Q1) que perguntava se havia alguma suspeita de reação adversa a algum alimento.

A prevalência de reações adversas a alimentos foi avaliada em crianças entre os 3 e 11 anos da região da Cova da Beira através do questionário de reações adversas a alimentos. Nas crianças com alimentos suspeitos, foram adicionalmente efetuados testes cutâneos por picada e determinados os níveis séricos de IgE específicas para os alimentos implicados. Foram ainda analisadas as características clínicas das reações, e recolhidos dados relativos aos antecedentes pessoais e familiares de atopia.

Os fatores de risco genéticos e ambientais foram avaliados para todas as crianças com Q2 positivo. Para além da caracterização demográfica e das reações ao(s) alimentos(s) implicados, foram analisados os antecedentes pessoais e familiares de atopia, o tempo de amamentação e idade de introdução de alimentos sólidos e reações ocorridas na diversificação alimentar. Foram ainda analisados os dados dos estudos *in vivo* e *in vitro* de atopia. Foi feita uma análise comparativa do grupo de crianças com AA provável (crianças que, em Q2, apresentavam alimento suspeito, com reação IgE-Mediada) e grupo AA possível não IgE-Med (crianças que em Q2 apresentavam alimento suspeito, com reação não IgE-mediada).

Para todos os testes estatísticos foi considerado significativo um valor de *p* inferior a 0,05.

Resultados: Das 4045 crianças em idade escolar, 2474 (61,2%) aceitaram responder ao questionário inicial e foram incluídas no estudo. A prevalência de reação adversa a alimentos foi de 7,1% (IC95%: 6,2-8,1), baseada no questionário inicial (Q1). Em 115 crianças manteve-se a suspeita após aplicação presencial do *Questionário alargado de reações adversas a alimentos* (Q2).

O questionário Q2 foi reaplicado a 50 crianças com suspeita de alergia alimentar, cerca de 3 semanas após o teste inicial. O questionário mostrou boa estabilidade temporal (coeficiente de correlação de Spearman de 0,834), e boa reprodutibilidade (apenas 2 dos 27 itens apresentaram índice Kappa <0,60).

Com base no questionário alargado (Q2), aplicado presencialmente, a prevalência de AA autorreportada, foi de 4,6% (IC95%: 3,9-5,5). A prevalência de alergia alimentar “provável” (definição baseada em questionário Q2 positivo para algum alimento e evidência de mecanismo IgE-Mediado - Teste cutâneo por Picada (TCP) e/ou IgE elevada para esse alimento) foi de 1,4% (IC95%: 0,9-1,9). Os alimentos mais implicados foram os frutos frescos, o peixe e o ovo. O primeiro episódio ocorreu em idade mais precoce, reações mucocutâneas e anafiláticas foram mais associadas a RAA IgE-Mediadas que a Reações não IgE-Mediadas.

A prevalência de alergia possível a frutos (autorreportada, baseada em Q2) foi de 1,69 (IC95%: 1,19-2,21) enquanto a alergia provável a frutos (AFr - baseada em questionário e estudos *in vivo* e *in vitro* com evidência de mecanismo IgE-Mediado) foi de 0,61% (IC95%: 0,30-0,92). Apesar de morango, citrinos e kiwi serem os frutos mais implicados na alergia a Fr possível, na AFr provável os frutos mais implicados foram o kiwi, o pêsego, a banana e o morango. Os primeiros sintomas ocorreram em idades precoces (média 2,5 anos). Na AFr provável, 47% das crianças estavam sensibilizadas a dois ou mais frutos e as manifestações clínicas foram mais frequentemente imediatas e monossintomáticas: urticária/angioedema (57,1%), síndrome alérgica oral (SAO) (64,3%). Todas as crianças alérgicas a frutos estavam sensibilizadas a pólenes e a sensibilização a látex foi positiva em 71,6% das crianças com alergia a frutos com reatividade ao látex conhecida (síndrome látex-frutos).

O sexo masculino, os antecedentes pessoais de doenças alérgicas, marcadores *in vitro* de atopia e a sensibilização a aeroalergénios foram significativamente mais frequentes nas crianças com AA Provável (IgE-Med) do que no Grupo com AA possível, não IgE-Mediada. Já a residência em área urbana ou rural, o nível socioeconómico, a diversificação alimentar, não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos. Menor tempo de aleitamento materno foi mais associado ao Grupo não IgE-Med e a introdução de alimentos sólidos entre os 4 e os 6 meses mostrou estar significativamente menos associada à probabilidade de ter uma AA IgE-Med, comparativamente com a sua introdução após os 6 meses.

Conclusões: O questionário desenvolvido apresentou boa estabilidade temporal e reprodutibilidade, podendo ser utilizado de modo padronizado para rastreio de RAA permitindo uma abordagem uniformizada e passível de estudos comparativos futuros.

A prevalência de alergia alimentar provável em crianças portuguesas da Cova da Beira é baixa, e os pais tendem a sobrevalorizar as queixas destas, sendo a prevalência de AA significativamente mais elevada quando se baseia apenas em questionários presenciais do que nesses questionários em associação com estudos *in vivo* e *in vitro*. Os alimentos mais implicados são os frutos frescos e peixe. As reações IgE-Mediadas são mais frequentemente imediatas, polissintomáticas, mais severas e começam em idades mais precoces que as reações não IgE-mediadas.

Apesar do morango e os citrinos serem mais frequentemente reportados (alergia possível), um mecanismo IgE-Mediado demonstrado (alergia provável), bem como a manifestação clínica de SAO estão mais associados ao kiwi e ao pêsego. Nas crianças com AA provável, a sensibilização a mais do que um fruto é frequente e as manifestações são tipicamente mucocutâneas, imediatas e monossintomáticas. A reatividade cruzada com pólenes e látex é bastante frequente.

O perfil de risco para AA provável, IgE-mediada, envolveu significativamente mais o sexo masculino e a presença de atopia pessoal, no nosso estudo. Pelo contrário, um menor tempo de amamentação, a presença de atopia familiar, o nível socioeconómico e o local de residência não se associaram a um risco acrescido para alergia alimentar, IgE-Mediada.

Palavras-chave

Alergia alimentar, Alergia a frutos frescos, IgE específica, Crianças, Prevalência, Questionário, Reação adversa a alimentos, Risco, TCP, TCDP, Validação

Abstract

Introduction: Food allergy is a growing worldwide epidemic affecting about 6-8% of children. It is a highly stressful situation for children and their families, generating high levels of anxiety, being associated with poorer quality of life, sometimes worse than in many other chronic diseases, and is often the object of bullying. Risk factors are not yet fully known and the diagnosis is not always accurate. There is no adequate and consensual therapy, and avoidance is the method of choice to prevent allergic reactions and epinephrine is the most effective therapy for treating the most severe food-associated reactions of potentially fatal anaphylaxis.

It is of prime importance to know the reality of our population regarding aspects of food allergies, to better evaluate the pathology involved, to improve the literacy of allergic children and their caregivers, as well as health professionals, in relation to this area of clinical pathology. The aim should be to make food allergy diagnoses more accurate, to adapt avoidance measures to avoid overly restrictive and sometimes unnecessary diets, to prevent and treat potentially serious reactions.

Objectives: To construct and validate a questionnaire for children with suspected food allergies based on scientific knowledge of the area, including aspects considered important to identify the suspected food (s) and characterize the reaction that occurred identify children at risk of severe reaction and guide further studies.

To evaluate the prevalence of adverse food reaction (AFR) and food allergy (FA), to identify the most frequently implicated foods as well as the clinical and laboratory characteristics of food allergy in children of the Beira Interior.

To evaluate the impact of the most consensual risk factors for FA and AFR on the population studied.

To elaborate on the practical implications of this study, at individual, family and population level, on public health measures and the continuous improvement of health care.

Materials and methods: We constructed a food adverse reaction questionnaire based on validated questionnaires in other countries and on non-validated Portuguese questionnaires. The questionnaire was reviewed by immunoallergologists and an exploratory analysis was developed with its application in children with known food allergy. Reliability was assessed by test-retest in children with suspected adverse food reactions. To assess temporal stability and reproducibility we used the Spearman Rho correlation test and Cohen's kappa index. This

questionnaire was called Q2 and was applied to children who had a positive reply to a short simplified preliminary questionnaire (Q1), which asked if there was any suspicion of adverse reaction to any food.

The prevalence of adverse food reactions was assessed in children aged 3 to 11 years-old children from Cova da Beira region, by applying the adverse food reaction questionnaires. In children reporting episodes with suspicious foods, skin prick tests were additionally performed and specific IgE serum levels were determined for the involved foods. Clinical features of the reactions were analysed, and data related to personal and family history of atopy were collected.

Genetic and environmental risk factors were assessed for all children with positive Q2. In addition to demographic characterization, and reactions to the food (s) involved, personal and family history of atopy, breastfeeding time, age of introduction of solid foods and reactions occurring in food diversification were analysed. Data from in vivo and in vitro atopy studies were also analysed. A comparative analysis was carried out between the group of children with probable FA (children who had suspicious food in Q2, with an IgE-Mediated reaction) and the group with possible non-IgE-Med FA (children who had suspicious food in Q2, with a non-IgE-Mediated reaction).

For all statistical tests a p value of less than 0.05 was considered significant.

Results: Of the 4045 school-age children, 2474 (61.2%) agreed to answer the initial questionnaire and were included in the study. The prevalence of self-reported adverse reaction to food was 7.1% (95% CI: 6.2-8.1), based on the initial questionnaire (Q1). In 115 children, the suspicion remained after face-to-face application of the Extended Adverse Food Reaction Questionnaire (Q2).

The Q2 questionnaire was re-applied to 50 children with suspected food allergy about 3 weeks after the initial test. The questionnaire showed good temporal stability (Spearman's correlation coefficient of 0.834), and good reproducibility (only 2 of 27 items had a Kappa index <0.60).

Based on the extended questionnaire (Q2), applied in person, the final prevalence of self-reported FA was 4.6% (95% CI: 3.9-5.5). The prevalence of "probable" food allergy (definition based on Q2 positive questionnaire for some food and evidence of an IgE-mediated mechanism - positive SPT and/or high serum IgE levels specific for this food) was 1.4% (95% CI: 0.9-1.9). The most implicated foods were fresh fruits, fish and egg. The first episode occurred at an earlier age, and mucocutaneous and anaphylactic reactions were more frequently associated with IgE-Mediated AFR than with non-IgE-Mediated reactions.

The prevalence of possible fruit allergy (self-reported, based on Q2) was 1.69 (95% CI: 1.19-2.21) while probable fruit allergy (FrA - based on questionnaire and on *in vivo* and on *in vitro* studies with evidence of IgE-mediated mechanism) was 0.61% (95% CI: 0.30-0.92). Although strawberry, citrus and kiwi were the most frequently implicated fruits in possible allergy to fruits, in probable FrA the most implicated fruits were kiwi, peach, banana and strawberry. The first symptoms occurred at early ages (average 2.5 years). In probable FrA, 47% of children were sensitised to two or more fruits and clinical manifestations were most often immediate and monosymptomatic: urticaria / angioedema (57.1%), oral allergic syndrome (OAS) (64.3%). All fruit-allergic children were sensitised to pollens and latex sensitisation was positive in 71.6% of children with fruit allergy with known latex reactivity (latex-fruit syndrome).

Being a male, having a personal history of allergic diseases, and having positive *in vitro* markers of atopy, and aeroallergen sensitisation were significantly more frequent in children with Probable FA (IgE-Med) than in the possible non-IgE-Mediated FA group. Residence in urban or rural areas, socioeconomic status, and food diversification did not show statistically significant differences between the two groups. Shorter breastfeeding time was more frequently associated with the non-IgE-Med group and the introduction of solid foods between 4 and 6 months was significantly less associated with the likelihood of having an IgE-Med FA compared to its introduction after 6 months.

Conclusions: The developed questionnaire presented good temporal stability and reproducibility and could be used in a standardised way for AFR screening, thereby allowing a uniform approach which may facilitate future comparative studies.

The prevalence of probable food allergy in Portuguese children in Cova da Beira is low, children's parents have a tendency to overestimate their complaints, and the prevalence of FA is significantly higher when based only on face-to-face questionnaires than on these questionnaires associated with *in vivo* and *in vitro* studies. The most frequently implicated foods are fresh fruits and fish. IgE-Mediated reactions are more often immediate, polysymptomatic, more severe, and begin at earlier ages than non-IgE-Mediated reactions.

Although strawberry and citrus fruits are most frequently reported (possible allergy), a demonstrated IgE-mediated mechanism (probable allergy) as well as the clinical manifestation of OAS are more frequently associated with kiwi and peach. In children with probable FA, sensitisation to more than one fruit is frequent and manifestations are typically mucocutaneous, immediate and monosymptomatic. Cross reactivity with pollen and latex is quite common.

The risk profile for probable, IgE-Mediated FA involved in our study, was significantly more frequently associated with being male and having personal atopy. In contrast, shorter

breastfeeding time, the presence of family atopy, socioeconomic status, and place of residence were not associated with an increased risk for IgE-Mediated food allergy.

Keywords

Food allergy, Fresh fruit allergy, Specific IgE, Children, Prevalence, Questionnaire, Adverse food reaction, Risk, SPT, SPPT, Validation

Índice

Lista de Tabelas	xvii
Lista de Acrónimos	xix
1. Introdução	1
1.1. Reação adversa a alimentos.....	1
1.2. Alergia alimentar	3
1.3. Fisiopatologia e história natural da Alergia alimentar	3
1.4. Alergénios alimentares.....	7
1.5. Reações Cruzadas.....	9
1.6. Apresentação clínica de AA	11
1.7. Diagnóstico	13
1.7.1. História Clínica.....	13
1.7.2. Estudos <i>in vivo</i>	14
1.7.3. Estudos <i>in vitro</i>	15
1.7.4. Prova de Provocação oral.....	17
1.8. Estudos epidemiológicos em crianças.....	19
1.9. Definição operacional de AA nos estudos	22
1.10. Questionários como ferramentas metodológicas	23
1.11. Fatores de Risco de AA.....	24
2. Objetivos gerais	29
2.1. Construção e validação de questionário de estudo de alergia alimentar em crianças portuguesas.....	29
2.2. Prevalência, caraterização clínica e alergológica de alergia alimentar	29
2.3. Prevalência e caraterização clínica de alergia a frutos frescos.....	29
2.4. Fatores de risco para alergia alimentar	30
2.5. Reflexão.....	30
2.6. Importância do estudo	30
2.7. Considerações éticas	31
3. Estudos efetuados.....	33
3.1. Construção e validação de questionário para avaliação de crianças com reação adversa e alergia a alimentos	33
3.1.1. Introdução	33
3.1.2. Objetivos específicos.....	34
3.1.3. Materiais e métodos.....	34
3.1.4. Resultados	39
3.1.5. Discussão.....	42

3.2. Prevalência e caracterização clínica de alergia alimentar em crianças da Beira Interior	47
3.2.1. Introdução.....	47
3.2.2. Objetivos	48
3.2.3. Material e métodos.....	48
3.2.4. Resultados obtidos	54
3.2.5. Discussão	65
3.3. Alergia a frutos frescos em crianças portuguesas de uma região polínica: estudos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	71
3.3.1. Introdução.....	71
3.3.2. Objetivos	72
3.3.3. Metodologia	73
3.3.4. Resultados obtidos	75
3.3.5. Discussão	83
3.4. Fatores de risco para alergia alimentar	91
3.4.1. Introdução.....	91
3.4.2. Objetivos	94
3.4.3. Metodologia	95
3.4.4. Resultados.....	96
3.4.5. Discussão	104
3.5. Alergia alimentar na consulta de Pediatria-alergologia do CHUCB.....	111
3.5.1. Introdução.....	111
3.5.2. Objetivos	111
3.5.3. Métodos.....	111
3.5.4. Resultados encontrados	112
3.5.5. Conclusões.....	115
3.6. Medidas de educação para a saúde na área das alergias alimentares	117
4. Discussão Geral e Conclusões	125
5. Projetos futuros/ implicações práticas.....	131
Bibliografia.....	133
Anexos	153

Lista de Figuras

<i>Figura 1- Desenho do estudo de teste-reteste</i>	38
Figura 2- Desenho do Estudo de Prevalência de AA	55
Figura 3- Episódios de reações por alimento	60
Figura 4- Gravidade dos vários episódios de reação	61
Figura 5- Desenho esquemático do estudo de alergia a frutos frescos	75
<i>Figura 6- Alergia alimentar na consulta de Pediatria-alergologia</i>	112
<i>Figura 7-Antecedentes pessoais de atopia em crianças com AA</i>	114

Lista de Tabelas

<i>Tabela 1- Classificação das reações adversas a alimentos</i>	2
<i>Tabela 2- Teste de Correlação de Spearman</i>	39
<i>Tabela 3 - Avaliação da reprodutibilidade do Inquérito para pesquisa de reações adversas a alimentos e alergia alimentar</i>	41
<i>Tabela 4- Definição da sintomatologia</i>	50
<i>Tabela 5- Definição de anafilaxia</i>	51
<i>Tabela 6- Graus de gravidade da anafilaxia</i>	51
<i>Tabela 7- Dados sociodemográficos das crianças estudadas</i>	56
<i>Tabela 8- Dados clínicos das crianças que concluíram o estudo</i>	57
<i>Tabela 9- Quadro resumo dos alimentos implicados no questionário inicial, em Q2, com Reação IgE- Mediada e não IgE-Mediada</i>	58
<i>Tabela 10 - Tempo decorrido após a última reação</i>	60
<i>Tabela 11 - Manifestações clínicas das reações adversas nas crianças que completaram o estudo (n-109)</i>	62
<i>Tabela 12- Reprodutibilidade da reação</i>	62
<i>Tabela 13- Estudos in vivo e in vitro</i>	63
<i>Tabela 14- Manifestações clínicas das reações IgE-Med por grupo de alimento</i>	64
<i>Tabela 15- Manifestações clínicas e sensibilização das reações IgE-Med por grupo de alimento</i>	64
<i>Tabela 16- Caraterização sociodemográfica da população, AFr provável e AFr nlgEMed</i>	76
<i>Tabela 17- Frutos implicados nas crianças com AFr possível, AFr provável, Grupo AFr nlgE-Med</i>	78
<i>Tabela 18- Caraterização clínica das AFr nlgE-Med</i>	79
<i>Tabela 19- Caraterização clínica da AFr provável</i>	80
<i>Tabela 20- Caraterização dos estudos in vivo e in vitro das AFr IgE-Mediadas</i>	81
<i>Tabela 21- Dados individuais das crianças com AFr IgE-Mediadas</i>	82
<i>Tabela 22- Fatores de risco sociodemográficos</i>	97
<i>Tabela 23- Duração de amamentação</i>	98
<i>Tabela 24- Introdução de alimentos sólidos</i>	99
<i>Tabela 25- Introdução de novos alimentos</i>	99
<i>Tabela 26- Antecedentes pessoais de atopia</i>	100
<i>Tabela 27- Antecedentes familiares de atopia</i>	101
<i>Tabela 28- Rastreio de atopia in vitro</i>	102
<i>Tabela 29- Positividade de IgE, Fx5E, Phadiatop®</i>	102
<i>Tabela 30- Sensibilização a aeroalergénios</i>	103
<i>Tabela 31- Dados sociodemográficos das crianças com alergia alimentar</i>	113
<i>Tabela 32- Idade atual e idade da primeira consulta</i>	113
<i>Tabela 33- Testes de IgE específica positiva, com distribuição por grupos alimentares</i>	114

Lista de Acrónimos

AA	Alergia Alimentar
AAAAI	American Academy of Allergy, Asthma & Immunology
AFr	Alergia a Frutos Frescos
APLV	Alergia às Proteínas de Leite de Vaca
CHUCB, E.P.E.	Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira, E.P.E.
CI	Intervalo de Confiança
DGIDC	Direção Geral de Inovação e de Desenvolvimento Curricular
DP	Desvio Padrão
EAACI	European Academy of Allergology and Clinical Immunology
GI	Gastrointestinal
HC	História clínica
IgE-Med	Reação IgE-Mediada
LTP	Proteínas Transportadoras de Lípidos
Não IgE-Med	Reação não IgE-mediada
OR	Odds Ratio
PPO	Prova de Provocação oral
PPODC	Prova de Provocação Oral Duplo Cega e Controlada por Placebo
PR	Pathogenesis Related
Q1	Inquérito para Pesquisa das Reações Adversas a Alimentos, versão resumida
Q2	Inquérito alargado para Pesquisa das Reações Adversas a Alimentos e Alergia alimentar
RAA	Reação adversa a alimentos
RAFr	Reação adversa a frutos frescos
RR	Risco Relativo
SAO	Síndrome de Alergia Oral
SPAIC	Sociedade Portuguesa de Alergia e Imunologia Clínica
SPF	Síndrome pólenes-frutos
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
TCDP	Teste cutâneo por Dupla Picada
TCP	Teste cutâneo por picada
TGI	Trato Gastrointestinal

1. Introdução

1.1. Reação adversa a alimentos

Reação adversa a alimentos (RAA) é o termo habitualmente usado para uma resposta clínica anormal a um alimento ou aditivo alimentar (Burks, 2006; Lee, 2006). Uma RAA pode ocorrer em qualquer criança, independentemente de ser ou não alérgica, tendo muitas vezes um carácter imprevisível.

A denominação de “intolerância alimentar” tem sido usada de modo indiscriminado e frequentemente como sinónimo de alergia alimentar (AA). No entanto, vários outros mecanismos diferentes dos de alergias alimentares podem estar implicados nas reações adversas a alimentos.

De acordo com a Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica (EAACI) as RAA podem classificar-se segundo o mecanismo fisiopatológico, em alergia alimentar e hipersensibilidade alimentar não alérgica (ou intolerância alimentar) consoante os mecanismos imunológicos sejam ou não demonstráveis (Sampson, 2004) (Tabela 1).

A intolerância alimentar é, assim, definida como uma resposta fisiológica anormal, decorrente da ingestão de um alimento ou aditivo alimentar. Estas reações não têm um mecanismo imunológico identificável, são geralmente dependentes da dose do alimento e não são reprodutíveis. No mecanismo de base intervêm as propriedades dos alimentos ou características fisiológicas e distúrbios metabólicos do hospedeiro.

Tabela 1- Classificação das reações adversas a alimentos

Reações adversas a alimentos		Hipersensibilidade alimentar não-alérgica /intolerância alimentar	
Alergia alimentar			
Mediada por IgE	Urticária Angioedema Anafilaxia Síndrome Alérgica Oral (SAO)	Tóxica	Intoxicação alimentar Bacteriana Intoxicação do marisco Intoxicação por metais pesados
Mediada por IgE e células ou mista	Esofagite eosinofílica alérgica Gastroenterite eosinofílica alérgica Dermite atópica Asma	Farmacológica	Tiramina Cafeína Histamina Álcool
Mediada por células	Enterocolite induzida por proteínas Alimentares Proctocolite induzida por proteínas Alimentares Enteropatia induzida por proteínas Alimentares Síndrome de Heiner	Não tóxica	Deficiência da Lactase Galactosémia Insuficiência Pancreática Doença hepática/biliar Hérnia do hiato Rinite gustatória Anorexia nervosa

Adaptada de: Sampson, 2004; Lee I,2006

Alguns alimentos podem desencadear reações tóxicas ou farmacológicas por intolerância, pelo facto de conterem histamina, como por exemplo atum e salmão, tomate, queijos e enlatados; ou por conterem tiramina, tais como chocolate, vinho tinto, e queijos envelhecidos, o que, em pessoas sensíveis, pode levar ao aparecimento de uma reação aguda, muito semelhante à reação alérgica (Boyce, 2010; Niggemann, 2012; Sicherer, 2011). Os sulfitos, substâncias usadas como conservantes também podem desencadear asma e reações anafiláticas de natureza não-imunológica (Niggemann, 2012). A ativação direta, não imunológica, dos mastócitos, desencadeada por alguns alimentos como o morango, o chocolate, a clara de ovo, a carne de porco, a canela, o abacaxi, a papaia e outros alimentos pode também induzir reações chamadas “pseudoalérgicas” (Sicherer, 2011; Niggemann, 2012).

Finalmente, características do hospedeiro como erros congénitos do metabolismo, reações fisiológicas como aerocolia pela presença de grande quantidade de amido presente em alguns vegetais, que estimula a produção de histamina local, reações idiossincrásicas e aversão ao alimento podem também estar associadas a RAA (Sampson, 2004; Falcão, 2004; Burks, 2006; Lee, 2006; Boyce, 2010; Santos, 2012; Niggemann, 2012).

1.2. Alergia alimentar

A alergia alimentar (AA) é uma reação adversa a alimentos, mediada por um mecanismo imunológico, provocada pela ingestão, contacto ou inalação de um alimento, seus derivados ou de um aditivo alimentar contido no mesmo. Apesar de a maior parte das reações de alergia alimentar bem caracterizadas, serem mediadas pela IgE (IgE-Mediadas; reações de tipo I), também mecanismos imunológicos não IgE-mediados podem ser responsáveis por várias reações de hipersensibilidade a alimentos, considerando-se, assim, haver reações IgE-mediadas, reações não IgE-mediadas e reações em que ambos os mecanismos estão implicados (Johanson, 2004; Burks, 2006; Sicherer, 2006) (Tabela 1).

As reações IgE-Mediadas são habitualmente imediatas (surgindo entre minutos a duas horas), e ocorrem num hospedeiro suscetível, mesmo após a ingestão de pequenas quantidades do alimento (Lee, 2006; Johansson, 2008). Os anticorpos IgE específicos contra os alérgenos alimentares podem ser detetados a nível sérico, por testes adequados, que serão discutidos mais adiante. Os quadros clínicos têm tendência a repetir-se com manifestações idênticas aquando da tentativa de reintrodução do alimento.

As alergias alimentares não IgE-Mediadas dão origem a quadros clínicos geralmente de aparecimento mais tardio ou insidioso e de diagnóstico etiológico mais difícil, com um mecanismo fisiopatológico menos claro, como é o caso da dermatite atópica, a esofagite e gastrite eosinofílicas ou a enteropatia induzida por proteínas (Burks, 2006). O trigo é um exemplo de alimento que pode causar reações alérgicas IgE-Mediadas e reações alérgicas não IgE-Mediadas como a celiquia.

Embora essas diferentes formas de alergia alimentar tenham apresentações clínicas variadas, provavelmente compartilham uma fisiopatologia comum, com sensibilização de antígenos alimentares e desvio Th2 do sistema imunológico (Wang, 2011).

Neste trabalho vamos abordar essencialmente as AA IgE-Mediadas.

1.3. Fisiopatologia e história natural da Alergia alimentar

O sistema imunitário da mucosa intestinal contacta com uma elevada quantidade de alérgenos alimentares. Geralmente, suprime a reatividade imunitária a antígenos estranhos inofensivos (alimentos, bactérias comensais) e mantém uma resposta protetora contra patógenos potencialmente perigosos. Induz, assim, uma tolerância oral específica (Mowat, 2003), para a qual a própria flora comensal do intestino também parece contribuir (Sudo, 1997).

Apesar da complexidade da barreira gastrointestinal (GI), cerca de 2% dos antígenos alimentares ingeridos são absorvidos e transportados para o organismo sob a forma

imunologicamente intacta, mesmo num trato GI maduro normal (Husby, 1987; Sampson, 2004). A imaturidade dos vários componentes da barreira intestinal e do sistema imunitário do bebé e da criança reduz a eficiência da barreira mucosa GI, o que parece ter como consequência tanto um aumento das infeções gastrointestinais como das alergias alimentares em idade pediátrica (Sampson, 2004), possivelmente por permitir uma exposição inadequada e/ou aumentada a antígenos alimentares.

Apesar de os mecanismos não serem ainda bem conhecidos, tem havido uma crescente compreensão da tolerância oral, os mecanismos pelos quais as proteínas ingeridas são capazes de interagir com populações únicas de células apresentadoras de antígenos, levando à supressão das respostas imunitárias, quer celulares quer humorais. De qualquer forma, os avanços científicos nesta área da tolerância alimentar vêm principalmente de modelos animais (Wang, 2011; Qamar, 2015; Nowak-Wegrzyn, 2015).

A tolerância oral resulta de interações complexas entre células dendríticas (DCs), células T reguladoras, células T efectoras e células NKT, bem como outros componentes imunitários. Essas células desempenham papéis diferentes que podem variar dependendo de sua localização e método de apresentação de antígenos (Wang, 2011). De facto, vários fatores podem influenciar a indução de tolerância. Esta pode ser induzida por doses baixas e repetidas de antígeno, ou por exposição a doses elevadas condicionando anergia linfocitária e deleção por apoptose (Wang, 2011). Para além disso, alguns fatores relacionados com a indução da tolerância a antígenos alimentares são relacionados com os próprios antígenos e outros são inerentes ao hospedeiro (Qamar, 2015; Nowak-Wegrzyn, 2015). Distúrbios a vários níveis das vias conducentes à tolerância oral foram descritos na hipersensibilidade alimentar por diversos estudos em modelos animais e *in vitro*, com células humanas (Chehade, 2005).

Em termos globais, pode-se afirmar que uma reação de hipersensibilidade a um determinado alimento pode ocorrer por falta de tolerância oral num indivíduo com predisposição genética para tal ou por quebra de tolerância oral no trato gastrointestinal (Wang, 2011; Qamar, 2015; Nowak-Wegrzyn, 2015). Tal resulta numa produção excessiva de anticorpos IgE específicos para alimentos, que se ligam a recetores de alta afinidade nos mastócitos e basófilos e a recetores de baixa afinidade nos macrófagos, monócitos, linfócitos, eosinófilos e plaquetas (Sampson, 1999; Burks, 2006). Quando os alérgenos alimentares reagem com as moléculas de IgE ligadas aos recetores de alta afinidade na membrana dos mastócitos e basófilos, há ativação destas células, com libertação de mediadores como histamina, prostaglandinas e leucotrienos. Estes promovem vasodilatação, contração do músculo liso e secreção de muco, resultando nos sintomas de hipersensibilidade imediata. A ativação dos mastócitos também pode libertar outras citocinas implicadas na resposta de fase tardia. Com a repetição da ingestão do alimento implicado, células mononucleares, nomeadamente monócitos, são também estimulados e libertam fatores de libertação de histamina (Burks, 2006).

Um aspeto curioso é o de que, para além da sensibilização aos alérgenos alimentares que ocorre no trato gastrointestinal (AA Classe 1) também parece ser possível desenvolver alergia alimentar após sensibilização primária a alérgenos inalantes (AA Classe 2) (Breiteneder, 2000). A sensibilização primária também pode ocorrer por via cutânea, como foi estudado em relação ao amendoim (Brough, 2018). A relevância relativa destas vias, em termos de AA, ainda tem de ser mais clarificada em humanos.

Um aspeto importante é o de que a aquisição de tolerância ou de sensibilização a um alimento tende a ocorrer nos primeiros anos de vida. De facto, vários estudos demonstraram que a sensibilização a alérgenos ocorre, na maior parte dos doentes, nos primeiros 2 anos de vida, estando a redução da sensibilização associada à possibilidade de vir a tolerar esse alimento (Boyce, 2010). Características clínicas como a gravidade dos sintomas e a baixa dose de alimento necessária para desencadear uma reação, bem como os valores de IgE específica para alimentos e o tamanho da pápula dos testes cutâneos por picada (TCP) com alimentos, ajudam a prever a possibilidade de tolerância ou de persistência de uma AA específica (Savage 2016). Alguns estudos apontam para que o diagnóstico em idade precoce e a concomitância de outras doenças alérgicas, bem como a gravidade destas, podem estar associadas a situações de AA persistente (Savage 2016).

É também importante realçar que a idade em que crianças com AA conseguem adquirir tolerância aos alimentos implicados parece variar com o tipo de alimento, podendo, em determinados casos, ocorrer só na adolescência, conforme demonstrado num estudo de uma coorte de 1450 adolescentes ingleses da ilha de Wight, seguidos desde a infância até aos 18 anos de idade (Venkataraman, 2018). Em termos globais, a maior parte das crianças com AA pode vir a tolerar alimentos como leite, ovo, soja, trigo, quando mais velha. Contudo, a alergia ao amendoim, frutos secos, peixe e marisco tem tendência a persistir (Wood, 2003; Qamar, 2015). Por outro lado, também o surgimento de AA pode ter início em diversas fases da vida, nomeadamente na própria adolescência (Venkataraman, 2018).

Vejamos o que se passa em termos de cada alérgeno alimentar principal:

a) A alergia ao leite de vaca ou, mais concretamente, a alergia a proteínas do leite de vaca (APLV), inicia-se no 1º ano de vida e 80% das crianças conseguem desenvolver tolerância até ao final do 1º ano. A maior parte (60%) das crianças têm reações IgE-Mediadas e, destas, 25% mantêm sensibilidade alimentar no 2º ano de vida. Em alguns casos, a alergia a proteínas do leite de vaca pode persistir até à idade adulta, mas esta situação é muito menos frequente (Lee, 2006; Schoemaker, 2015);

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

b) A alergia ao ovo costuma desaparecer até aos 3-5 anos embora, numa pequena percentagem, tal não aconteça, por motivos que ainda não se conhecem totalmente (Aragonés, 2001; Wood, 2003);

c) A alergia a frutos frescos é frequentemente duradoura e sem tendência a desaparecer;

d) A alergia a frutos secos também é frequentemente duradoura e sem tendência a desaparecer, embora existam estudos em crianças com alergia a amendoim (estudo LEAP) que desenvolveram tolerância em idades precoces (Du Toit, 2013);

e) A alergia ao peixe tem início mais frequentemente na vida adulta, está associada a reações graves e é habitualmente persistente (Sicherer, 2010).

Pouco se sabe sobre os mecanismos naturais pelos quais as alergias alimentares na infância resolvem com a idade, adquirindo tolerância oral. Os biomarcadores associados à resolução de alergias alimentares incluem diminuição do diâmetro da pápula dos TCP, menor ativação de basófilos após estímulo a alérgenos alimentares (avaliada pela expressão do recetor membranar CD63), diminuição dos níveis séricos de anticorpos IgE e anticorpos IgE dirigidos predominantemente contra epítomos conformacionais e não sequenciais (Nowak-Wegrzyn, 2015; Qamar, 2015). Os alérgenos com epítomos com estrutura linear (como frutos secos, sementes, peixe), têm maior tendência a condicionar AA persistente enquanto epítomos que têm uma estrutura conformacional (como leite, ovo, trigo, soja) parecem estar mais associados a AA transitória e a tolerância a alimentos cozinhados (Nowak-Wegrzyn, 2003; Lack, 2008; Cox, 2008). Os níveis iniciais de IgE específicas para alimentos, alergias alimentares múltiplas, história de anafilaxia, concomitância de outra doença alérgica como dermatite atópica parecem relacionar-se com a demora em conseguir tolerância ou mesmo a persistência da alergia (Boyce, NIAID 2010; Wood, 2013; Peters, 2015, Sicherer, 2014).

O estabelecimento da tolerância oral aos alimentos é um complexo processo, resultante do equilíbrio entre a imunidade "saudável" que impulsiona o desenvolvimento de células T reguladoras (Treg) e a produção de IgG/IgG4 para alimentos, e a imunidade que promove respostas efetoras Th2 dominantes que, através da produção de IL-4 e IL-13, levam à produção exagerada de IgE e, através da produção de IL-5, induzem eosinofilia tecidual e no sangue periférico. O equilíbrio entre a imunidade "saudável", pró-Treg e a imunidade associada a AA, pró-Th2, pode ser alterado devido a fatores ambientais no ponto de apresentação de alérgenos no intestino ou nos níveis subsequentes de resposta do sistema imunitário, possivelmente envolvendo alterações nas células Treg (Turcanu, 2017). Parece existir uma janela de oportunidade durante o primeiro ano de vida da criança que pode influenciar uma resposta no sentido da tolerância (DuToit, 2018). Por outro lado, dentro desta janela de exposição, a eficácia de indução de tolerância oral parece ser influenciada pela dose de proteína ingerida.

Parece haver um nível crítico de consumo de proteína necessário para o desenvolvimento da tolerância oral (DuToit, 2018). Os dados do estudo EAT, efetuado em cerca de 1300 crianças inglesas com 3 meses de idade, que foram seguidas até aos 3 anos de idade, mostraram que, em comparação com a introdução estandardizada de alimentos como o amendoim, o ovo cozido, o leite de vaca, o sésamo, peixe branco e centeio, depois dos 6 meses de idade, a introdução precoce desses alimentos, com ingestão de aproximadamente 2 g de proteína alimentar por semana, parece estar significativamente associada a uma menor prevalência de alergia pelo menos ao amendoim e ao ovo (Perkin, 2016).

1.4. Alergénios alimentares

De cerca de 12000 alergénios alimentares conhecidos só um pequeno número induz alergias e cerca de 170 alimentos foram implicados em reações IgE-Mediadas (Boyce NIAID, 2010). Apesar destes alimentos poderem provocar alergias, um número reduzido de alimentos é responsável pela maioria das reações (Wang, 2011).

Os alergénios alimentares são, na maioria, proteínas ou glicoproteínas com peso molecular entre 10.000 e 100.000 daltons, com elevada atividade biológica, habitualmente hidrossolúveis com elevada termoestabilidade e resistentes à degradação pelas enzimas (proteases) e ácidos digestivos, sendo, portanto, capazes de sensibilizar o indivíduo no trato gastrointestinal (Sampson, 1999; Lee 2006). Alguns constituintes alimentares de baixo peso molecular podem adquirir alergenicidade por ligação a proteínas circulantes. Por outro lado, parece haver diferenças entre alergénios de origem animal e alergénios de origem vegetal: enquanto os primeiros são limitados em número e na frequência de associação a fenómenos de reatividade cruzada, os de origem vegetal são muito diversos e mais frequentemente estão na base de reações cruzadas (Sampson, 2004). Sessenta por cento ou mais dos alergénios alimentares derivados de plantas pertencem a quatro famílias de proteínas: as prolaminas (que inclui proteínas de armazenamento de cereais, proteínas não específicas de transportadoras de lípidos (LTPs) e albuminas 2S de armazenamento), as cupinas (que incluem as proteínas de armazenamento 7S e 11S de sementes), os homólogos da Bet v1 (como a Mal d 1 da maçã e a Api g 1 do aipo), e as profilinas (como a Api g 4, do aipo), enquanto que os alergénios alimentares de origem animal pertencem geralmente a três famílias de proteínas: tropomiosinas, parvalbuminas e caseínas (Jenkins, 2005; Jenkins, 2007).

No leite de vaca existem várias frações proteicas, nomeadamente a beta-lactoglobulina bovina, a alfa-lactoalbumina e a caseína. A beta-lactoglobulina bovina corresponde a 10% das proteínas lácteas e é responsável por cerca de 80% das alergias às proteínas do leite de vaca (APLV). Por

seu lado, a alfa-lactoalbumina e a caseína são alergénios menos frequentes, mas a caseína é a principal responsável por APLV persistente (Hochwallner, 2014).

As proteínas e os lípidos estão presentes em pequenas quantidades na parte comestível dos frutos. Famílias de proteínas no reino vegetal, com distribuição ubiquitária (panalergénios), apresentam sequências aminoácídicas e funções bioquímicas semelhantes (alergénios homólogos) (Ghaffar, 2001; Eigenmann, 2009).

Os alergénios dos frutos e vegetais podem ser classificados em dois grandes grupos: proteínas de defesa, chamadas genericamente PR (*Pathogenesis related*) e Profilinas. Curiosamente, nas AAs de Classe 1 estão principalmente envolvidas as PR, enquanto que nas AA de Classe 2 estão geralmente envolvidas as Profilinas (Carrapatoso, 2006; Rougé, 2009).

As PR são classificadas em 17 grupos, embora apenas 6 (PR 2, 3, 4, 5, 10 e 14) contribuam para as AAF. São proteínas estáveis à pepsina e pH baixo permitindo comportarem-se como alergénios alimentares (Carrapatoso, 2006). O alergénio major do pólen de bétula (Bet v I) é conhecido como o principal responsável pela reatividade cruzada entre frutos e vegetais e bétula. Os alergénios homólogos da Bet v I estão implicados em mais de 90% das alergias a rosáceas na Europa de norte e central, estando a maçã como fruto mais implicado (aparentemente por analogia entre a Bet v 1 e o Mal d 1, alergénio major da maçã). As LTPs (proteínas transportadoras de lípidos ou PR 14) presentes em frutos, vegetais e pólenes (em especial de Artemísia), estão implicadas em alergias a vários frutos frescos, podem originar reações de gravidade mais variável, que vão desde a síndrome de alergia oral até, mais frequentemente, sintomas sistémicos e reações anafiláticas. São também alergénios estáveis, com elevada resistência à pepsina, e a sua sensibilização tem elevada prevalência na bacia Mediterrânica (Schocker, 2004; Burks, 2006). Uma significativa percentagem de casos de anafilaxia induzida pelo exercício físico, após a ingestão de frutos frescos ocorre em doentes sensibilizados a LTP (Giannetti MP, 2018; Farrell, 2019). Alguns destes doentes toleram frutos como o pêsego ou a maçã desde que descascados, visto que a casca apresenta maior concentração de LTP. Neste caso, a alergia a pólenes pode estar ou não associada à alergia alimentar.

As Profilinas são proteínas estruturais com distribuição ubiquitária nos alimentos de origem vegetal e são termolábeis. Os doentes sensibilizados às profilinas, têm geralmente reações ligeiras, como a síndrome de alergia oral, e toleram os frutos se estes forem cozinhados (Santos, 2011). São habitualmente alérgicos a pólenes e a sensibilização prévia a estes, por via inalatória, facilita a ocorrência de alergia alimentar. De relevância na bacia mediterrânica, pode-se realçar a síndrome gramíneas-Rosaceae. Neste contexto, foi demonstrada homologia de cerca de 80% entre as profilinas da bétula, Artemísia e gramíneas (Carrapatoso, 2006).

1.5. Reações Cruzadas

Ainda que não pertençam à mesma classificação taxonómica, determinadas proteínas apresentam sequências idênticas de aminoácidos. A afinidade desta sequência à IgE, a sua estrutura espacial (linear ou tridimensional) e o grau de homogeneidade (de 25% a mais de 70% de similaridade) são fatores determinantes para que o reconhecimento das proteínas pelo sistema imunitário se reflita em reação clínica (Kazatsky, 2016). Esta homologia explica a importância da IgE nas reações cruzadas: a sensibilização a uma das proteínas pode levar a reações alérgicas quando houver exposição a proteínas semelhantes, não necessariamente do mesmo alérgeno (Werfel, 2015).

Estão descritas várias síndromes clínicas associadas a reatividade cruzada entre alimentos e aeroalérgenos, sendo a mais conhecida a Síndrome de alergia oral (SAO), por reação cruzada entre alérgenos alimentares e alérgenos de pólenes, em doentes que também têm sensibilizações polínicas e manifestações de polinose (geralmente rinite ou rinoconjuntivite) (Muluk, 2018). Alguns doentes apresentam alergia apenas a um ou alguns frutos relacionados entre si, sem outro tipo de doença alérgica associada. Noutros casos, alergia a diversos frutos frescos e vegetais, desenvolve-se como consequência de uma alergia respiratória prévia a certos pólenes. Esta alergia múltipla é conhecida por Síndrome de alergia pólen-frutos (SPF) e ocorre devido à existência de reatividade cruzada a certas proteínas com estrutura semelhante presentes tanto nos pólenes como em diversos frutos e alimentos vegetais (Price, 2015; Werfel, 2015; Carlson, 2019). O mais frequente é a associação de polinose a gramíneas e a alergia ao pêssego (Síndrome Gramíneas-rosáceas) e a polinose a bétula e alergia à maçã (Síndrome Bétula-maçã). Também é frequente a reatividade cruzada entre melão (família das Cucurbitáceas que inclui também melancia e vegetais como a abóbora, a curgete e o pepino) e gramíneas. As reações após a ingestão de melão são geralmente imediatas, e manifestam-se frequentemente com SAO ou urticária. A maioria dos doentes alérgicos ao melão reage a profilinas. Por outro lado, a alergia aos citrinos é rara (Lorio, 2013). Quando ocorre, podem ser esperadas reações cruzadas dentro da família *Rutaceae*.

Nos frutos secos, o conteúdo em proteínas varia entre 10 a 30%. Está descrito que 25 a 35% dos doentes com alergia ao amendoim (leguminosa) apresentam alergia a outros frutos secos como noz, caju ou pistacho. Ocasionalmente os doentes alérgicos ao amendoim podem apresentar sintomas com a ingestão de soja, ervilha, grão, feijão ou vice-versa (Ramesh, 2008; Masthoff, 2015).

A síndrome Látex-frutos ocorre também devido à existência de reatividade cruzada a certas proteínas com estrutura semelhante, presentes tanto no látex como em diversos frutos frescos e alimentos vegetais (Barre, 2008). A Síndrome Látex-Frutos representa um importante problema de saúde pública nos grupos populacionais de risco bem definidos (profissionais de

saúde e trabalhadores de plantações/indústria da borracha, doentes submetidos a cirurgias múltiplas nomeadamente crianças com espinha bífida e anomalias urogenitais) (Cremer, 2007).

Aproximadamente 30-50% dos indivíduos sensibilizados ao látex têm alergia a alimentos vegetais, especialmente a frutos frescos (Brehler, 1997; Radauer, 2011;). Um amplo leque de frutos frescos tem sido implicado nesta síndrome, sendo os mais frequentes o abacate, a banana, a castanha, ou o kiwi, mas também havendo reatividade possível para a melancia, a maçã, a cereja, o coco, o alperce, o morango, o pêsego, o figo, o melão, o ananás, a papaia, e a manga. Num estudo em crianças portuguesas sensibilizadas ao látex, 65% apresentavam sensibilização a alimentos com reatividade cruzada para látex descrita (Jorge, 2006). Essa associação é atribuída à reatividade cruzada entre o principal alergénio heveínico do látex e os domínios semelhantes à heveína (HLDs) das quitinases da classe I de frutos frescos (Barre, 2009; Rougé, 2009; Radauer, 2011). Por outro lado, em indivíduos com alergias alimentares a frutos também podem ser detetados casos de sensibilização ao látex. Assim, cerca de 85% dos doentes alérgicos a frutos frescos (particularmente aos frutos frescos acima referidos) apresentam sensibilização ao látex e cerca de 11% apresentam reação de alergia ao látex (Akasawa, 1993; Garcia-Ortiz, 1998; Sicherer, 2001).

Pode ocorrer também sensibilização a alergénios inalados e ingeridos pela existência de proteínas de origem animal com estrutura semelhante, como acontece com a sensibilização a ácaros, com sintomas respiratórios, e a sensibilização ao caracol e/ou aos mariscos, com sintomas de alergia alimentar, devido a reações cruzadas com base na sensibilização à tropomiosina, alergénio presente nestas fontes (Hoffmann-Sommergruber, 2009). Manifestações tipo SAO também foram descritas com a ingestão de ovos em crianças sensibilizadas a aves (síndrome aves-ovos) (Hoffmann-Sommergruber, 2009).

Apesar do conhecimento crescente relativamente à reatividade cruzada, existe muita discrepância na sua definição, no diagnóstico, suspeição e medidas de evicção e terapêutica. Por vezes, a reatividade cruzada justifica os sintomas clínicos, mas outras vezes a reatividade cruzada é apenas um achado, podendo manifestar-se como sensibilização (SPT ou IgE específicas positivas) a diferentes alimentos, mas sem tradução clínica (sensibilização assintomática) (Høst, 2003; Carrapatoso, 2009).

A prevalência da SAO e SPF varia entre 4,9 e 14,7%, sendo considerada rara nas crianças mais novas e aumentando com a idade (Ivkovic, 2015; Songhui, 2017). Esta diferença de diagnóstico nas crianças poderá ser atribuída a história clínica difícil de recolher nesta idade, tendo em consideração que os sintomas habitualmente não são aparentes e não são de descrição fácil pelas crianças (Ivkovic, 2015). De facto, Brown *et al*, num estudo transversal que avaliou 163 crianças e adolescentes, entre os 4 e os 17 anos de idade, seguidas em consulta por doença atópica, encontrou uma prevalência de SPF de 4,9% e uma elevada prevalência de SAO (14,7%) com uma prevalência de AA com manifestação de SAO de 13,6% (Brown, 2014).

1.6. Apresentação clínica de AA

Uma vez mais, é preciso salientar que uma alergia alimentar (AA) implica reações a alimentos nas quais mecanismos imunológicos podem ser demonstrados e que incluem as reações IgE-Mediadas (Johanson, 2004; Sicherer, 2006). Para além disso, as alergias alimentares são caracterizadas por poderem envolver um amplo espectro de manifestações e doenças, podendo mesmo constituir diferentes fenótipos. A sua diversidade é bem conhecida pelas vias imunológicas (IgE-Mediadas e não IgE-Mediadas) e pela história natural. Muitos fatores e características do doente estão envolvidos, incluindo o tipo de alimento, o modo de exposição, as comorbilidades alérgicas, o sexo, as origens raciais e étnicas, cofatores e condições de saúde (Deschildre, 2017). Também diferentes componentes de alérgenos alimentares e perfis de sensibilização podem estar envolvidos nos possíveis fenótipos de AA. Assim, a identificação de fenótipos e de biomarcadores diagnósticos para AA estão em desenvolvimento e podem ajudar a entender melhor a complexidade fisiopatológica, melhorar o diagnóstico e levar a estratégias de tratamento personalizadas (Deschildre, 2017).

Tal como referido anteriormente, as manifestações clínicas de AA podem ser muito distintas. A apresentação clínica mais comum é benigna, mais frequentemente com manifestações mucocutâneas, digestivas, respiratórias ou cardiovasculares, de gravidade ligeira a moderada, de aparecimento imediato após a ingestão ou contacto com o alimento. Menos frequentemente, podem ocorrer reações graves como o angioedema (de diferentes localizações, sendo a de localização faríngea a que precisa de um tratamento mais rápido e agressivo, devido à sua especial localização) ou a anafilaxia, que colocam em risco a vida da criança ou adolescente (Colver, 2005; Boyce, 2010; Santos, 2012; Niggemann, 2012).

A urticária aguda e o angioedema são as manifestações cutâneas mais frequentes. Embora situações de urticária aguda ocorram com alguma frequência, as situações de urticária crónica induzida por AA surgem raramente (Sampson, 2004). Outras situações, como a urticária de contacto, também podem ocorrer, nomeadamente com ovo, carne, vegetais e frutos (Sampson, 2004). Finalmente, a dermatite de contacto pode surgir em pessoas que manuseiam alimentos crus como carne, peixe, marisco ou ovos (Sampson, 2004).

A SAO é uma manifestação de reação a alimento que é IgE-Mediada e na qual a sensibilização primária parece ter ocorrido por via respiratória, por inalação de pólenes com reatividade cruzada com alérgenos alimentares (Lee, 2006). É a manifestação clínica mais frequente na alergia a frutos frescos (Lee, 2006). Os indivíduos sensibilizados desenvolvem sintomas imediatos localizados à orofaringe, quando ingerem frutos ou vegetais com proteínas homólogas às dos pólenes com as quais há reatividade cruzada. Curiosamente, os sintomas após ingestão não ocorrem quando o alimento é cozinhado, por destruição das proteínas envolvidas (Lee, 2006). De facto, as proteínas implicadas na reatividade cruzada são habitualmente termolábeis,

sofrendo rápida degradação no trato GI e por cozedura. Os sintomas de SAO são classicamente limitados à orofaringe, afetando os lábios, língua e mucosa oral, podendo também condicionar prurido e/ou angioedema da orofaringe. Por outro lado, as reações sistémicas no âmbito de SAO são raras (Songhui, 2003).

As AA também podem envolver sintomas gastrointestinais como náuseas, vômitos, cólicas abdominais, que podem ocorrer de forma isolada ou em simultâneo com outros sintomas sistémicos.

Os sintomas respiratórios como manifestação de AA são habitualmente agudos, envolvendo nomeadamente situações de broncospasmo e/ou de rinoconjuntivite aguda. Contudo, raramente ocorrem isolados, sendo mais frequente que surjam no contexto adicional de sintomas cutâneos ou gastrointestinais (Lee, 2006). Vapores ou aerossóis contendo proteínas emitidas pela cozedura de alimentos podem provocar crises de asma ou mesmo anafilaxia, em indivíduos sensibilizados (Roberts, 2003; Sampson, 2004; Caffarelli, 2016).

Para além dos sintomas cutâneos, respiratórios ou digestivos podem ocorrer sintomas cardiovasculares como hipotensão, colapso ou disritmias, sendo os alimentos mais frequentemente responsáveis por reações graves e fatais o amendoim e os frutos secos (Sampson, 2004; Moore, 2017).

As reações anafiláticas podem ocorrer teoricamente com qualquer alimento, mas estão mais frequentemente associadas ao amendoim e ao peixe (Keet, 2007). Nos países industrializados, a AA é a principal causa de recurso ao serviço de urgência por anafilaxia, quer em adultos quer em crianças (Sampson, 2004; Motosue, 2018). Em alguns casos, a anafilaxia ocorre apenas quando se realiza exercício físico após a ingestão do alimento ao qual se é alérgico (anafilaxia induzida pelo exercício e dependente de alimentos, mais descrita para adolescentes e adultos), mas outros fatores têm sido descritos como desencadeantes de reações graves, como a ingestão de álcool ou a presença de situações clínicas associadas (Feldweg, 2007; Ebisawa, 2017).

Em termos gerais, a gravidade dos sintomas das AA também depende do tipo de alimento, das comorbilidades alérgicas, da via de sensibilização, entre outros (Deschildre, 2017). Nomeadamente nas AFs, os sintomas são habitualmente benignos quando AA está associada a polinose, enquanto na sensibilização por ingestão ou através da pele a reação tende a ser mais grave e mais associada a reações anafiláticas (Rougé, 2009; Brough, 2018).

1.7. Diagnóstico

O diagnóstico de AA deve ser baseado numa história clínica sugestiva, bem como em estudos adicionais como os testes cutâneos por picada (TCP) e/ou por dupla picada (TCDP), o doseamento dos níveis séricos de IgE específicas, dietas de evicção e prova de provocação oral. A eliminação de um ou mais alimentos da dieta podem ser úteis no diagnóstico de AA especialmente para identificar o alimento responsável por reações alérgicas não IgE-Mediadas ou reações mistas IgE-Mediadas e não IgE-Mediadas (Boyce, 2010; Muraro, 2014a; Sicherer, 2018).

1.7.1. História Clínica

A suspeita clínica deve basear-se numa história clínica (HC) completa, de modo a caracterizar o alimento suspeito, as características clínicas e a gravidade da reação. São considerados dados essenciais da história clínica a identificação do alimento suspeito, a quantidade necessária para provocar uma reação, o tempo decorrido entre a ingestão e a reação, a descrição detalhada dos sintomas, a reprodutibilidade dos sintomas aquando de nova ingestão, os fatores que influenciam a reação como o exercício físico ou a confeção dos alimentos, ou o tempo decorrido desde a última reação (Falcão, 2003; Lee, 2006; Muraro, 2014a; Gomes-Belo, 2018; Sicherer, 2018). Por vezes, o registo da dieta diária pode ser útil para identificar o alimento implicado. Também o exame físico completo deve ser efetuado, nomeadamente com ênfase na pesquisa de manifestações de dermatite atópica (Falcão, 2003; Boyce, 2010). Vários estudos recentes têm procurado efetuar uma caracterização o mais adequada possível dos detalhes da história clínica, relacionando aspetos nutricionais com aspetos de manifestações clínicas, procurando obter algoritmos de diagnóstico uniformizados (Skypala, 2015).

Assim, a história clínica pode identificar uma situação de alergia alimentar e sugerir se a patofisiologia é IgE-Mediada ou não IgE-Mediada, o que é importante para decidir os testes diagnósticos a efetuar e ajudar a identificar potenciais fatores desencadeantes. Mais ainda, os detalhes da história clínica podem indiciar diagnósticos diferenciais para os sintomas, para além de AA (Sicherer, 2017). Uma HC permite assim uma abordagem diagnóstica e clínica adequada, evitando exames complementares desnecessários, evitando também dietas demasiado restritivas com implicações sérias no equilíbrio nutricional e emocional da criança e prevenindo em simultâneo o contacto com alimentos que possam provocar reações graves que, em última análise, podem por em risco a vida da criança (Niggemann, 2012).

De forma igualmente importante, uma HC clara de reação alérgica, em associação com a resolução dos sintomas através da evicção dos alimentos suspeitos, é uma boa base de confirmação de suspeita diagnóstica de AA, podendo mesmo evitar a necessidade de se efetuar

uma PPO (Boyce, 2010; Muraro, 2014a). Mais ainda, a HC é também um bom método de orientação quando estudos de provocação duplamente cegos não são possíveis ou desejáveis. Finalmente, a HC também pode ser usada como ferramenta operacional para estudos de prevalência, desde que os itens/perguntas da história clínica estejam devidamente uniformizados e estandardizados em questionário validado (Shu, 2014; Skypala, 2015).

1.7.2. Estudos *in vivo*

Os testes cutâneos por picada (TCP) são considerados um meio complementar de diagnóstico fundamental no estudo de sensibilização a alimentos mediada por IgE (Eigenmann, 1998; Boyce, 2010; Muraro, 2014a; Sicherer, 2018). Devem ser efetuados apenas para os alimentos que provocaram a reação adversa, dado que é muito frequente haver sensibilizações a alimentos sem associação com manifestações clínicas (Niggemann, 2005). Deste modo, pode ser evitado o sobre diagnóstico e as dietas de evicção desnecessárias, em crianças que nunca tiveram reação clínica ou mesmo em crianças que nunca ingeriram o alimento. É também preciso ter em atenção que embora os TCP sejam testes globalmente seguros, existem algumas contraindicações à sua realização, bem como alguns riscos associados (Niggemann, 2005; Muraro, 2014a).

Em termos de estandardização, são considerados testes positivos aqueles em que surgem pápulas nos locais testados com os alérgenos, com um diâmetro de, pelo menos, 3mm (Sampson, 2004; Chokshi, 2015). Um TCP positivo pode ter um valor preditivo para uma PPO positiva que pode chegar aos 95%-100% e um teste negativo um valor preditivo negativo >95%, dependendo do tipo de alérgeno testado e do valor de *cut-off* usado, em termos de tamanho da pápula (Gomes-Belo, 2018). Assim um TCP negativo praticamente exclui um mecanismo imunológico IgE-mediado enquanto que um TCP positivo implica uma investigação adicional que confirme a relação causal entre a ingestão e a reação (Falcão, 2003; Sampson, 2004; Lee, 2006). Já uma história de reação anafilática após ingestão de um alimento específico, associada a TCP positivos para esse alimento, podem ser suficientes para confirmar o diagnóstico, sem que haja necessidade de se efetuar uma PPO (Boyce, 2010; Muraro, 2014a).

É preciso ter em conta que os resultados dos TCP podem ser influenciados por medicações concomitantes (nomeadamente anti-histamínicos), bem como pelos extratos comerciais usados, e nem sempre são conclusivos. Vários estudos têm sido desenvolvidos no sentido de identificar valores de diâmetro dos TCP preditivos de alergia alimentar para alguns alimentos e faixas etárias específicas (Rancé, 1999; Sporik, 2000; Boyano-Martinez, 2002; Niggemann, 2005).

Os TCP são efetuados com alérgenos comerciais e também podem ter limitações uma vez que não há extratos para todos os alimentos, embora, hoje em dia, o leque de extratos já seja

bastante alargado. Por outro lado, a exemplo do que se passa com extratos para aeroalergénios, é também possível que haja variabilidade significativa no teor de alergénios alimentares presentes nos diferentes extratos comerciais, podendo mesmo um ou mais extratos ter concentrações demasiado baixas de certos alergénios alimentares (Ruethers, 2019), conduzindo a possíveis situações de falsos negativos.

Na ausência de alergénio comercial ou em suspeita de alergias específicas a frutos e vegetais (na maior parte dos casos por labilidade elevada dos alergénios) pode ser usado o alimento em natureza para testar a sensibilidade de um doente. Estes testes por dupla picada (testes “prick-prick”) (TCDP) nos quais se picam os alimentos e depois, se pica a pele, parecem ser mais específicos do que os TCP com extratos comerciais, para muitos alergénios alimentares, nomeadamente para frutos frescos, para além de serem reprodutíveis (Kim, 2002). Contudo, também acarretam alguns riscos adicionais (Ortolani, 1989; Sampson, 2004; Asero, 2009; Asero, 2015).

1.7.3. Estudos *in vitro*

A sensibilização a alimentos pode ser também confirmada *in vitro*, através da determinação de níveis de IgE's específicas no sangue periférico (Boyce, 2010; Muraro, 2014a; Chokshi, 2015; Sicherer, 2018). A concentração sérica das IgE's humanas varia consoante a idade, rondando aproximadamente 0,0005% do total de imunoglobulinas séricas do adulto. Curiosamente, apesar dos níveis totais de IgE's humanas serem baixos, os níveis das IgE específicas para os alimentos aos quais se está sensibilizado, podem ser elevados, denotando desvios claros na produção de IgE's específicas no âmbito de reações alérgicas, tal como acontece com outras doenças alérgicas.

A confirmação de sensibilização a alergénios alimentares através da determinação dos valores de IgE's específicas é muito útil. Os métodos de determinação da IgE específica não apresentam riscos para o doente; os resultados não são influenciados por fármacos, e podem ser efetuados mesmo quando há contra-indicações para TCP. São, no entanto, mais dispendiosos e os seus resultados devem ser interpretados em conjunto com os dados da clínica, uma vez que há uma proporção significativa de casos de sensibilização a alergénios alimentares sem tradução clínica, dada possibilidade de identificação de alergénios estruturalmente semelhantes (Carrapatoso, 2009; Chokshi, 2015). Por outro lado, as IgE's específicas têm uma menor sensibilidade do que os TCP, mas uma maior especificidade (Ramalho, 2001), embora isto possa variar de acordo com o alergénio testado.

Também para as IgE específicas têm sido efetuados trabalhos no sentido de se determinarem limiares de decisão tanto no diagnóstico como no seguimento clínico (Taylor, 2004;

Carrapatoso, 2009). Assim, foram estabelecidos níveis diagnósticos para alguns alimentos (leite, ovo, amendoim, etc.) que permitem efetuar o diagnóstico de AA com elevada probabilidade (95-100%) (Belo-Gomes, 2018). Contudo, apesar desta correlação estabelecida para diagnóstico, não parece haver correlação entre os valores de IgE específica e a gravidade da reação clínica ao alimento envolvido. Por outro lado, também valores baixos ou mesmo indetectáveis de IgE não permitem concluir pela inexistência ou perda de reatividade clínica (Lee, 2006).

Quando existe uma suspeita de envolvimento de proteínas responsáveis por mecanismos de reatividade cruzada, que não dependem necessariamente de agrupamento em famílias taxonómicas, esses alimentos adicionais devem ser testados de acordo com a reatividade cruzada conhecida. Assim, num doente com alergia ao látex, deve ser testada a sensibilidade a frutos e vegetais com os quais a reatividade cruzada tenha sido descrita, como o kiwi ou a banana (Carrapatoso, 2009), tendo em conta que frequentemente a manifestação do síndrome látex-frutos é a anafilaxia. No entanto, o doseamento de IgE específica não permite discriminar entre uma sensibilização a um alimento e uma reatividade cruzada a um alérgeno. Em termos formais, só é possível demonstrar a reatividade cruzada *in vitro* através de técnicas de inibição de captação de IgE (Carrapatoso, 2009). Adicionalmente, técnicas mais recentes, envolvendo Ag recombinantes permitem identificar os alérgenos responsáveis e complementar os extratos naturais nos testes de diagnóstico de IgE específicas, numa abordagem de “Component-Resolved Diagnosis” (CRD), envolvendo abordagens moleculares (Matricardi, 2016; Borres, 2016; Gupta, 2018). De facto, este tipo de abordagem tem permitido uma maior precisão diagnóstica de alergias alimentares IgE-Mediadas, para além de permitir clarificar aspetos ligados à deteção de alérgenos moleculares com maior significado prognóstico (como a Pru p 3 e o risco de alergia alimentar mais grave) (Muraro, 2017), bem como a clarificação mais detalhada de aspetos ligados à discriminação entre reações cruzadas e cossensibilizações (Borres, 2016; Muraro, 2017; Alessandri, 2017). Assim, o estudo de alérgenos moleculares é um grande passo em frente, mas os resultados têm sempre de ser interpretados com os mesmos cuidados como no caso da determinação de sensibilização a alérgenos não moleculares (Matricardi, 2016; Muraro, 2017).

O teste de libertação de histamina pelos basófilos (“Basophil Activation Test” - BAT) é usado para medir a quantidade de histamina libertada por basófilos no sangue periférico após uma reação a um alérgeno. Este é um teste *in vitro* que, com mais precisão reflete anticorpos IgE específicos. Também é útil como exame complementar para o diagnóstico em doentes com maior risco de sintomas graves com PPO (Sato, 2011). O BAT permite efetuar uma estimativa quantitativa da ativação basofílica, IgE dependente, através de alteração da expressão membranar dos marcadores de ativação CD63 e CD203c, por citometria de fluxo (Sato, 2010). Na realidade, há vários parâmetros do BAT que podem refletir a gravidade e o limiar de desencadeamento de reações alérgicas a alimentos, como já foi demonstrado no caso de crianças com alergia ao amendoim (Santos, 2015). O BAT é um tipo de teste que tem sido

bastante estudado por alguns grupos, nomeadamente no contexto da alergia ao amendoim, com resultados bastante úteis, nomeadamente em termos da discriminação entre alergia clínica, sensibilização não clínica e tolerância, em crianças sensibilizadas ao amendoim (Santos, 2014). Mais ainda, o BAT permite evitar a necessidade de se efetuar PPODC, com base em valores-limiar de positividade, conforme demonstrado também para o amendoim, particularmente em casos de discrepância entre valores de IgE específica e clínica (Santos, 2012). Contudo, o BAT é um teste complexo, que necessita ser efetuado pouco tempo depois de se ter colhido o sangue e ainda não é possível efetuar, com fiabilidade, fora de alguns centros de referência.

Mais recentemente, tem sido avaliada a possibilidade de usar o “Mast Cell Activation Test” (MAT), que se baseia no princípio do BAT, mas que envolve o estudo de mastócitos, em vez de basófilos (Santos, 2018). Tem a vantagem de haver maior estabilidade dos mastócitos do que dos basófilos podendo, assim, eventualmente ser mais fácil obter bons níveis de reprodutibilidade. Um estudo com crianças inglesas, alérgicas ao amendoim, mostrou que a especificidade do MAT era semelhante à do BAT, embora a sensibilidade fosse inferior (Santos, 2018). O lugar do MAT no diagnóstico das AA ainda está a ser determinado, mas poderá ser válido usá-lo quando não foi possível efetuar o BAT, nomeadamente quando um doente tem basófilos aparentemente “não respondedores” (Santos, 2018).

Finalmente, a determinação dos níveis séricos de anticorpos IgG4 específicos para alimentos não é útil para o diagnóstico de alergias alimentares, e não deve ser usado para tal fim, dado que pode ser detetado em doentes assintomáticos e em pessoas saudáveis, embora possa ser útil para avaliar a eficácia da imunoterapia específica (Bock, 2010; Ebisawa, 2017).

1.7.4. Prova de Provocação oral

A utilização de testes para identificação de alérgenos alimentares é útil para o esclarecimento diagnóstico, mas estes são onerosos para os serviços de saúde, e nem sempre excluem a necessidade de realizar prova de provocação oral. Por outro lado, TCP com grandes pápulas e níveis de IgE específica elevados correlacionam-se com elevado risco de alergia alimentar, mas a sua sensibilidade e especificidade não são adequados para confirmar o diagnóstico. Assim, o *Gold standard* no diagnóstico das AA é a prova de provocação oral duplamente cega e controlada por placebo (PPODC), sendo o único teste com capacidade de efetuar um diagnóstico definitivo (Falcão, 2003; Lee, 2006; Cocco, 2007; Carrapatoso, 2009; Boyce, 2010; Nissen, 2013; Muraro, 2014a). No entanto, a limitação da sua aplicabilidade à prática clínica, faz com que haja a necessidade da existência de outros métodos que determinem a necessidade de realização deste teste (Brand, 2006). Assim, uma prova de provocação cega simples ou aberta pode ser considerada diagnóstica se a provocação foi negativa (excluindo a suspeita de AA) ou quando a provocação é positiva com sintomas que corroboram a história clínica e os testes laboratoriais suportam a suspeita (Nowak-Wegrzyn, 2009). De acordo com várias *guidelines* internacionais (EAACI e AAAAI), a realização de PPO pode considerar-se

dispensável nos casos de história clínica muito consistente, episódios reprodutíveis, TCP e/ou IgE específica positiva e resolução das queixas com evicção (Bock, 2010; Muraro, 2014a).

Habitualmente, a decisão de efetuar uma PPODC baseia-se numa história clínica positiva, associada a testes alergológicos positivos (pápula dos TCP ≥ 3 mm e/ou IgE específica ≥ 0.35 kU/L) em crianças que não estejam a ingerir regularmente esse alimento, que tenham sinais e sintomas de reação imediata após ingestão, reações subjetivas ou pouco claras após reexposição ou melhoria clínica franca com evicção (Beck, 2017; Grabenhenrich, 2018).

Um aspeto importante diz respeito à possibilidade de, com base em TCP e em valores de IgE's específicas e novos métodos de diagnóstico se poder prever a positividade de uma PPODC, podendo mesmo, em casos específicos ser dispensável (Eigenmann, 2018). Assim, vários trabalhos anteriores utilizaram a mensuração do diâmetro da pápula e dos níveis de IgE específica, de forma a estabelecer os valores limiares mínimos ("*threshold levels*"), a partir dos quais 100% e 90% dos doentes apresentariam positividade na PPO, respetivamente. Estes valores foram estabelecidos para diversos alimentos, em crianças e adultos (Roberts, 2005, Brand 2006; Heinzerling, 2013). Contudo, para a população portuguesa, ainda não existem parâmetros estabelecidos de valores séricos de IgEs específicas que ajudem no diagnóstico e/ou decisão para a realização da PPO (Vieira, 2014). É também de realçar que, tal como referido anteriormente, alguns estudos recentes têm usado a técnica de BAT para calcular valores limiares preditivos de reações potencialmente positivas em PPODC, o que foi conseguido com sucesso para o amendoim, em crianças inglesas, permitindo assim, evitar a provocação oral, dado o elevado valor preditivo positivo da técnica BAT neste contexto (Santos, 2012). Poder-se-á também esperar que estudos futuros com a técnica MAT também possam, eventualmente, permitir obter os mesmos resultados. Contudo, será necessário efetuar mais estudos deste tipo com BAT (e com MAT), para outros tipos de alimentos para além do amendoim e em outras populações, uma vez que aspetos genéticos também deverão afetar a sensibilidade e especificidade destes testes, ao afetarem a expressão em diferentes populações.

Apesar de haver regras bem definidas para as PPODC, conforme definido pela EAACI (Muraro, 2014a) e pela iniciativa PRACTALL (Sampson, 2012), os resultados obtidos podem diferir com o avaliador, traduzindo algum grau de subjetividade na interpretação dos resultados. Mesmo no Estudo EuroPrevall, efetuado em nove centros europeus, com treino e protocolos de uniformização estabelecidos, a concordância entre os sinais objetivos documentados e o resultado da PPODC foi heterogénea (Grabenhenrich, 2018). De acordo com a avaliação dos diferentes centros do EuroPrevall, a frequência de provas positivas com alimento variou nos diferentes centros, e mesmo as provas positivas com placebo não foram desprezíveis, envolvendo, na maioria dos casos, sintomas gastrointestinais e exacerbação de eczema (Grabenhenrich, 2018). Estas diferenças sugerem a necessidade de documentar bem os

sintomas de reação ao alimento e uma objetivação clara dos sintomas da PPO, bem como o treino e supervisão da equipa de avaliação das PPO (Grabhenrich, 2018).

1.8. Estudos epidemiológicos em crianças

Apesar do conhecimento sobre AA ter aumentado na década passada, estudos acerca da epidemiologia são ainda relativamente limitados, particularmente em certas faixas etárias. Contudo, várias revisões sistemáticas e meta-análises têm reportado valores significativos de AA quer dentro quer fora da Europa, e há dados que sugerem que a prevalência das AA tem vindo a aumentar em todo o mundo ocidental (Rona, 2007; Lack, 2008; Nwaru, 2014a, Nwaru, 2014b).

Um aspeto a ter em conta é a metodologia usada para se determinar a prevalência de AA. De facto, a prevalência mundial de alergia alimentar autorreportada (AA “possível”), isto é, baseada apenas em questionários aplicados, varia entre 3 e 35% dependendo do grupo etário envolvido, da área geográfica estudada, da metodologia usada (questionário telefónico, questionário preenchido pelo próprio, questionário presencial, etc.), entre outros fatores (Nowak-Wegrzyn, 2003; Rona, 2007). Obviamente que a prevalência da AA “provável” (baseada em HC e testes *in vivo* ou *in vitro* positivos), bem como a da AA “confirmada” (baseada em HC, testes *in vivo* e *in vitro* e PPO positivos) é significativamente mais baixa do que a prevalência autorreportada pela população em geral (Lee, 2006). Um outro aspeto que parece claro é o de que a prevalência da AA varia com a idade dos indivíduos estudados. Assim, é mais elevada nos primeiros anos de vida, diminuindo depois ao longo da 1ª década de vida e voltando a aumentar na adolescência, sendo de 6-8% nas crianças e cerca de 1-3% nos adultos (Bento, 2001; Wood, 2003; Nowak-Wegrzyn, 2003; Sicherer, 2004; Sampson, 2004; Falcão, 2004; Lee, 2006; Mills, 2007; Keil, 2007; Nissen, 2013; Park, 2014; Venkataraman, 2018).

De acordo com uma revisão sistemática de Nwaru, efetuada em 2014, a prevalência global de AA na Europa é de cerca de 6%, sendo maior nas crianças do que nos adultos e mais elevada no Norte do que no Sul da Europa (Nwaru, 2014b). No entanto, desta revisão sistemática, ficou claro que os estudos existentes usam metodologias diferentes, nomeadamente só questionário, ou combinações de questionários com TCA e/ou IgE específicas, ou as opções anteriores e PPO. Uma outra revisão sistemática recente, com meta-análise, com protocolo já publicado (Laia-Dias, 2019), focada no estudo da prevalência de AA em idosos, obteve resultados semelhantes, com grande heterogeneidade entre estudos (Laia-Dias, em publicação).

Nos estudos epidemiológicos na população em geral, há prevalências variáveis para os diversos tipos de alimentos. Assim, os alimentos mais frequentemente implicados na AA são o ovo, o leite, o amendoim, o peixe, a soja e o trigo. Marisco, nozes, soja e chocolate são outros

alimentos, também, frequentemente implicados. A alergia ao leite e ao ovo é mais frequente nas crianças enquanto que, a alergia ao amendoim, frutos secos, peixe e marisco é mais frequente nos adultos (Burks, 2006; Nwaru, 2014b; Ebisawa, 2017).

Em relação à prevalência de alergias aos diferentes grupos de alimentos, segundo Lee e colaboradores a alergia ao leite de vaca é de cerca 2,5% nas crianças (Lee, 2006). Na Europa estima-se que 6% das crianças sejam alérgicas ao leite, 2,5% ao ovo e 3,6% ao trigo. (Nwaru, 2014b).

A prevalência de alergia ao peixe varia entre 0-7% e a prevalência de alergia a marisco entre 0 e 10,3% dependendo do método de diagnóstico usado. Estudos em crianças estimam uma prevalência de alergia ao peixe de 0,2% (Sicherer, 2003). Poucos estudos existem com PPODC controlada com placebo, mas quando este método foi usado a prevalência de alergia ao peixe variou entre 0-0,3% e a prevalência de alergia a marisco entre 0 e 0,9% (Nwaru, 2014^a; Moonesinghe, 2016).

A prevalência global de alergia a frutos secos ronda 1,3% e ao amendoim estima-se em 0,4% (Nwaru, 2014b). Na revisão sistemática de Zuidmeer e colaboradores, que incluiu 36 estudos de prevalência, a maioria na Europa, 20 dos quais em crianças e adolescentes, a prevalência de sensibilização a qualquer alimento vegetal por TCP foi <1% enquanto a sensibilização por determinação de IgE ao trigo foi de 3,6% e a soja de 2,9%. A prevalência de AA a frutos e vegetais baseada na perceção foi significativamente superior à determinada por testes de sensibilização. Quando foram efetuadas PPO, a prevalência de AA a frutos frescos foi de 0,1%, frutos secos 4,3%, entre 0,1 e 1,4% para vegetais e <1% para trigo, soja e sésamo (Zuidmeer, 2008).

A prevalência de alergia autorreportada a frutos frescos em crianças varia entre 0,04 a 0,9%, embora em algumas séries possa chegar a 4,3% (Zuidmeer, 2008; Lack, 2008). Os frutos pertencentes às famílias botânicas *Rosaceae* (frutos carnudos como o pêsego e a maçã), *Cucurbitaceae* (frutos como o melão e melancia) e alguns frutos exóticos, como a manga e o kiwi, são os mais frequentemente associados à alergia alimentar. No entanto, é possível desenvolver alergia a qualquer fruto (Rougé, 2009). No sul da Europa, e em Portugal, o pêsego tem sido o fruto mais implicado (González-Mancebo, 2011). O morango (também membro da família das rosáceas), muitas vezes responsabilizado por supostas reações alérgicas, está na realidade entre os menos frequentemente implicados, tal como a pera. As reações urticariformes frequentes na infância, atribuídas ao morango, podem estar associadas ao facto de este ser um fruto libertador de histamina, e não se tratar de reações alérgicas (van Bockel, 1992; Brugman, 1998; Solé, 2008). Por outro lado, a alergia aos citrinos é rara, embora possa haver reações alimentares de base não imunológica. De facto, os citrinos contêm altas concentrações de ácido clorogénico, responsável por muitos dos sintomas considerados alérgicos (Rougé, 2009). Especificamente, a laranja contém muitas substâncias aromáticas,

bem como a tiramina, que podem originar reações não imunológicas (Rougé, 2009). Existem também aminas vasoativas no ananás (nomeadamente serotonina), especialmente no sumo, que podem estar na base de sintomas que se podem confundir com alergia alimentar (Solé, 2008; Bedolla-Barajas, 2017)

É interessante notar que o padrão de sensibilização a alimentos varia com a área geográfica e parece estar relacionado com aspetos culturais e os hábitos alimentares, o que explica que apesar de o amendoim ser a principal causa de anafilaxia nos EUA, Reino Unido e países escandinavos, em França seja o ovo e o peixe, na Austrália sejam os mariscos, e outros alimentos sejam mais relevantes noutras regiões (Österballe, 2005; Venter, 2006; Orhan, 2009; Gupta, 2011; Lao-araya, 2012; Carlson, 2019; Lyons, 2019). Diferenças na distribuição da alergia alimentar também parecem ser atribuíveis a polimorfismos genéticos específicos, à natureza dos alergénios envolvidos e a exposição única a grandes quantidades de alergénios através do intestino (Cochrane, 2009). Na revisão sistemática sobre prevalência de AA na Europa efetuada por Nwaru (Nwaru, 2014b), a alergia ao ovo, ao leite, ao trigo, aos frutos secos, ao peixe e ao marisco foram mais prevalentes nos países do norte da Europa, enquanto que a alergia à soja e ao amendoim foram mais prevalentes nos países da Europa ocidental do que nos outros países europeus. A metodologia padronizada utilizada em toda a Europa no projeto EuroPrevall, com o estudo transversal multicêntrico em vários países europeus, também concluiu que a prevalência de AF mostra considerável variação geográfica (Lyons, 2019).

Os frutos frescos têm vindo a ter uma relevância crescente, em termos de indução de AA, especialmente em Portugal e no sul da Europa. Este facto parece estar associado ao padrão de consumo típico da dieta mediterrânica, como exemplo adicional de variabilidade regional, com base em padrões culturais (Joffe, 2001; Carrapatoso, 2006; Alvarado, 2006; Fernández -Rivas, 2008; Rougé, 2009).

Em Portugal, a prevalência da AA em crianças ainda não é bem conhecida. Existem alguns estudos de prevalência de alergia a alimentos em grupos selecionados de consultas de Imunoalergologia, quer em crianças (Morais-Almeida, 1999; Carrapatoso, 2006), quer em adultos (Bento, 2001; Falcão, 2004), mas não há conhecimento de estudos epidemiológicos efetuados na população pediátrica. Na realidade, em Portugal, no que diz respeito a estudos epidemiológicos na população em geral, apenas existe um estudo efetuado na região da Beira Interior, em adultos (Lozoya-Ibáñez, 2016).

1.9. Definição operacional de AA nos estudos

Para que um estudo epidemiológico seja efetuado de forma adequada, é necessário caracterizar qual foi a definição “operacional” de AA que usou. Contudo, definições de AA, outras como hipersensibilidade alimentar, RAA, têm sido usadas por vezes de modo pouco claro nos vários estudos. Para além disso as abordagens metodológicas subjacentes à definição operacional também têm variado - questionários, testes *in vivo*, testes *in vitro*, provas de provocação oral aberta ou PPODC. Estes aspetos dificultam a comparação dos resultados entre estudos, pois aquela só pode ser efetuada quando a definição operacional do problema-base a investigar é a mesma.

Os questionários são frequentemente usados em estudos epidemiológicos de AA. De facto, os questionários são uma excelente ferramenta para estudos epidemiológicos e permitem recolher dados sobre AA autorreportada ou AA percebida pelo próprio. Contudo, há grande variabilidade no uso deste tipo de ferramentas, sendo mais ou menos estruturados, tendo alguns sido previamente validados enquanto outros não o foram ou não incluem essa informação. Também alguns questionários são aplicados por entrevista telefónica, outros são preenchidos pelo próprio doente *online*, outros através de entrevista presencial pelo investigador. Diversos grupos têm procurado determinar o tipo de questionário ideal para a identificação e caracterização de alergias alimentares. Skypala *et al* (2015) desenvolveram um algoritmo completo de abordagem de crianças com suspeita de AA desde a história clínica alimentar e história de diversificação alimentar, sintomatologia associada a alimentos suspeitos, bem como algoritmos de decisão/guias orientadores de acordo com os sintomas apresentados para AA IgE-Mediada e não IgE-Mediada e diagnósticos diferenciais. Apresenta ainda uma base de trabalho de alergénios suspeitos por tipo de alimento implicado, e eventuais reações cruzadas (Skypala, 2015). Independentemente de todos estes aspetos, os questionários permitem determinar a prevalência de AA autorreportada ou AA “possível”.

Seguidamente, e de acordo com as orientações internacionais, os TCP e os doseamentos de IgE específicas devem ser efetuados para identificar AA IgE-Mediada ou hipersensibilidade alimentar (Boyce, 2010; Muraro, 2014a). Contudo, também neste contexto, tem havido variabilidade entre estudos, usando alguns os TCP, outros só IgE's específicas e outros ambos. A associação de questionário positivo a TCP e/ou IgE's específicas positivas para alimentos suspeitos permite determinar a prevalência de AA “provável”.

A PPO e, em particular, a PPODC (que é considerada a prova de ouro para confirmar AA IgE-Mediada e não IgE-Mediada), é fundamental para se chegar a um diagnóstico de AA “confirmada”, em estudos epidemiológicos.

Finalmente, cabe aqui realçar que, tal como referido anteriormente, diferentes metodologias de diagnóstico se associam a diferentes valores de prevalência. Para além disso, os estudos

epidemiológicos nem sempre incluem todos os alimentos, focando apenas a atenção em grupos restritos de alimentos, o que também dificulta algumas comparações entre estudos. Finalmente, existe também a necessidade de definir o tipo de prevalência de AA: prevalência cumulativa ou prevalência pontual (Nwaru, 2014a).

1.10. Questionários como ferramentas metodológicas

A suspeita clínica de AA baseia-se numa história clínica clara de sintomas específicos e reprodutíveis associados a alimentos, que resolvem com evicção alimentar específica. Estudos adicionais só devem ser efetuados quando existe uma suspeita clínica. Neste contexto, os questionários em contexto de anamnese da história clínica permitem identificar o alimento suspeito, caracterizar a sintomatologia clínica e sua gravidade e desde logo propor estudos suplementares ou mesmo evicção quando a reação é grave, evitando a exposição a riscos desnecessários (Niggemann, 2012; Skypala, 2015, Dubois, 2018). Existem questionários aplicados em consultas para avaliação de crianças com suspeita de AA, orientações da SPAIC e da EAACI no sentido de uniformizar a abordagem clínica e diagnóstica das crianças com suspeita de AA (Carrapatoso, 2009; Muraro, 2014a; Skypala, 2015).

Questionários mais ou menos estruturados de avaliação de alergia alimentar são usados frequentemente nos estudos epidemiológicos. Os estudos de prevalência de AA têm utilizado questionários, embora frequentemente sem evidência de validação prévia, sendo alguns aplicados por entrevista telefónica e outros por entrevista presencial (Zuberbier, 2004; Rancé, 2005; Alvarado, 2006; Venter, 2006; Hoyos-Bachiloglu, 2014).

A iniciativa EuroPrevall, da EAACI, tem levado a cabo estudos de âmbito europeu, que incluíram questionários uniformizados, com um questionário inicial seguido de questionário completo para os indivíduos que tenham reportado pelo menos um alimento como suspeito (Kummeling, 2009). Por outro lado, Caffarelli colaboradores usaram um questionário estandardizado após teste piloto prévio, para o estudo de crianças dos 5-14 anos (Caffarelli, 2011). Também um estudo realizado em crianças turcas dos 6-9 anos usou um questionário estandardizado. Segundo o seu autor, um questionário deste tipo deve ser simples, com questões curtas de modo a ser facilmente respondido pelos pais das crianças e a aumentar a compreensão e a participação dos indivíduos (Orhan, 2009). Finalmente, como um outro exemplo, no Brasil foi construído e validado, em termos de reprodutibilidade, um questionário para avaliação de crianças com suspeita de AA, e que foi aplicado aos pais de 125 crianças dos 2-4 anos de idade (Lyra, 2013).

A utilização de um questionário confiável, completo e de fácil preenchimento, é um ótimo instrumento para usar em estudos epidemiológicos e para identificar crianças em risco de alergia alimentar. Contudo, é necessário, ainda, otimizar os questionários existentes ou

desenvolver novos, que sejam simples, de fácil compreensão, mas que contenham todos os dados necessários para avaliar, com o máximo de rigor possível, aspetos de sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo, em termos de real alergia alimentar detetável por PPO.

1.11. Fatores de Risco de AA

Conhecer a prevalência da AA numa população é muito importante, mas de forma igualmente, crucial, é fundamental determinar os principais fatores de risco associados à presença desse tipo de alergia, de forma a que se possam estruturar ações ligadas à prevenção (Sicherer, 2017).

Em termos globais, vários fatores parecem estar implicados no aumento da prevalência de doenças alérgicas e AA. O aparecimento de AA parece resultar da conjugação de vários fatores genéticos e ambientais pré e pós-natais. Assim, vários estudos têm procurado avaliar a relação entre diversos fatores genéticos e ambientais e o desenvolvimento ou associação com AA. Estudos genéticos indicam que as alergias alimentares são poligénicas, com centenas de genes implicados, a maioria dos quais envolvidos na apresentação de antigénio e/ou desvio do sistema imunitário para uma resposta tipo Th2. No entanto, nenhum gene particular foi identificado como estando associado especificamente às alergias alimentares, embora exista uma forte associação, em geral, entre a suscetibilidade genética à alergia alimentar e a alergia mediada por IgE (Björkstén, 2005). A hereditariedade estimada varia de 15 a 30% para IgE específica de alimentos e cerca de 80% para alergia ao amendoim. No entanto, a exposição ambiental parece ter um papel importante no aumento da prevalência de alergia alimentar, conferindo a associação genética apenas um nível moderado de predisposição. Estudos mais conclusivos ainda são necessários no sentido de encontrar respostas mais definitivas (Shroba, 2018). A influência de fatores epigenéticos tem sido proposta como um dos mecanismos para mediar a influência de exposições ambientais e interações gene-ambiente no desenvolvimento posterior de AA. O papel da epigenética na regulação do sistema imunitário e os efeitos epigenéticos de algumas exposições ambientais associadas a AA mantêm-se em discussão (Hong, 2012).

Para além dos fatores hereditários, têm sido reportados como relevantes fatores variados nomeadamente o grau de maturidade imunitária, fatores microbianos (contacto precoce com agentes infecciosos do meio ambiente e intestinais, flora intestinal), fatores dietéticos (vit. D, Ác gordos, antioxidantes), a exposição a alérgenos (dieta materna, o tipo de alimentação desde o nascimento), o meio-ambiente, entre outros (Halcken, 2004; Sansenthaler 2007; Hong, 2012; Perkin, 2016; Love, 2016). Contudo, estes fatores nem sempre têm sido avaliados de forma sistemática e independente nos estudos efetuados. Por outro lado, os estudos incluindo a

análise de possíveis fatores de risco, têm focado diferentes populações etárias, o que também potencialmente contribui para a variabilidade de resultados. Apesar de haver estudos de avaliação de risco, muitos deles não são estudos de coorte, longitudinais (que são os únicos que permitem avaliar fatores de risco) e, assim, revelam apenas possíveis associações. Mas, mesmo estudos longitudinais têm revelado algumas discrepâncias. Desta forma, os fatores de risco bem como os fatores protetores continuam incertos.

A hipótese higiênica foi primeiramente relacionada à falta de infeções precoces na infância, aumentando a suscetibilidade subsequente à alergia. A diminuição das doenças infecciosas, em especial nos países desenvolvidos, decorrentes das melhores condições de higiene e da implementação de vacinas com elevada cobertura populacional podem condicionar um desequilíbrio Th1/Th2, com predomínio do último (Romagnani, 2000), o que pode contribuir para o desenvolvimento de alergias. Também o microbioma humano, composto por todos os organismos microbianos e seu conteúdo genético no corpo humano, tem sido estudado e parece desempenhar um papel importante na imunidade (Gensollen, 2016). Mas, ainda pouco se sabe como a microbiota do meio ambiente transfere para o corpo humano as suas influências. A hipótese da biodiversidade considera que o vasto contato com ambientes naturais enriquece o microbioma humano, promove o equilíbrio imunitário e protege contra alergias e distúrbios inflamatórios (Haahtela, 2019).

Fatores relacionados com o ambiente e a hipótese higiênica têm sido associados a um risco acrescido de desenvolvimento de AA. O parto por cesariana parece aumentar o risco de desenvolvimento de alergia alimentar, sugerindo que a colonização precoce do trato gastrointestinal com microflora pode ser importante para o estabelecimento da tolerância (Lack, 2008). A exposição ao fumo do tabaco no período perinatal, o baixo peso ao nascer, a presença de diabetes gestacional e a prematuridade também parecem estar associados a maior risco de desenvolvimento de AA (Carrapatoso, 2007; Kaza, 2007; Venter, 2009; Kumar, 2011; Peroni, 2013). Outros fatores como o tratamento com antibióticos durante a gravidez e amamentação, um tempo reduzido de sono, a exposição a poluição no primeiro ano de vida, ser rapaz, obeso ou de raça africana também são considerados fatores de risco enquanto a exposição a animais domésticos quer pré-natal quer pós-natal poderá reduzir o risco de alergia alimentar (Hong, 2012; Toro Monjaraz, 2015; Li, 2019). Por outro lado, ter irmãos mais velhos (que poderiam favorecer o contacto com microrganismos), não parece ser fator protetor (Kusunoki, 2012). Aspectos ligados às práticas obstétricas, ao uso de antibióticos, à estação do ano no nascimento, ou ao ambiente doméstico são fatores que ainda precisam de ser mais investigados como potenciais agentes influenciadores do risco de AA (Kaza, 2007; Santos, 2012; McBride, 2012; Love, 2016).

Os antecedentes pessoais e familiares de alergia são os fatores de risco mais consensuais, integrando-se a AA na conhecida “marcha alérgica”. A presença de asma, rinite, eczema

atópico e AA nos familiares é frequentemente associada a alergia alimentar (Rancé, 2005; Boyce, 2010; Shaker, 2014; Ebisawa, 2017). De facto, o risco parece ser significativamente maior se existe história familiar de atopia em especial na mãe, ou ainda maior se os dois pais forem atópicos (Chandra, 1993; Kumar, 2011; Pyrhönen, 2011). As AA podem coexistir com outras doenças alérgicas nomeadamente asma e dermatite atópica. De facto, antecedentes pessoais de asma brônquica, antecedentes de sintomas gastrointestinais, a severidade de episódios prévios, AA a amendoim ou ovo, são considerados fatores de risco para reação alimentar severa (Calvani, 2011). De forma importante, a presença de alergia ao ovo, de eczema grave ou ambos parecem ser critérios úteis para identificar bebés de alto risco de alergia ao amendoim, pelo menos em crianças inglesas (Du Toit, 2013). Desconhece-se como é que os defeitos de barreira da pele contribuem funcionalmente para o desenvolvimento de alergia alimentar, mas estudos demonstraram que mudanças na função de barreira potenciam o desenvolvimento de anafilaxia aos alérgenos alimentares (Walker, 2018). Pesquisas recentes demonstraram que a sensibilização pode ocorrer por meio da pele lesada (Noti, 2014; Shroba, 2018), estando as crianças com eczema grave em maior risco de sensibilização por via cutânea (Ebisawa, 2017). A exposição cutânea, a exposição oral e a exposição à proteína alimentar no pó doméstico, em relação ao curso da alergia alimentar, também são um foco de interesse na investigação, sendo que se sabe já que a sensibilização pode ocorrer por via cutânea em idades muito precoces (Brough, 2018). Não sendo possível intervir nas causas genéticas, não sendo desejável intervir nas boas condições sanitárias e vacinação pelos seus claros benefícios, vários estudos têm sido desenvolvidos e estão em curso para propor eventuais medidas protetoras, em especial nas áreas ambientais, hábitos alimentares na grávida, lactantes e lactentes, na proteção da barreira cutânea, nos níveis de vitamina D, etc. (Romagnasi, 2006; Comberiati, 2019; Koplin, 2019).

O aumento mundial da prevalência de alergias nas últimas décadas e o ressurgimento do défice de vitamina D em muitas populações, sugeriram uma associação entre as duas condições, sendo o *status* materno de carência dessa vitamina durante a gestação o fator determinante. No entanto, os estudos, até à data, foram inconclusivos e a suplementação das grávidas com vitamina D, como medida protetora, ainda não está justificada (Allen, 2016; Peters, 2017).

Elevados níveis de IgA intestinais aos 6 meses foram associados a menor risco de AA (Santos, 2012). Surgiram também estudos, embora ainda não conclusivos, sobre a suplementação com pré- e probióticos, suplementação com ácidos gordos polinsaturados (ómega 3 e ómega 6, com antioxidantes como vitamina C, E e betacarotenos, e a redução do risco de desenvolvimento de AA (Lee, 2006; Lorente, 2007; Grüber, 2009; Neerven, 2017).

A influência da exposição precoce a alimentos alergénicos no desenvolvimento subsequente de alergia alimentar permanece incerta. Claramente, a dieta nos primeiros anos de vida é, para

muitos investigadores, o fator de risco mais relevante para o desenvolvimento de AA (Kaza, 2007).

O aleitamento materno é considerado um fator protetor, mas também neste contexto os dados nem sempre são concordantes. Se, em alguns estudos, a duração de aleitamento materno é relacionada com a proteção para AA, noutros estudos tal não é demonstrado, parecendo ser a idade do desmame após os 4 meses o fator mais relevante (Venter, 2009).

Nas últimas décadas, a prevenção da alergia alimentar acompanhou várias estratégias de alimentação complementar, com uma modificação das diretrizes internacionais, desde a introdução tardia até o desmame precoce. É atualmente consensual, como medida protetora, a introdução de alimentos sólidos entre os 4-6 meses, mantendo o aleitamento materno durante o desmame (Fiochi, 2006, Muraro, 2014b). O atraso na introdução dos alimentos potencialmente alergénicos na dieta dos bebés, após o primeiro ano de vida, tem-se mostrado ineficaz como meio de prevenção de AA e já não são recomendados (Allen, 2016; Perkin, 2016; Ebisawa, 2017; Comberiati, 2019). Embora dados recentes sugiram considerar a introdução de sólidos alergénicos como estratégia potencial para enfrentar o aumento da prevalência de AA, para a maioria dos alimentos, não está ainda bem definida a janela ótima para a sua introdução em crianças com risco acrescido, e evidência para tal prática está atualmente disponível apenas para o amendoim, em bebés de alto risco entre 4 e 11 meses de vida, mas não para a maioria dos outros alimentos alergénicos (Shirer 2014; Comberiati, 2019).

Num estudo longitudinal populacional, efetuado em crianças inglesas (Lack, 2003), foi estudada a alergia ao amendoim e examinados os seus possíveis antecedentes. Este estudo permitiu concluir que uma história familiar de alergia ao amendoim, a ocorrência de erupções cutâneas exsudativas ou crostosas, a utilização tópica das preparações de óleos à base de amendoim, e a exposição a proteína de soja, podem ser fatores causais para o desenvolvimento da alergia ao amendoim. Ressalta, ainda, que a confirmação dessas associações permitiria novas intervenções para diminuir a taxa de alergia ao amendoim na população. O resultado dos estudos LEAP e LEAP-On, efetuados pelo mesmo grupo, em crianças inglesas, aumentaram ainda mais o conhecimento sobre a evolução longitudinal das respostas imunitárias aos alimentos introduzidos na dieta infantil (Turkanu, 2017). No estudo LEAP, 640 crianças de alto risco de sensibilização ao amendoim foram randomizadas para um de dois grupos: a) grupo com ingestão de amendoim (pelo menos 3 vezes/semana; cerca de 6 gramas) ou b) grupo sem ingestão de amendoim (evicção), que evitou a ingestão de amendoim até aos 60 meses de idade. No estudo posterior, estudo LEAP-On, todas as crianças deixaram de ingerir amendoim durante um ano, após o que foram reestudadas para avaliar se o efeito protetor da introdução e consumo precoces de amendoim se mantinham. Por seu lado, os estudos LEAP e EAT (este, envolvendo a introdução precoce (3-4 meses de idade) de vários alimentos em 606 crianças de risco de AA, entre os 3 e os 4 meses de idade submetidas apenas a aleitamento materno, em comparação

com número semelhante de crianças que apenas efetuaram a introdução de alimentos depois dos 6 meses de idade) demonstraram que a introdução precoce do amendoim é um fator claramente protetor em relação ao desenvolvimento de sensibilização e alergia a esse alimento (Du Toit, 2008; Santos, 2012; Du Toit, 2013; Perkin, 2016; Du Toit, 2018).

Assim, apesar de muitos fatores de risco serem apontados, para além do efeito aparentemente protetor do aleitamento materno exclusivo até aos 4-6 meses de vida, não estão definidas outras medidas específicas protetoras nomeadamente dietas específicas durante a gravidez e amamentação, nem mesmo evicção materna de alimentos alergénicos (Grimshaw, 2017).

De acordo com Caffarelli, a evidência mostra que a introdução de alimentos da diversificação alimentar, incluindo os potencialmente alergénicos, na dieta deve ocorrer após os quatro meses, ou melhor ainda, seguindo o conselho da Organização Mundial de Saúde, em torno dos seis meses de idade, independentemente do risco de alergia. Recomenda-se a introdução de amendoim antes dos 12 meses de idade entre lactentes afetados por eczema severo e/ou alergia a ovo, para diminuir a ocorrência de alergia ao amendoim em países com alto consumo deste alimento. A introdução do ovo cozido aos 6-8 meses de idade também pode reduzir a alergia ao ovo. Tanto bebés com alto risco de alergia, como crianças saudáveis, devem introduzir os alimentos de acordo com as preferências familiares e culturais (Caffarelli, 2018). Contudo, estudos como os atrás referidos (LEAP, LEAP-On e EAT), poderão indicar que, em crianças de risco, a introdução precoce de alimentos pode ser positiva e atuar como fator protetor contra o desenvolvimento de AA. Mais estudos, em diversas populações, são necessários.

Em síntese, a alergia alimentar em crianças é um problema de saúde pública, a sua abordagem de avaliação e diagnóstico não é uniforme, os estudos de prevalência na idade pediátrica são escassos, nomeadamente em Portugal, e usam metodologias diagnósticas diferentes dificultando o conhecimento da verdadeira situação. Com o objetivo de melhorar o conhecimento na área da alergia alimentar em crianças portuguesas propusemo-nos fazer este estudo com foco especial na elaboração de um questionário de base clínica e estudos de prevalência de base populacional. Estando sempre na nossa mente a melhoria da saúde e redução dos riscos para a saúde, entendemos ser importante a avaliação de riscos associados à alergia alimentar.

2. Objetivos gerais

2.1. Construção e validação de questionário de estudo de alergia alimentar em crianças portuguesas

Em Portugal não existem estudos de prevalência de alergia alimentar em crianças da população em geral e, os poucos que existem, foram efetuados no âmbito de consultas de alergologia. Por outro lado, os questionários aplicados como instrumentos de pesquisa nesses estudos não foram previamente validados (Morais de Almeida, 1999; Bento, 2001). Embora passíveis de adaptação transcultural, nem sempre os questionários estrangeiros são aplicáveis a outras populações, com diferenças sociais, étnicas e religiosas, podendo comprometer a qualidade dos dados obtidos. (Farias Junior, 2012)

Assim, o primeiro objetivo deste estudo foi desenvolver e validar um questionário confiável, completo e de fácil preenchimento, para utilizar em estudos epidemiológicos e, secundariamente, também para avaliar, diagnosticar e orientar crianças em risco de alergia alimentar.

2.2. Prevalência, caracterização clínica e alergológica de alergia alimentar

Em Portugal, a prevalência das AA em crianças da população em geral não é conhecida. Assim, o segundo objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência de RAA e AA, identificar os alimentos mais implicados e as características clínicas e laboratoriais da alergia alimentar em crianças da Beira Interior.

2.3. Prevalência e caracterização clínica de alergia a frutos frescos

Sendo os frutos frescos um grupo alimentar relevante na alimentação da população portuguesa, não sendo conhecido o peso da alergia a frutos na alergia alimentar em Portugal, nem aspetos ligados à relação entre sensibilizações a pólenes e a frutos, definiu-se como terceiro objetivo deste estudo determinar a prevalência de AA a frutos frescos numa região de elevada prevalência de sensibilizações polínicas, caracterizando os aspetos sociodemográficos, os

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

principais frutos implicados, seus padrões clínicos e a sensibilização e a reatividade cruzada a pólenes.

2.4. Fatores de risco para alergia alimentar

Considerando que ainda há bastantes dúvidas em relação a determinantes que possam funcionar como fatores de risco para AA em crianças, e levando em linha de conta que há aspetos genéticos, geográficos e culturais que conferem especificidade a resultados neste domínio, o quarto objetivo deste trabalho foi determinar, numa amostra de crianças portuguesas, a associação dos fatores de risco mais consensuais com a presença ou ausência de AA e RAA.

2.5. Reflexão

O último objetivo deste trabalho foi refletir sobre a implicação prática deste estudo, a nível individual, familiar e populacional, resultando na elaboração de medidas de educação para a saúde que se possam refletir em medidas de saúde pública e melhoria contínua dos cuidados de saúde e literacia da população em geral, dos profissionais e também das famílias de crianças alérgicas.

2.6. Importância do estudo

Tendo em conta a importância vital dos diferentes alimentos na nutrição em geral e na saúde infantil em particular, a inespecificidade clínica e gravidade das reações adversas à ingestão dos mesmos (potencialmente ameaçadoras da vida), aliado ao reduzido número de estudos efetuados em crianças (a nível nacional e regional) ou mesmo a sua inexistência (além das consultas de imunoalergologia, a nível nacional), torna-se premente a realização deste estudo, de forma a conhecer melhor a realidade das alergias alimentares em crianças, tendo como modelo a região da Cova da Beira, e proporcionar uma clarificação de abordagens preventiva e terapêutica mais dirigidas, que possam resultar em melhoria da qualidade de vida. Ao elaborar este trabalho, nomeadamente com a construção e validação do questionário, este estudo pretende também contribuir para investigações futuras na área da epidemiologia das AA não só em Portugal, mas também noutros locais do mundo.

2.7. Considerações éticas

O presente estudo foi aprovado pelas Comissões de Ética da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior e do CHUCB, E.P.E. O consentimento informado assinado pelos encarregados de educação foi obtido para ambas as etapas do estudo. O Inquérito aplicado nos estabelecimentos de ensino foi aprovado pela Direcção-Geral de Inovação e de Desenvolvimento Curricular (DGIDC). (Anexo 3)

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

3. Estudos efetuados

3.1. Construção e validação de questionário para avaliação de crianças com reação adversa e alergia a alimentos

3.1.1. Introdução

A alergia alimentar envolve reações a alimentos nos quais um mecanismo imunológico pode ser demonstrado e que inclui as reações mediadas por IgE (Sicherer, 2006; Johansson, 2008). No entanto, outros mecanismos podem estar implicados em reações adversas aos alimentos, nomeadamente mecanismos não-tóxicos, como a intolerância alimentar (Sicherer, 2011). As manifestações clínicas da alergia alimentar são diversas, mais frequentemente incluindo reações mucocutâneas, embora também possa ocorrer anafilaxia (Boyce, 2010; Santos, 2012; Niggemann, 2012), apresentando crianças e adolescentes um risco maior (Sampson, 2006; Umasunthar, 2015). Um diagnóstico definitivo de alergia alimentar requer confirmação por testes *in vivo* e *in vitro* (alergia alimentar “provável”), além de prova de provocação oral (padrão ouro; alergia alimentar “confirmada”), em situações específicas (Eigenmann, 2018). No entanto, a suspeita clínica pode basear-se numa história clínica clara de sintomas específicos, associados à alimentação, reprodutíveis, com resolução após a evicção do alimento suspeito (Boyce, 2010), em associação com limiares preditivos para níveis de IgE específica para alimentos (Eigenmann, 2018). A história clínica é útil para a identificação do alimento suspeito, características clínicas e sua gravidade, permitindo assim a adequada orientação clínica da situação, evitando dietas muito restritivas ou desnecessárias (Carrapatoso, 2009). Também pode permitir esclarecimentos sobre quais alimentos devem ser evitados para prevenir reações graves no contato com alimentos suspeitos (Niggemann, 2012). De acordo com as diretrizes internacionais (Boyce, 2010; Muraro, 2014a), os testes cutâneos por picada (TCP) e a determinação dos níveis de IgE específica para alimentos devem ser focados em alimentos específicos, guiados pela história clínica (Eigenmann, 2018).

A prevalência de alergia alimentar tem vindo a aumentar, pelo menos para certos alimentos (Nwaru, 2014a), é mais alta em crianças e depois diminui com a idade (Santos, 2012; Mills, 2007; Keil, 2007; Nissen, 2013). Quando a avaliação da prevalência de alergia alimentar é baseada no autorrelato (alergia alimentar “percebida/possível”), os valores mostram uma ampla variação (3-47%), dependendo de fatores como idade, área geográfica, definição operacional de “alergia alimentar”, “hipersensibilidade alimentar” ou “reação adversa aos alimentos” utilizada, e a metodologia de questionário aplicada (por telefone, autoadministrada, orientada por entrevistador, etc.) (Pereira, 2005; Rona, 2007; Muraro,

2014a; Shu, 2014; Hoyos-Bachiloglu, 2014). Neste contexto, um questionário padronizado, confiável, facilmente preenchido e disponível pode ser uma excelente ferramenta para estudos epidemiológicos com foco na deteção de crianças com suspeita de alergia alimentar. Embora seja possível traduzir questionários validados em outros idiomas, nem sempre é viável adaptar tais questionários para uso em populações culturalmente diferentes, o que pode comprometer a validade dos dados obtidos (Farias Junior, 2012). Além disso, a maioria dos estudos epidemiológicos fornecem pouca informação sobre questionários que foram utilizados (Pereira, 2005; Rona, 2007; Orhan, 2009; Nissen, 2013; Shu, 2014; Hoyos-Bachiloglu, 2014), mesmo aqueles que utilizaram o questionário EuroPrevall (Kummeling, 2009; Kavaliunas, 2012). Nesse contexto, um questionário previamente desenvolvido no Brasil foi submetido a estudos preliminares, por alguns membros da nossa equipa, em termos de reprodutibilidade, e mostrou elevado número de questões com bom índice *kappa* ($> 0,6$) (Lyra, 2013).

Em Portugal, alguns estudos realizados em crianças em consultas de alergologia utilizaram questionários não validados (Morais-Almeida, 1999; Bento, 2001). Assim, o objetivo do presente estudo foi construir e analisar a consistência interna e a reprodutibilidade do questionário para o estudo de reações adversas a alimentos e alergia alimentar em crianças portuguesas.

3.1.2. Objetivos específicos

Construção de questionário

Construir um questionário destinado a crianças com suspeita de alergia alimentar baseado nos conhecimentos científicos sobre a área, que inclua os aspetos considerados importantes para identificar o(s) alimento(s) suspeito(s), permita caracterizar a reação ocorrida de modo a identificar crianças em risco de reação grave, e que seja de fácil aplicação.

Validação do questionário

Validar o questionário construído para crianças Portuguesas nomeadamente a sua consistência temporal e verificar a sua validade e reprodutibilidade de modo a poder ser usado com método de abordagem clínica em crianças com reação adversa a alimento.

3.1.3. Materiais e métodos

Construção do questionário

Fizemos inicialmente uma pesquisa bibliográfica na PubMed (descritores: “food hypersensitivity”, “questionnaires” and “validation studies”; “food hypersensitivity” and “questionnaires”), no sentido de procurar questionários validados para aplicação em crianças com suspeita de alergia alimentar. Não encontramos questionários validados para a população portuguesa e os usados

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

em artigos de prevalência em população de outros países não tinham evidência de validação prévia (Zuberbier, 2004; Rancé, 2005; Alvarado, 2006; Venter, 2006).

Decidimos, então, construir um questionário de reações adversas a alimentos baseado em questionários não validados portugueses e estrangeiros, nomeadamente um questionário brasileiro (Kanny, 2001; Rancé, 2005; Van der Velde, 2010; Lyra, 2013).

Iniciámos a construção do questionário baseado nas principais manifestações clínicas das reações adversas a alimentos e alergia alimentar observadas na faixa etária da população do estudo. Seguimos as orientações das sociedades científicas nomeadamente da Sociedade Portuguesa de Alergia e Imunologia Clínica (SPAIC) e seu Grupo de Interesse de Alergia Alimentar (Carrapatoso, 2009), que emitiu orientações de questões pertinentes para a caracterização de alergia alimentar, bem como da European Academy for Allergy and Clinical Immunology (EAACI) (Muraro, 2014a). Segundo Sampson (Sampson, 2003 e 2005) são fundamentais vários aspetos: qual o alimento suspeito e qual a quantidade ingerida; o espaço de tempo decorrido entre a ingestão e o aparecimento dos sintomas; se a ingestão do alimento suspeito provocou sintomas semelhantes em outras ocasiões; a procura de outros fatores desencadeantes, como por exemplo, exercício físico, uso de medicações devem também ser considerados (Bock, 2003; Ebisawa, 2017).

Pré-Teste e validação de conteúdo

Foi desenvolvido um estudo exploratório, baseado na aplicação presencial do questionário desenvolvido. O teste piloto foi aplicado a 24 crianças (e seus pais) seguidas na consulta de alergologia com diagnóstico de alergia alimentar confirmada (14 rapazes e 10 raparigas com média de idades de 7,4 anos, DP \pm 3,4). Esta etapa teve como objetivo avaliar a aplicabilidade do questionário, a compreensão e adequação das perguntas à patologia em estudo e à população alvo e, assim, ter uma primeira avaliação da consistência das questões, numa perspetiva de validade aparente (*face validity*).

Foi registado o tempo gasto na resposta ao questionário bem como as dúvidas e questões colocadas pelos pais e crianças.

O questionário foi considerado pelas crianças e pais como completo, com perguntas simples e de fácil compreensão e com tempo adequado (duração de aplicação de teste de 7-12 min).

Com o feedback obtido com este estudo piloto foram feitas algumas alterações nomeadamente na sequência das questões. Também simplificámos algumas questões e definimos melhor alguns parâmetros, convertendo algumas das perguntas abertas em fechadas.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Para a validação de conteúdo (*content validity*) e uma vez completa a construção do questionário final, este foi enviado a um grupo de três imunoalergologistas com experiência em alergia alimentar, solicitando a análise da validade, pertinência do conteúdo científico do questionário e sugestões de melhoria. Os contributos obtidos foram usados para melhorar a versão final do questionário e para avaliar a lógica ou validade de forma e a validade de conteúdo.

Posteriormente, o questionário final foi também lido por um especialista em língua portuguesa de forma a não conter erros linguísticos.

Com base nos contributos dos especialistas em imunoalergologia, no especialista em língua portuguesa e nos pais das crianças questionadas, elaborou-se a versão final do questionário (Q2), (anexo 1).

A validade de conteúdo foi, assim, confirmada pelo grupo de pais e crianças questionadas, pelos peritos em alergia alimentar e pela revisão da bibliográfica.

Descrição do questionário

Para além das perguntas de caracterização demográfica (idade, sexo da criança, área de residência, escola frequentada, quem responde ao questionário), o questionário é composto por mais 18 perguntas:

As duas primeiras perguntas (A e B) permitem identificar o alimento ou bebida causadora de reação adversa: a pergunta A é fechada; a pergunta B é uma pergunta aberta que de início se espera envolver uma resposta espontânea, fornecendo-se em seguida uma lista de alimentos específicos para escolha, sendo permitidas mais que uma resposta.

Foi considerado como Q1, o questionário apenas com questões relativas aos dados sociodemográficos da criança e avaliação autorreportada de RAA após a ingestão de um alimento ou bebida, bem como a identificação do alimento suspeito.

O questionário só prossegue se tiver sido identificado pelo menos um alimento ou bebida causadora de reação adversa.

As perguntas de C a O visam caracterizar a reação e são respondidas para cada alimento identificado em separado. Destinam-se a avaliar as características clínicas da alergia nomeadamente a sintomatologia apresentada e sua gravidade, caracterizar a reação como imediata ou tardia, a sua reprodutibilidade, identificar eventuais fatores desencadeantes, a possibilidade de tolerância atual. Na pergunta P pretendem-se identificar novos alimentos até aí esquecidos. As perguntas Q e R referem-se a antecedentes pessoais e familiares de alergia.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Inicialmente estavam incluídas perguntas sobre contexto em que ocorreu a reação, nomeadamente se outras pessoas ingeriram o mesmo alimento e o local onde ocorreu a reação, mas foram retiradas no decorrer da aplicação do teste por não acrescentarem dados relevantes ao estudo (a grande maioria das reações ocorreu em casa e os outros elementos da família tinham ingerido o mesmo alimento).

Estudo inicial

Um inquérito com as questões demográficas e as duas perguntas iniciais A e B (Q1) (Anexo 2), foi enviado a todas as 4045 crianças com idades entre 3 e 11 anos, que frequentavam os Infantários e escolas públicas da Cova da Beira (concelhos de Belmonte, Covilhã e Fundão), tendo-se recebido 2474 questionários (taxa de resposta de 61,2%). Em 176 destes questionários, as crianças cujos pais afirmaram apresentarem alguma reação adversa a alimento ou bebida, foram convidadas a comparecer em consulta para aplicação do questionário completo pelo investigador (Q2) e se efetuarem estudos alergológicos. Tanto Q1 como Q2 foram respondidos pelos pais ou representantes legais.

Teste-Reteste

Das 159 crianças que compareceram no hospital e responderam ao questionário presencial (Q2), 115 mantiveram suspeita de reação adversa a alimento. Destas, foram selecionadas aleatoriamente 50 crianças a quem foi aplicado o mesmo questionário pelo mesmo investigador 1-12 semanas depois (média de 5, mediana de 3 semanas), de forma a avaliar a reprodutibilidade do questionário por teste-reteste. Para o cálculo dos resultados do teste/reteste foi selecionado o alimento com a reação mais grave, no caso de a criança reportar reação a mais do que um alimento (Figura 1).

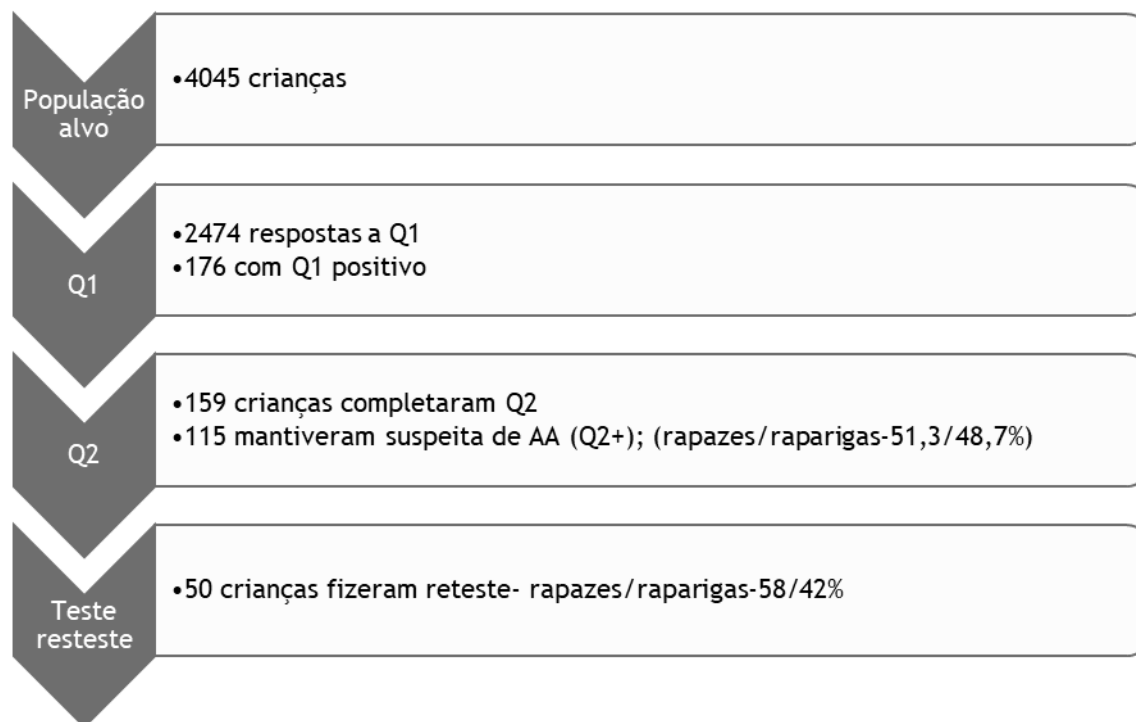


Figura 1- Desenho do estudo de teste-reteste

Análise estatística

Para analisar a estabilidade temporal do questionário foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman Rho (com nível de significância $p < 0,01$), sendo considerados valores $> 0,70$ em valor absoluto, uma correlação forte (Figueiredo Filho, 2009).

A análise de concordância e reprodutibilidade do questionário foi feita através da aplicação do Teste Kappa de Cohen para cada questão. Os valores de Kappa de Cohen (valor de Kappa, taxa de concordância e respetivos intervalos de confiança (95%)) foram interpretados e considerados de acordo com a seguinte interpretação do grau de concordância (Cerdeira, 2008): < 0 - correlação pobre ou mais fraca do que esperada pelo acaso; 0,01 a 0,20 - concordância ligeira; 0,21 a 0,40 - concordância aceitável; 0,41 a 0,60 - concordância moderada; 0,61 a 0,80 - concordância substancial; 0,81 a 0,99 - concordância quase perfeita.

3.1.4. Resultados

Dados demográficos / Caracterização geral da população

Das 4045 crianças que constituíram a população alvo, 925 o ensino pré-escolar (22,9%) e 3120 o 1º ciclo do ensino básico (77,1%). Obtivemos uma taxa de resposta ao questionário inicial (Q1) de 61,2%, correspondendo a 2474 crianças, com idades compreendidas entre os 3 e os 11 anos.

De todos os questionários respondidos, em 176 foi referido algum tipo de reação adversa a pelo menos um alimento ou bebida.

Responderam ao questionário alargado aplicado pelo investigador (Q2), 159 crianças das quais 115 mantiveram suspeita de reação adversa a alimento ou bebida (4.648%). A média de idade no grupo Q2 positivo (Q2+) foi de 7,01 anos (amplitude: 3 a 11 anos) e 51,3% eram do género masculino (Fig 1).

As 50 crianças seleccionadas aleatoriamente para o reteste apresentavam idade média de $8,7 \pm 2,4$ anos, uma moda de 9 anos e 58% eram rapazes. A maior parte das crianças (69%) viviam em área urbana, 37 (74%) apresentavam atopia, e 31(62%) tinham história familiar de doença atópica. Os alimentos mais reportados foram frutos frescos (16), peixe (9) e ovo (8).

Estabilidade temporal geral

Na avaliação da estabilidade temporal pela soma das respostas teste/reteste das questões mais relevantes relativas a características clínicas e gravidade das reações: questões nº 4,5,10,11 e 16 (tabela 8) (perguntas importantes para caracterizar a reação e a sua gravidade), obtivemos um coeficiente de correlação de Spearman de Rho de 0.834 (Tabela 2).

Tabela 2- Teste de Correlação de Spearman

			Soma	ReSoma
Spearman's rho	Soma	Coeficiente de Correlação	1,000	0,834(**)
		Sig. (2-tailed)	.	0,000
		N	50	50
	ReSoma	Coeficiente de Correlação	0,834(**)	1,000
		Sig. (2-tailed)	0,000	.
		N	50	50

** A correlação é significativa a nível de 0,01 (2-tailed)

Tendo em conta a natureza dos itens deste questionário, a análise da consistência interna pelo *alfa de Cronbach* não foi efetuada.

Análise de concordância e reprodutibilidade do questionário

Foi efetuada a análise de reprodutibilidade do teste-reteste para cada questão utilizando o *Kappa* de Cohen (concordância intra observador). Para as 17 questões foram efetuadas 27 análises de concordância. A Tabela 2 mostra os resultados de concordância relativa, os valores de *kappa* e respetivos intervalos de confiança.

Uma questão (item 9) teve concordância perfeita a uma categoria, 19 itens mostraram uma concordância perfeita ou quase perfeita (*Kappa* entre 0,81-1,00), 5 itens apresentaram um *kappa* bom ou muito bom ($>0,6$) e apenas duas mostraram um coeficiente *Kappa* fraco.

Relativamente à identificação do alimento, a questão 2 apresentou um índice *Kappa* bom ou muito bom para todos os alimentos ($\geq 0,75$), exceto para os legumes frescos, com uma concordância *kappa* de 0,60.

Apesar de a maior parte dos pais não saber se a primeira reação coincidiu ou não com a primeira ingestão (questão 3), encontramos uma boa concordância nas respostas a esta pergunta bem como para o número de episódios (item 15) (0,77 e 0,89 respetivamente).

Quanto às perguntas relativas à caracterização da reação, a pergunta 4, que tem por objetivo caracterizar a reação em imediata ou tardia apresentou uma concordância relativa de 98% e *kappa* de 0,88. As respostas relativas à caracterização do tipo de manifestação clínica que, para fins de sistematização desta análise, foram agrupadas em manifestações clínicas mucocutâneas, respiratórias, digestivas ou cardiovasculares (questão 5), mostraram boa consistência temporal ($\geq 0,77$) exceto para os sintomas cardiovasculares (*Kappa* de 0,48). A pergunta 6, efetuada com o objetivo de identificar a via de contacto com o alérgénio (inalação, contacto ou ingestão) mostrou uma concordância de 100% e *Kappa* de 1,00. Também a pergunta 13, que visa averiguar da reprodutibilidade da reação obteve uma concordância de 98% e *kappa* de 0,88.

As perguntas relativas a recurso ao hospital (item 10) e medicação efetuada (item 11) apresentam um índice de concordância quase perfeito (0,83 e 0,87 respetivamente) e têm como objetivo avaliar a gravidade da reação.

Quanto à pergunta sobre fatores desencadeantes como exercício ou fármacos (item 8) todas as respostas foram “Não sei”.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Tabela 3 - Avaliação da reprodutibilidade do Inquérito para pesquisa de reações adversas a alimentos e alergia alimentar

Questões	Concordância relativa			Kappa * (IC 95%)	
	n	Teste	%		
Domínio 1 - Confirmação de reação alérgica					
1	A sua criança tem algum problema de saúde ou reação a algum alimento ou bebida?	50	50	100	1,0 (1,00-1,00)
Domínio 2 - Identificação do alimento suspeito					
2	Qual o alimento ou bebida que provoca reação				
	Leite	49	50	98	0,91 (0,74-1,08)
	Ovo	50	50	100	1,0 (1,00-1,00)
	Peixe	49	50	98	0,94 (0,82-1,06)
	Soja	48	50	96	0,89 (0,74-1,04)
	Amendoim	50	50	100	0,75 (0,57-0,92)
	Carne	50	50	100	0,83 (0,55-1,10)
	Fruta	50	50	100	1,0 (1,00-1,00)
	legumes frescos	48	50	96	0,6 (0,24-0,96)
	Outros	49	50	98	0,92 (0,82-1,03)
Domínio 3 - Caracterização da primeira reação e dados relevantes					
3	Quando teve a primeira reação era a primeira vez que comia esse alimento?	43	50	86	0,77 (0,62-0,93)
4	Quanto tempo depois de comer esse alimento teve a reação	49	50	98	0,88 (0,74-1,01)
5	Que tipo de reação teve a criança depois de comer/ beber o alimento/bebida				
	sintomas respiratórios	47	50	94	0,82 (0,62-1,02)
	sintomas gastrointestinais	45	50	90	0,77 (0,57-0,96)
	sintomas mucocutâneos	49	50	98	0,94 (0,83-1,05)
	sintomas cardiovasculares	48	50	96	0,48(-0,14-1,10)
6	O que desencadeou a reação?	50	50	100	1,0 (1,00-1,00)
7	Se cheirar ou tocar nesse alimento tem alguma reação?	48	50	96	0,85 (0,66-1,04)
8	Exercício ou fármacos podem estar relacionados com a reação ao alimento?	50	50	100	-
9	Tem prurido, edema ou dormência na boca com outro alimento?	50	50	100	1,0 (1,00-1,00)
Domínio 4 - Procedimentos após reação					
10	Foi ao hospital quando teve reação a esse alimento?	47	50	94	0,83 (0,68-0,99)
11	Tomou alguma medicação quando teve reação?	46	50	92	0,87 (0,74-0,99)
Domínio 5 - Estabilidade da reação após novo contacto					
12	Há quanto tempo teve a última reação?	40	50	80	0,56 (0,36-0,76)
13	Quando voltou a comer o mesmo alimento que reação teve?	49	50	98	0,88 (0,65-1,11)
14	A gravidade da reação mudou ao longo do tempo com novas ingestões?	47	50	94	0,85 (0,69-1,01)
15	Quantos episódios de reação teve com esse alimento?	47	50	94	0,89 (0,77-1,01)
16	A criança tem outras alergias?	40	50	80	0,64 (0,46-0,82)
17	Tem familiares com alergias?	43	50	86	0,79 (0,65-0,93)

IC- Intervalo de confiança; *Teste Kappa de Cohen

As perguntas 16 e 17, destinadas a avaliar fatores de risco apresentaram um *Kappa* de 0,64 para outra sintomatologia alérgica da criança, e de 0,79 para doença alérgica da família.

3.1.5. Discussão

Neste estudo, construímos e estudámos a viabilidade, a reprodutibilidade, a validade aparente e de conteúdo, de um questionário destinado a avaliar crianças com suspeita de reação adversa a alimentos. O questionário mostrou ser de aplicação simples e fácil, com boa estabilidade temporal, com boa ou muito boa reprodutibilidade para a maior parte das questões, o que sugere ser adequado para a avaliação clínica de crianças com reações adversas a alimentos (Watson, 2010; Farias Junior, 2012).

O questionário foi denominado “questionário 2” (Q2) e construído com o objetivo de ser aplicado a crianças com suspeita de alergias alimentares que reportaram sintomas relacionados com alimentos em questionário preliminar com apenas duas questões (Q1). Deste modo, tentámos seguir uma abordagem semelhante a outros estudos epidemiológicos e também à metodologia usada nos estudos EuroPrevall (Sandin, 2005; Orhan, 2009; Kummeling, 2009). Assim, o questionário completo é composto por uma entrevista semi-estruturada, que o torna mais poderoso do que uma *checklist* simples. A sua construção seguiu um modelo teórico, baseado numa robusta revisão da literatura, em trabalhos já publicados nomeadamente no Brasil e com inclusão de questões consideradas de relevo clínico (Carrapatoso, 2009; Lyra, 2013).

Com as duas questões iniciais (Q1) é possível identificar crianças com risco de reação adversa a alimentos e com risco de desenvolver novas reações.

A pergunta 1 permite saber se há ou não suspeita de reação adversa a alimento e a pergunta 2 identifica o alimento desencadeante. Embora estas questões não sejam suficientemente específicas para excluir situações de alergia, têm potencialmente elevada sensibilidade, permitindo assim a inclusão de todos os casos de reação adversa a alimentos ou bebidas de modo a serem melhor estudados e avaliados pelos itens do questionário alargado. Do mesmo modo, questionários previamente usados e, nomeadamente o questionário brasileiro e o usado pelo EuroPrevall também tinham duas questões preliminares similares (Kummeling, 2009; Kavaliunas, 2012; Lyra, 2013; Hoyos-Bachiloglu, 2014; Orhan, 2009). É de realçar que alguns dos pais só recordaram a reação que os filhos haviam tido, ao questionar se o alimento específico provocava uma reação, o que sugere que as duas perguntas (itens 1 e 2) devem ser mantidas em conjunto pois falar em comida ou bebida em geral parece ser diferente de perguntar sobre alimentos específicos, em termos de recordação mnésica.

No que diz respeito à confiabilidade, o nosso questionário foi avaliado para a estabilidade/reprodutibilidade intra observador. Desse ponto de vista mostrou estabilidade temporal elevada, sendo os valores de correlação de Spearman Rho encontrados altos e significativos $r = 0,834$ ($p < 0,01$), sugerindo assim uma boa estabilidade temporal (valor próximo de 1) para poder ser aplicado na população para a qual foi desenhado. Este estudo usou o índice *Kappa* para avaliar a reprodutibilidade das diferentes questões aplicadas e eventualmente propor a sua modificação ou mesmo exclusão. O grau de concordância através do coeficiente *Kappa* tem sido utilizado em vários estudos na idade pediátrica nomeadamente para avaliar concordância entre vários observadores (Cerdeira, 2008) mas também para avaliar a concordância intra observador (Rodríguez, 2006; Prous, 2009). Em termos particulares, no nosso questionário, todos os domínios mostraram elevados índices de concordância, e apenas duas questões relativas à caracterização da 1ª reação (domínio 3) mostraram um valor de kappa fraco (questão 4 para sintomas cardiovasculares e questão 12 acerca do tempo que tinha decorrido desde a última reação). Todas as outras 15 questões mostraram boa concordância com bom ou muito bom ($>0,6$) índice *kappa* e nove perguntas mostram uma concordância quase perfeita (*Kappa* entre 0,81-1,00).

Tornou-se difícil comparar estes dados com outros estudos uma vez que não conseguimos encontrar publicados questionários para rastreio de alergias alimentares validados, para além do estudo brasileiro (Lyra, 2013). O estudo de Lyra *et al* mostrou uma concordância quase perfeita para duas questões (“a criança tem alguma reação quando a comida toca na pele?” e “A criança tem prurido, edema ou dormência na boca após comer fruta ou vegetais crus?”), o que está de acordo com o nosso estudo (Lyra, 2013).

Obtivemos uma boa concordância na identificação do alimento suspeito exceto para os legumes frescos, o que pode ser atribuído à baixa prevalência de alergia a legumes frescos na nossa população (Morais Almeida, 1999; Bento, 2001; Lozoya-Ibáñez, 2016) e também observada em estudos de outros países (Orhan, 2009; Kavaliunas, 2012). De facto, a alergia alimentar a legumes frescos é rara, como também foi observado numa revisão sistemática sobre alergias alimentares na Europa (Nwaru, 2014b). Por outro lado, as reações reportadas a legumes frescos no nosso estudo foram ligeiras e a maior parte das vezes baseadas num único episódio o que pode tornar mais difícil recordá-las; uma situação idêntica foi já previamente reportada para alergia/intolerância ao leite de vaca (Eggesbø, 2001).

Em termos de caracterização da primeira reação (domínio 3), apesar de a maior parte dos pais não saber se a primeira reação coincidiu ou não com a primeira ingestão do alimento suspeito (questão 3), foi possível encontrar uma boa concordância nas respostas a esta pergunta (0,77), com valores superiores aos encontrados para perguntas semelhantes por Lyra *et al* (0,55) (Lyra, 2013).

Ainda no domínio 3, as respostas relativas à caracterização da reação mostraram uma boa concordância ($\geq 0,77$) exceto para os sintomas cardiovasculares (0,48), o que se pode atribuir ao facto de estes sintomas cardiovasculares terem sido raras vezes reportados na nossa amostra.

Quanto aos fatores desencadeantes como o exercício físico ou fármacos, todas as respostas foram “não sei” pelo que, apesar de concordância total, neste estudo não podemos evidenciar a importância de fatores precipitantes/desencadeantes, apesar de ser considerada na literatura uma questão relevante na abordagem de alergia alimentar (Van der Velde, 2010).

No domínio 4 (procedimentos após reação) as perguntas relativas a recurso ao hospital e medicação efetuada são úteis para avaliar a gravidade da reação e apresentaram um índice de concordância quase perfeito (0,83 e 0,87 respetivamente), sugerindo que para questões de maior gravidade ou relevância parece haver uma maior capacidade de memória (Eggesbø, 2001). Estes elevados valores de concordância foram superiores aos encontrados por Lyra *et al* em questões semelhantes (Lyra, 2013), eventualmente por as reações do seu estudo serem de menor gravidade.

No domínio 5 (estabilidade e reprodutibilidade das reações após novo contacto) a concordância foi quase perfeita (*Kappa* de 0,88) para a questão relativa ao número de episódios ocorridos. Este resultado pode dever-se ao facto de se pedir identificação de um intervalo de valores e não de um valor absoluto.

Quanto ao tempo decorrido desde a última reação (pergunta 12) obtivemos um valor de concordância razoável, com *Kappa* de 0,56, ainda assim superior ao obtido por Lyra (0,28) (Lyra, 2013). Consideramos que as questões relacionadas com o tempo decorrido e idades são passíveis de fraca concordância, essencialmente pelo viés de memória. De facto, a memória de episódios prévios pode depender da gravidade do acontecimento e do tempo decorrido (Eggesbø, 2001; Rancé, 2005). Para além disso, nestas reações estão incluídas algumas alergias alimentares e reações adversas a alimentos e, portanto, de gravidade variável. Por outro lado, após uma primeira entrevista, os pais podem ter tentado recordar melhor os factos e dar uma resposta mais precisa no reteste. Não podemos ainda excluir o facto de que as diferentes respostas possam também corresponder a desenvolvimento de tolerância ao alimento, como está demonstrado em estudos semelhantes (Eggesbø, 2001; Van Zyl, 2016).

No domínio 6 (avaliação de fatores de risco) as questões 16 e 17, destinadas a avaliar fatores de risco apresentaram um valor de *Kappa* bom (0,64 para outra sintomatologia alérgica da criança, e de 0,79 para doença alérgica da família). Isto pode ser parcialmente explicado pelo facto de os pais de crianças alérgicas estarem mais preocupados ou eventualmente terem tentado recordar ou confirmar doença alérgica entre o teste e o reteste. Por outro lado, a baixa estabilidade temporal pode dever-se a viés de memória, como já anteriormente referido (Eggesbø, 2001; Van Zyl, 2016).

O nosso estudo apresenta algumas limitações. Em primeiro lugar, a validação de conteúdo foi efetuada em 24 crianças com alergia alimentar confirmada, o que pode ser considerado uma amostra relativamente pequena. No entanto, uma análise semelhante foi também efetuada em mais 50 crianças com suspeita de alergia alimentar. Assim, consideramos que o tamanho final da amostra usado neste estudo ($n=74$), pode ser considerado adequado tendo em conta o rácio de análise de itens proposto pela literatura (Rouquette, 2011). Em segundo lugar, apesar da maioria dos itens do questionário ter mostrado muito boa consistência e reprodutibilidade, algumas questões mostraram baixa consistência, o que indica haver necessidade de reformulação ou remoção desses itens. Em terceiro lugar, tendo em conta a natureza dos itens deste questionário, a análise da consistência interna pelo *alfa* de Cronbach não foi efetuada, o que pode ter prejudicado a análise global de consistência. Em quarto lugar, o tempo decorrido entre o teste e o reteste foi um pouco maior do que o preconizado como ideal (2 semanas), com uma mediana de 3 semanas no nosso estudo e uma média de 5 semanas. Embora este tipo de intervalo seja semelhante aos de outros estudos, pode condicionar viés de memória. Em quinto lugar, no nosso estudo, as crianças não efetuaram a PPODC, considerada como “Gold standard” no diagnóstico das alergias alimentares, o que impediu analisar a sensibilidade e especificidade do questionário. Por fim, embora seja um questionário simples e tenha sido usado para rastreio de crianças com reações adversas a alimentos e alergia alimentar, poderia ser melhorado pela introdução de questões tipo Likert de modo a aumentar a sua capacidade para detetar perfis de alergia alimentar.

Apesar de algumas limitações, o nosso questionário tem a vantagem de ser de uso simples, fácil de aplicar e obedece aos critérios para diagnóstico de alergia alimentar. Isto é particularmente relevante uma vez que permite, com a sua rápida e fácil aplicação, um diagnóstico de possível alergia alimentar na criança, população onde este problema é muito pertinente.

Assim, consideramos que este questionário, em todos os países de língua oficial portuguesa (cerca de 250 milhões em todo o mundo) tem condições para ser aplicado universalmente dada a sua disponibilidade, facilidade de aplicação, global consistência e estabilidade temporal.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

3.2. Prevalência e caracterização clínica de alergia alimentar em crianças da Beira Interior

3.2.1. Introdução

A prevalência de reações adversas aos alimentos (RAA) tem aumentado, principalmente nos primeiros anos de vida (Mills, 2007; Keil, 2007; Nissen, 2013). De acordo com uma relevante revisão sistemática e metanálise, a prevalência de alergias alimentares autorreportadas varia entre 3 e 35%, dependendo da faixa etária, da área geográfica e da metodologia utilizada (Rona, 2007; Nwaru, 2014a). Essa discrepância de valores pode ter a ver com diferentes abordagens metodológicas utilizadas nos vários estudos; por outro lado, em alguns estudos a amostra envolvia apenas crianças acompanhadas em consultas especializadas, enquanto em outros estudos os valores foram obtidos na população geral de crianças; finalmente, em alguns casos, esses valores autorreportados foram apoiados por estudos de provocação oral, enquanto em outros, apenas foram utilizados os resultados baseados em questionários. De facto, um estudo multicêntrico recente, efetuado em vários países europeus, mostrou que a prevalência de alergia alimentar provável em adultos variava entre limites menores (0,3 a 5,6%) mas, mesmo assim, revelando variabilidade significativa (Lyons, 2019). No entanto, há uma escassez de estudos realizados na população geral em idade pediátrica.

O diagnóstico de alergias alimentares em crianças não pode ser feito exclusivamente com base nos sintomas relatados, uma vez que, embora os pais acreditem que seus filhos são alérgicos aos alimentos, a confirmação ocorre apenas em 10-50% dos casos (Brand, 2006; Boyce, 2010). Por exemplo, uma revisão de cinco estudos de alergias alimentares em populações pediátricas não selecionadas, com menos de 10 anos de idade, concluiu que a prevalência dessas alergias foi maior quando se baseou em autorrelatos do que quando foi apoiada por testes adicionais, o que sugere deverem ser realizados testes para confirmação de alergia (Keil, 2007).

Embora com algumas diferenças de acordo com a idade (Morais Almeida, 1999), os alimentos mais frequentemente relatados em associação com alergias alimentares em crianças são o leite de vaca, o ovo, o amendoim e o trigo, e as manifestações clínicas variam desde reações cutâneas localizadas a anafilaxia com risco de vida (Boyce, 2010; Santos, 2012; Niggemann, 2012). A opção terapêutica mais eficaz para alergias alimentares é a evicção do(s) alimento(s) implicados (Boyce, 2010; Niggemann, 2012). É, portanto, importante distinguir entre situações de verdadeiras alergias alimentares IgE-Mediadas, de outras situações que possam envolver intolerância a alimentos, outras formas de alergia alimentar não IgE-Mediadas e, até mesmo, situações gastroenterológicas pediátricas comuns, sendo então necessários testes de alergia e

por vezes provas de provocação (Heine, 2015). Independentemente de os testes de provocação oral serem considerados como “padrão ouro” para o diagnóstico de AA, os testes cutâneos por picada (TCP) e a determinação dos níveis sérico de IgE específica para alimentos devem ser realizados se a história clínica sugerir fortemente alergia alimentar e houver uma clara suspeita de alimentos específicos implicados (Boyce, 2010).

Em Portugal, os estudos sobre a prevalência de alergias alimentares são escassos (Boyce, 2010) encontrando-se um único estudo que analisou crianças dos 0 a mais de 12 anos de idade, seguidas em consulta de alergologia, obtendo uma prevalência global elevada, de 8,7% de alergia confirmada - história clínica, TCP / IgE's específicas e provocação oral positivas (Morais-Almeida, 1999). No entanto, em contraste com os objetivos do nosso estudo, esse relato não foi realizado na população geral e incluiu crianças e adolescentes até aos 18 anos de idade. Assim, o objetivo do presente estudo foi determinar a prevalência de alergia alimentar associada à IgE em crianças selecionadas da população geral do centro de Portugal, e caracterizá-la em termos de alimentos e manifestações clínicas implicados, em comparação com casos de RAA não IgE-Mediados.

3.2.2. Objetivos

Neste sentido definimos como objetivos específicos deste trabalho:

- a. Determinar a prevalência de reação adversa a alimentos e alergia alimentar numa população pediátrica portuguesa e suas características sociodemográficas.
- b. Conhecer os alimentos implicados na AA. Este objetivo envolve avaliar os alimentos mais frequentemente causadores de RAA e AA na população estudada.
- c. Caracterizar clinicamente as reações adversas a alimentos. Este objetivo envolve avaliar os quadros clínicos de acordo com idade e alimento/grupo de alimentos implicados.
- d. Conhecer o perfil de sensibilização aos alimentos das AA.
- e. Avaliar as diferenças de estudos *in vivo* e *in vitro* dos alimentos em geral e dos grupos mais prevalentes em particular.

3.2.3. Material e métodos

Caraterização do estudo

Tratou-se de um estudo analítico transversal baseado na população pediátrica. Teve a duração total de dois anos letivos consecutivos (2009-2011).

População-alvo

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

População pediátrica dos 3 aos 11 anos, inscrita no ensino pré-escolar e escolas de 1º ciclo do ensino básico da Cova da Beira (concelhos da Covilhã, Belmonte e Fundão).

Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão:

- Inscrição e frequência nos Jardins de Infância ou escolas de 1º ciclo da Cova da Beira (Covilhã, Belmonte e Fundão)
- Idade compreendida entre os 3 e 11 anos

Critérios de exclusão:

- Ausência de dados necessários à realização do estudo
- Recusa na participação do estudo em qualquer fase

Seleção da amostra/Cálculo da amostra

Tendo em conta uma prevalência estimada de alergia alimentar de 3%, um intervalo de confiança de 95% e uma margem de erro de 2%, para uma taxa de resposta esperada de 70% necessitaríamos de recrutar 400 crianças entre 3 e 11 anos para estudo de prevalência.

Sendo também objetivo caracterizar as manifestações clínicas e analisar fatores de risco, foram propostos para o estudo todos os alunos dos 9 agrupamentos de ensino público (53 pré-escolas e 69 escolas de 1º ciclo), da Cova da Beira (concelhos Covilhã, Belmonte e Fundão), com idades compreendidas entre os 3 e os 11 anos. A população-alvo consistiu assim em 4045 crianças (925 dos infantários (22,9%) e 3120 das escolas de 1º ciclo (77,1%).

Prevalência de alergia alimentar autorreportada

Após reunião com o Conselho Executivo de cada agrupamento, procedemos à distribuição e posterior recolha dos Inquéritos para Pesquisa das Reações Adversas a Alimentos (Q1 - versão resumida com questões relativas a dados sociodemográficos, à existência e à identificação de alimento ou bebida causador de reação adversa), preenchidos pelos encarregados de educação (Anexo 2).

Prevalência de alergia alimentar baseada no questionário alargado

Às crianças com pelo menos um alimento identificado como causador de reação adversa (RAA) detetado em Q1, foi aplicado o Inquérito alargado para Pesquisa das Reações Adversas a Alimentos e Alergia Alimentar (Q2), de forma presencial, pelo investigador, destinado à

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

caracterização da reação ocorrida para cada alimento suspeito e sua reprodutibilidade, bem como de antecedentes pessoais e familiares de atopia (Anexo 1).

Caraterização clínica das reações

Para caraterização do padrão de reação foi considerada a reação mais grave para cada alimento identificado (Morais Almeida 1999; Johanson 2001). Os sintomas foram agrupados em mucocutâneos, gastrointestinais, respiratórios, cardiovasculares e outros de acordo com a Tabela 4.

Tabela 4- Definição da sintomatologia

Sintomatologia da reação			
Mucocutânea	Gastrointestinal	Respiratória	Cardiovascular
Prurido (Local ou Generalizado)	Náuseas	Tosse	Sudorese
Eritema (Local ou Generalizado)	Vômitos	Rinite	Palidez
Urticária (Local ou Generalizado)	Diarreia	SDR	Cianose
Angioedema (Local ou Generalizado)	Cólicas	Estridor	Síncope
Eczema (Local ou Generalizado)	Distensão abdominal	Pieira	Hipotensão
SAO	Hematoquézia Obstipação	Conjuntivite	Taquicardia/ Palpitações

Adaptado de (Carrapatoso, 2009)

SAO: Síndrome de alergia oral; SDR: Síndrome de dificuldade respiratória

O diagnóstico de anafilaxia e a avaliação do grau de gravidade foram baseados nos critérios descritos nas tabelas 5 e 6 (Sampson, 2006; Muraro, 2007; Carrapatoso, 2009).

Tabela 5- Definição de anafilaxia

Considera-se anafilaxia quando exista uma reação sistémica grave, conforme definido pelos consensos, na presença de pelo menos um dos três critérios clínicos seguintes:

- a) Início súbito (minutos a horas) com envolvimento da pele e/ou mucosas (ex. Pápulas generalizadas, prurido ou flushing, edema dos lábios, da língua ou da úvula) e pelo menos um dos seguintes:
 - a. Compromisso respiratório (ex. dispneia, sibilância/broncospasmo, estridor, diminuição do DEMI, hipoxemia)
 - b. Hipotensão ou sintomas associados de disfunção de órgão terminal (ex. hipotonia, colapso, síncope, incontinência)
- b) Ocorrência de dois ou mais dos seguintes após exposição a um alérgeno provável para aquele doente (minutos a horas):
 - a. Sinais ou sintomas mucocutâneos (ex. pápulas generalizadas, exantema pruriginoso, edema dos lábios, da língua ou da úvula)
 - b. Compromisso respiratório (ex. dispneia, sibilância/broncospasmo, estridor, diminuição do DEMI, hipoxemia)
 - c. Hipotensão ou sintomas associados de disfunção de órgão terminal (ex. hipotonia, colapso, síncope, incontinência)
 - d. Sintomas gastrointestinais persistentes (ex. dor abdominal em cólica, vômitos)
- c) Hipotensão após exposição a um alérgeno conhecido para aquele doente (minutos a horas):
 - a. PA sistólica diminuída para crianças é definida como inferior a 70 mmHg entre as idades de 1 mês a 1 ano; menos do que $70 \text{ mmHg} + (2 \times \text{idade})$ dos 1 aos 10 anos; inferior a 90 mmHg dos 11 aos 17 anos

Adaptado de (Sampson, 2006; Carrapatoso, 2009)
DEMI: Débito expiratório máximo instantâneo; PA: pressão arterial

Tabela 6- Graus de gravidade da anafilaxia

Ligeira	Prurido generalizado, flushing, urticária, angioedema, SAO, edema labial, sensação de opressão orofaríngea, prurido orofaríngeo, rinite, conjuntivite, náuseas, dor abdominal ligeira, broncoespasmo ligeiro, taquicardia (aumento FC > 15ppm), ansiedade, alteração do nível de atividade
Moderada	Sintomas anteriores + dor abdominal intensa, diarreia, vômitos recorrentes, disфонia, tosse laríngea, disfagia, estridor, dispneia, broncoespasmo moderado, sensação de lipotímia
Grave	Sintomas anteriores + perda de controlo de esfíncteres, cianose, SatO ₂ < 92%, paragem respiratória, hipotensão, colapso, disritmia, bradicardia grave, paragem cardíaca, confusão, perda de consciência

Adaptado de (Muraro, 2007; Carrapatoso, 2009)
SAO: Síndrome de alergia oral; FC: frequência cardíaca. SatO₂: saturação de oxigénio

Estudos in vivo e in vitro

Quando após o questionário (Q2) se manteve a suspeita clínica de AA, as crianças foram propostas para estudos alergológicos.

Os estudos *in vivo* incluíram Testes cutâneos por picada (TCP) para os aeroalergénios comuns e TCP e/ou Testes cutâneos “Prick-Prick” (TCDP) para os alimentos suspeitos no questionário Q2.

Nos TCP foi aplicada uma gota de cada alergénio comercial (Laboratorios LETI, Tres Cantos, Espanha) sobre a epiderme do antebraço sendo cada local perfurado com uma lanceta estandardizada (Laboratóires Stallergènes, Antony, França); após 15 minutos foi efetuada a leitura através da medição do diâmetro médio de cada pápula, em mm, com recurso a uma régua de leitura específica.

Os TCDP são uma variante dos TCP (introduzida por Dreborg e Foucard, em 1983), usados na ausência de extratos comerciais, como é o caso de muitos frutos e legumes frescos. Nestes, foram usados os frutos frescos suspeitos (alergénios *in natura*), segundo o mesmo método padronizado para os extratos comerciais, exceto a necessidade de picar previamente o fruto em estudo com uma lanceta, com picada posterior da epiderme da criança, através do suco do fruto que era colocado em contacto com a pele.

Foram usados controlos positivo (Histamina, 10 mg/ml) e negativo (soro salino fenolado), quer no caso dos TCP como no dos TCDP. Consideraram-se reações positivas aquelas nas quais surgiram pápulas de diâmetro médio ≥ 3 mm que o controlo negativo (Sampson, 2004). A reprodutibilidade destes testes foi efetuada através da execução de duas picadas (uma em cada braço) para os extratos comerciais/alergénios *in natura* dos frutos. Dos diâmetros lidos, foi posteriormente calculado o diâmetro médio [(diâmetro do braço esquerdo + diâmetro do braço direito) /2]. Em caso de leituras muito divergentes (> 2 mm), os testes foram repetidos e escolhidos os diâmetros com maior concordância.

Para os estudos *in vitro* foram colhidos 5 ml de sangue venoso periférico por punção venosa e, posteriormente doseada a IgE total, IgE específicas para alergénios inalantes (Phadiatop inalantes®, Phadia and Thermo Scientific, Uppsala, Sweden, composto por seis grupos de aeroalergénios) e alimentares (fx5E, composto por seis alergénios alimentares predominantes na patologia alérgica da criança). No caso de positividade nos TCP para aeroalergénios, foram medidas as IgE's específicas das várias espécies que compõem cada grupo de aeroalergénios. Foram doseadas IgE's específicas para cada alimento suspeito bem como para alergénios com reatividade cruzada nomeadamente aos frutos (frutos do mesmo grupo/família taxonómica, látex). Na quantificação da IgE total foi utilizado o método imuno-enzimático por quimioluminescência direta (Elecsys 2010 - Roche®) e para as IgE's específicas, o método de fluorimetria (Unicap 100 Pharmacia Diagnosis®).

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

A IgE total foi considerada elevada ou positiva para valores acima de 2DP dos valores de referência para a idade, definidos pelo laboratório e fabricante dos reagentes. As IgE's específicas para aeroalergénios foram consideradas positivas, para concentrações iguais ou superiores a 0,7 KUA/L (Classe 2); para alimentos foram consideradas IgE iguais ou superiores a 0,35 KUA/L. (Classe 1).

Definições operacionais de reações adversas a alimentos

Para o estudo, foram usadas as seguintes definições operacionais:

Sensibilização a alimento - Na presença de IgE específica positiva, sem sintomas clínicos sugestivos de alergia aquando da exposição a esse alimento (Boyce, 2010).

Intolerância alimentar - Reações adversas a alimentos ou aditivos alimentares, que eram reprodutíveis, mas nas quais não se conseguiu identificar um mecanismo imunológico (Boyce, 2010).

Alergia alimentar possível - Em crianças com história clínica sugestiva de reação adversa no questionário alargado Q2 (autorreporte).

Alergia alimentar provável/AA IgE-Mediada (IgE-Med) - Em crianças com história clínica sugestiva de reação adversa no questionário alargado Q2 (autorreporte) e positividade nos estudos alergológicos (TCP/TCDP e/ou IgE's específicas) para alimentos suspeitos.

Reação a alimento não IgE-mediada (não IgE-Med) - Em crianças com história clínica sugestiva de reação adversa a alimento, mas estudos alergológicos *in vivo* e *in vitro* negativos (Ghaffar, 2001; Rona, 2007).

Análise estatística

Os dados recolhidos foram registados numa tabela via Microsoft Excel 2007® e processados pelo Software Package for Social Sciences (SPSS) versão 19.0®. A avaliação da normalidade das variáveis foi feita com recurso ao teste One Sample Kolmogorov-Smirnov. A análise descritiva baseou-se no cálculo das medidas de tendência central e dispersão: média aritmética e desvio padrão, média geométrica e erro padrão da média para variáveis com distribuição normal; mediana para variáveis de distribuição não normal. A prevalência de reação autorreportada, de IgE-Med e não IgE-Med foi determinada para o total da população-alvo, recorrendo à estatística descritiva simples (taxas de prevalência bruta e ajustada).

Para estudo de variáveis nominais foi usado o Teste do Qui-quadrado se as frequências esperadas (expected frequencies) eram superiores a 5; nos restantes casos, usou-se o teste de Cramer. Para as variáveis dicotómicas, foi aplicado o teste exato de Fisher. Para a análise comparativa entre variáveis quantitativas entre dois grupos, foi usado o teste t-Student para variáveis com distribuição normal e o teste de Mann-Whitney U, para variáveis com distribuição não normal. Para comparação entre 3 ou mais grupos, foi usado o teste ANOVA para variáveis com distribuição normal e o teste de Kuskal-Wallis para variáveis com distribuição não normal.

3.2.4. Resultados obtidos

Dados demográficos /Caraterização geral da população

Das 4045 crianças que constituíram a população alvo, 925 eram das pré-escolas (22,9%) e 3120 das escolas de 1º ciclo (77,1%). Obtivemos uma taxa de resposta ao questionário inicial (Q1) de 61,2% correspondendo a 2474 crianças, com idades compreendidas entre os 3 e os 11 anos. A média de idades foi de 7,06 \pm 1,9 anos, com idêntica distribuição por género (50,1% género feminino); do grupo que respondeu a Q1, 80% das crianças frequentavam o 1º ciclo do ensino básico e 20% ensino pré-escolar.

De todos os questionários respondidos, 176 referiram algum tipo de reação adversa a pelo menos um alimento ou bebida (RAA): 7,113% de prevalência de reação adversa autorreportada, quando feito questionário não presencial.

Responderam ao questionário alargado, aplicado pelo investigador (Q2), 159 crianças das quais 115 mantiveram suspeita de reação adversa a alimento ou bebida (prevalência de alergia alimentar (AA) possível de 4,65%). A média de idade no grupo Q2 positivo foi de 7,01 anos (3 a 11 anos) e 51,3% eram do género masculino (Fig 2).

Desistiram do estudo 23 crianças, 17 delas por não terem respondido ao questionário presencial Q2, 6 após terem respondido ao questionário e terem mantido suspeita de reação adversa a alimento não aceitaram fazer os estudos in vivo e in vitro.

Em 109 crianças foi concluído o estudo preconizado com estudos in vivo e in vitro. Em 75 crianças não se confirmou uma reação IgE-Med ficando, assim, com o diagnóstico de Reação alimentar não IgE-Med, e 34 crianças apresentaram critérios de reação alimentar IgE-Med para pelo menos 1 alimento, o que permitiu calcular uma prevalência de alergia alimentar (AA) provável de 1,37% na população estudada (Figura 2).

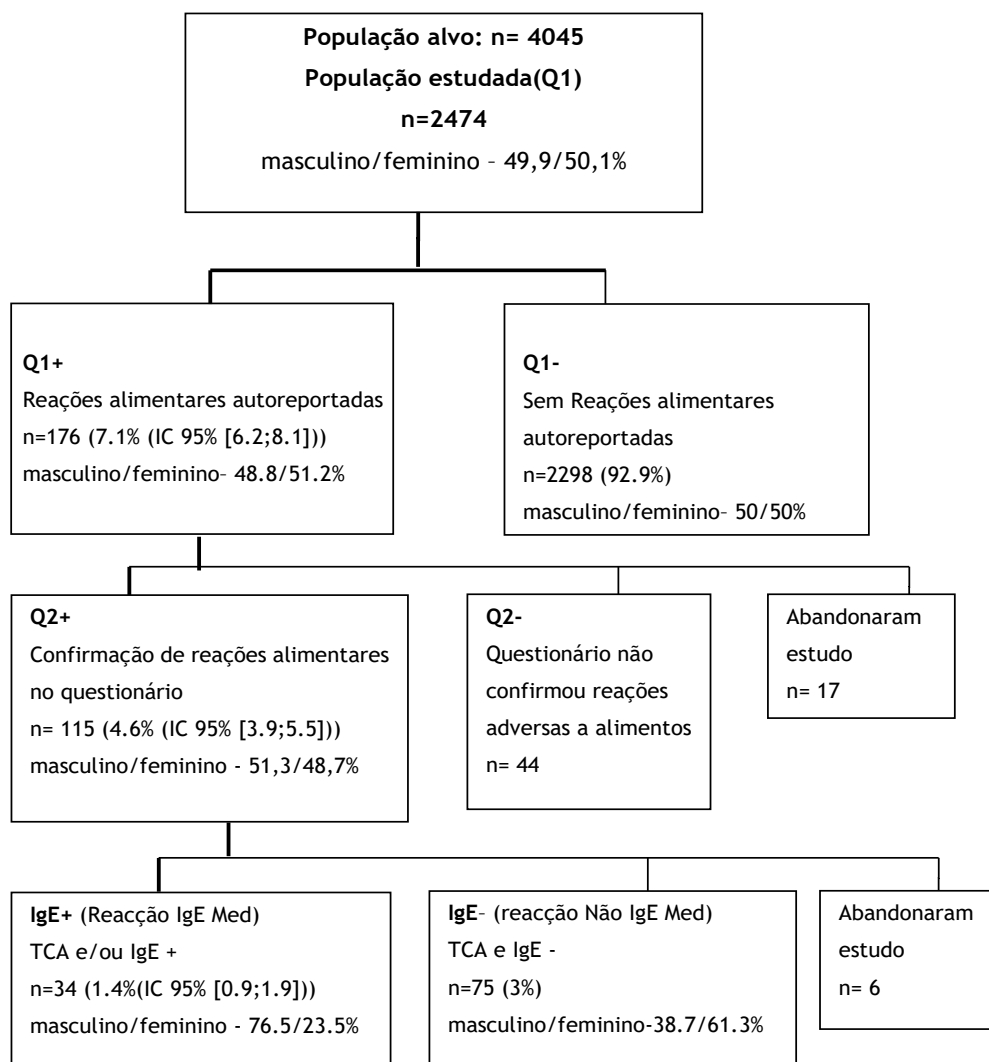


Figura 2- Desenho do Estudo de Prevalência de AA

Tanto Q1 como Q2 foram respondidos pelos pais ou representantes legais; a mãe respondeu em 81,8% dos Q1 e em 83,1% dos Q2 (Tabela 7). Quanto aos dados demográficos, verificamos que a média de idades nas crianças do grupo AA Provável (Grupo IgE-Med) foi inferior à média de idades do grupo com Reação alimentar não IgE-Med (Grupo Não IgE-Med), embora sem diferença estatisticamente significativa. A AA provável foi mais frequente no sexo masculino enquanto que Reação alimentar não IgE-Med foi mais frequente no sexo feminino, com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$). O índice de massa corporal (IMC) médio foi de 18,39 no grupo IgE-Med e de 17,8 no grupo Não IgE-Med, sem diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Tabela 7- Dados sociodemográficos das crianças estudadas

Parâmetros		Total (n=109)	IgE-Med (n=34)	Não IgE- Med (n=75)	Odds Ratio IgE-Med /Não IgE- Med (IC 95%)	p-value	População alvo (n=2474)	Q1+ (n=176)	Q2+ (n=115)
Sexo (%)	F	49,5	23,5	61,3	1	<0,001*	50,1	51,2 ^a	48,7 ^b
	M	50,5	76,5	38,7	5,155 (2,057, 12,918)		49,9	48,8 ^a	51,3 ^b
Idade (anos) (Média±DP)		7,00±1,82	6,65±1,56	7,16±1,91	-	0,173**	7,1±1,9	7,1±1,85	7,0±1,82
Respondente (%)	Pai	12,0	11,8	13,3	1	0,821*	18,2	16,9 ^c	12,8 ^d
	Mãe	88,0	88,2	86,7	1,154 (0,335, 3,978)		81,8	83,1 ^c	87,2 ^d
Residência (%)	Rural	41,3	38,2	42,7	1	0,663*			
	Urbana	68,7	61,8	57,3	1,202 (0,525, 2,755)				
Classe de Graffar (%)	I	8,3	11,8	6,7		0,514**			
	II	25,7	23,5	26,7					
	III	56,0	50,0	58,6	-				
	IV	10,0	14,7	8,0					
	V	0,0	0,0	0,0					
Comorbilidades (%)	Não	56,0	61,8	53,3	1	0,411*			
	Sim	44,0	38,2	46,7	0,707 (0,309, 1,618)				

* Teste Qui-quadrado

** Teste exacto de Fisher

^a Teste binomial de comparação com proporção na coorte-alvo, p=0,421

^b Teste binomial de comparação com proporção na coorte-alvo, p=0,418

^c Teste binomial de comparação com proporção na coorte-alvo, p=0,319

^d Teste binomial de comparação com proporção na coorte-alvo, p=0,091

Das 109 crianças que concluíram o estudo, 44% tinham outras patologias, sem diferença entre o grupo IgE-Med e não IgE-Med. A média do Índice de massa corporal (IMC), foi também idêntico nos dois grupos. Já no que se refere ao seguimento médico, mais crianças do Grupo IgE-Med eram seguidas pelo pediatra ou imunoalergologista privado do que no grupo não IgE-Med, com significância estatística (Tabela 8).

Tabela 8- Dados clínicos das crianças que concluíram o estudo

		Total n (%)	IgE-Med n(%)	Não IgE-Med n(%)	valor de p	Odds Ratio IgE-Med /Não IgE-Med (IC95%)
Outras patologias	Sim	48 (44,0)	13 (38,2)	35 (46,7)	0,411 ^a	0,707 (0,309; 1,618)
	Não	61 (56,0)	21 (61,8)	40 (53,3)		
IMC		105 17,98±5,35	72 17,80±3,41	33 18,39±8,19	0,255 ^b	--
	IAH	36 (33,3)	18 (54,5) ^c	18 (24,0) ^c		
Seguimento médico	IAP	13 (12,0)	7 (21,2)	6 (8,0)	<0,001 ^a	---
	MF	30 (27,8)	2 (6,1) ^d	28 (37,3) ^d		
	Não	29 (26,9)	6 (18,2)	23 (30,7)		

^a Teste do Qui-quadrado

^b Teste de Mann-Whitney U

^c Percentagens significativamente diferentes (teste para duas proporções, p=0,002)

^d Percentagens significativamente diferentes (teste para duas proporções, p<0,001)

IMC- Índice de massa corporal; IAH- Imunoalergologista/pediatra hospitalar; IAP-Imunoalergologista/pediatra privado; MF- Médico de família

Prevalência de reações adversas autorreportadas a alimentos

De todos os questionários Q1 respondidos, 176 referiram algum tipo de reação adversa a pelo menos um alimento ou bebida (7.1%) (Grupo Q1+) (média de idades 7,1 anos; 48.8% rapazes). Do grupo Q1, 80% das crianças frequentavam 1º ciclo do ensino básico e 20% infantilário.

Prevalência de reações adversas a alimentos reportadas em questionário presencial

Das 159 crianças que responderam ao questionário alargado, 115 mantiveram suspeita de reação adversa a alimento ou bebida (Grupo Q2+); média de idades 7,0 anos; 51,3% rapazes. Assim a prevalência de AA possível, por questionário presencial (AA possível) foi de 4,6% (IC 95% [3.9;5.1]).

Prevalência de reação adversa a alimentos IgE-Mediada e não IgE-Mediada

Concluíram o estudo 109 crianças, tendo efetuado TCP e doseamento de IgE sérica total e IgE específicas para os alimentos suspeitos: em 75 crianças (3,0%) não se confirmou uma reação IgE-Med, tendo ficado com o diagnóstico de alergia alimentar possível Não IgE-Med, e 34 crianças apresentaram critérios de reação IgE-Med (Q1 e Q2 positivos e SPT e/ou IgE específicas positivas) para pelo menos 1 alimento (prevalência de alergia alimentar provável de 1.4%(IC 95% [0.9;1.9]) na população estudada (grupo IgE-Med) (Figura 2).

Alimentos implicados

As 176 crianças que em Q1 referiram ter reação a pelo menos um alimento ou bebida, identificaram 305 alimentos suspeitos (1,7 alimentos/criança). Os grupos de alimentos mais implicados foram os frutos frescos (n=64), o ovo (n=39), os crustáceos (n=38), as leguminosas (n=30), o leite (n=29) e o peixe (n=23) (Tabela 9 e Figura 2).

Dos 259 alimentos referidos em Q2 pelas 115 crianças (2,25 alimentos/criança), os grupos de alimentos mais implicados foram os frutos frescos (n=83), o ovo (n=27), o peixe (n=26), crustáceos e moluscos (n=23), especiarias (n=20), leguminosas (n=19) e o leite (n=17).

Tabela 9- Quadro resumo dos alimentos implicados no questionário inicial, em Q2, com Reação IgE-Mediada e não IgE-Mediada

Alimentos Implicados	Q1+	Q2+	Não IgE-Med (SPT-/IgE-)	IgE-Med (SPT/IgE+)	%confirmação de Reação IgE-Med*
Total De Crianças	176	115	75	34	
Total Alimentos	305	259	149	88	37,1
Frutos Frescos	64	83	50	28	35,9
Ovo (Gema e/ou Clara)**	39	27	11	14	56,0
Crustáceos/Moluscos	38	23	17	4	19,1
Leguminosas	30	19	8	6	42,9
Leite	29	17	11	5	31,3
Peixes	23	26	8	18	69,2
Outros Vegetais***	21	16	12	2	14,3
Especiarias	16	20	17	1	5,6
Carne	16	4	3	1	25,0
Cereais	14	12	6	6	50,0
Frutos Secos	6	10	4	3	42,9
Outros****	9	2	2	0	0,0

* % confirmação = reação IgE-mediada / (reação IgE-mediada + reação não IgE-mediada) x 100

**como descrito no texto

*** pimento, cebola, tomate, espinafre, aipo, agrião, repolho

****mel

Nas 34 crianças com confirmação de reação alimentar IgE-Mediada (Grupo IgE-Med), foram identificados 88 alimentos causadores de reação IgE-Mediada, com uma média de 2,6 alimentos por criança. Dezassete destas crianças tinham alergia a um único alimento, e 12 tinham alergia a 3 ou mais alimentos, 50% (6) destas crianças tinham reação a 2 ou mais alimentos. Os grupos de alimentos mais frequentes foram frutos frescos, peixe e ovo (Tabela 9). Nestas crianças foram ainda referidos mais 17 alimentos causadores de reação não IgE-Med.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Nas 75 crianças com reação não IgE-Mediada (Grupo Não IgE-Med), foram identificados 149 alimentos, sendo os mais implicados frutos frescos (50), especiarias (17), crustáceos e moluscos (17) (Tabela 9).

Perante a presença de reações adversas a alimentos reportadas em Q2, a confirmação de sensibilização alimentar ocorreu mais frequentemente para peixe (69%) e ovo (56%), e a suspeita de alergia a especiarias foi confirmada em apenas 5,5% (1 em 18 suspeitas) (Tabela 9).

Assim, a prevalência de AA possível e AA provável para os diferentes grupos de alimentos (baseada em Q2+ e em Reação IgE-Mediada) foi respetivamente para o ovo de 1,09 e 0,56%, para o peixe de 0,32 e 0,2%, para o leite de 0,68 e 0,2%.

Caracterização das manifestações clínicas da reação

Analisámos as manifestações clínicas de todos os alimentos implicados (reação mais grave a cada alimento) e comparámos as reações a alimentos IgE-Mediadas (IgE-Med) com as reações não IgE-Mediadas (Não IgE-Med).

Quanto ao mecanismo desencadeante da reação, a ingestão foi considerada mecanismo desencadeante em todas as 88 reações a alimentos IgE-Mediadas; para 27 dos alimentos foram reportados como mecanismos desencadeantes, a ingestão e também o contacto cutâneo; para 4 alimentos foram considerados mecanismos desencadeantes a ingestão e a inalação (para um alimento - camarão, os três mecanismos estavam implicados).

Para todos os 149 alimentos do grupo Não IgE-Med, a ingestão foi sempre considerada o mecanismo desencadeante, e apenas para 2 alimentos foi referida também reação aquando do contacto cutâneo.

Quanto ao número de episódios prévios, para cada alimento reportado, o número de reações variou entre 1 e 4, para os 88 alimentos das reações IgE-Med, e entre 1 e 3 nos 149 alimentos das reações não IgE-Med (Figura 3). Para 8 alimentos do grupo IgE-Med foi reportada apenas uma reação pois as crianças não voltaram a contactar com esse alimento, o mesmo tendo acontecido para 27 dos 149 alimentos do grupo Não IgE-Med. Para a maioria dos alimentos de ambos os grupos, as crianças tiveram 2 ou 3 episódios de reação (75% para o grupo IgE-Med; 65% para o grupo não IgE-Med).

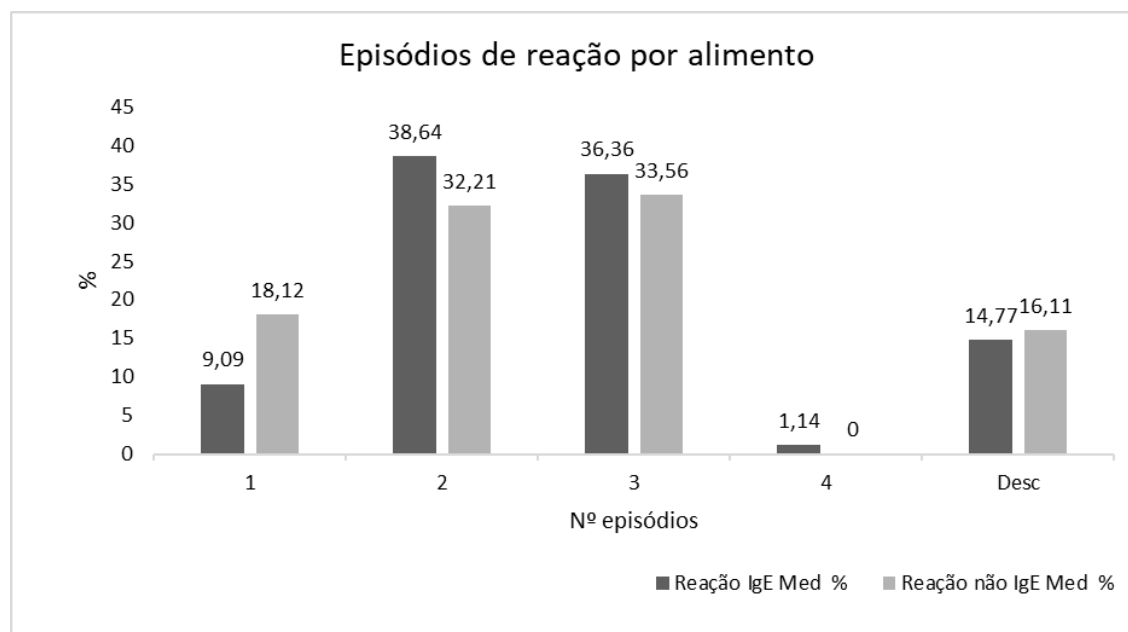


Figura 3- Episódios de reações por alimento

Quanto à idade da 1ª reação ao alimento, observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos: a idade média da 1ª reação foi de 22 meses no grupo IgE-Med e de 36 meses no grupo Não IgE-Med ($p < 0,001$).

Quando avaliámos o tempo decorrido entre a introdução dos diferentes alimentos e a 1ª reação adversa a esse alimento, verificámos que a primeira reação coincidiu com a 1ª ingestão em 69 das 149 reações não IgE-Med (46%) e em 36 das 88 das reações IgE-Med (41%).

O tempo médio decorrido desde a última reação ao alimento suspeito foi menor no grupo IgE-Med, com diferença estatisticamente significativa ($p=0,03$); no entanto, mais reações IgE-Med do que reações Não IgE-Med tinham ocorrido há mais de 1 ano (69,3% versus 49%, respetivamente); 31,5% das crianças do grupo IgE-Med tiveram a última reação entre 1 mês e 1 ano antes, enquanto que no grupo Não IgE-Med apenas 11,4% tinham tido a última reação nesse período de tempo (Tabela 10).

Tabela 10 - Tempo decorrido após a última reação

	Reação IgE-Med (n=88)	%	Reação não IgE-Med (n=149)	%	
Última reação	<1M	9	10,23	19	12,75
	1M-1A	10	11,36	47	31,54
	>1A	61	69,32	73	48,99
	Desconhecida	8	9,09	10	6,71

Quanto à gravidade dos vários episódios de reação por alimento, verificámos que a maior parte das reações foram idênticas nos dois grupos, embora a tendência para reações progressivamente mais graves fosse superior no grupo IgE-Med (Figura 4).

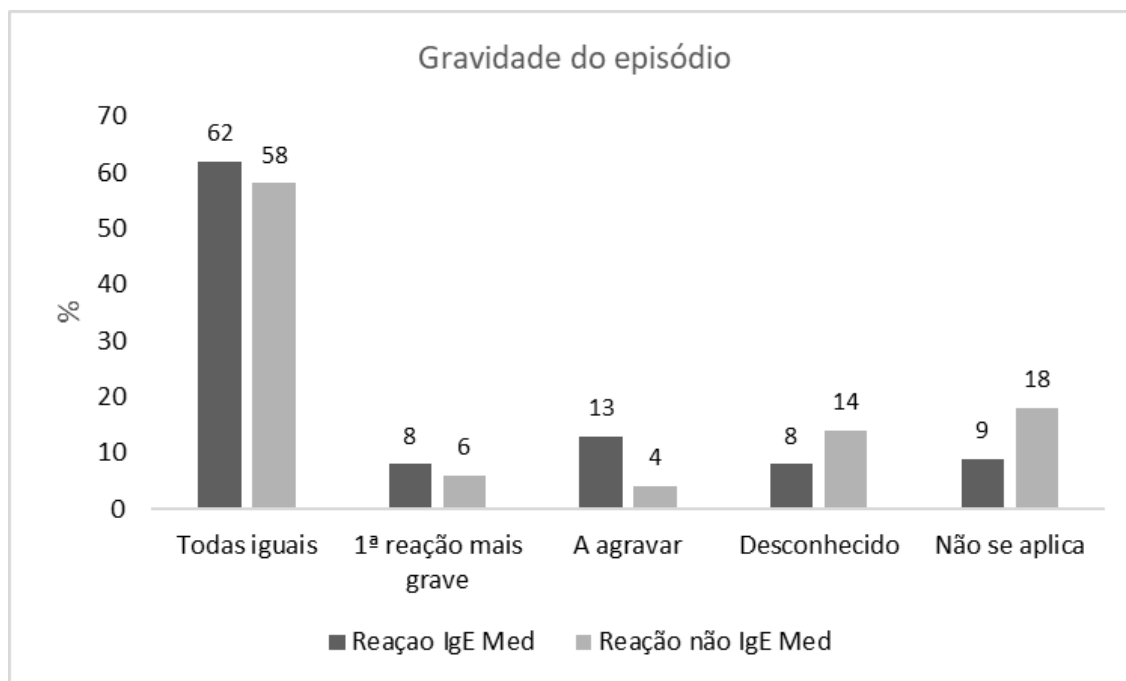


Figura 4- Gravidade dos vários episódios de reação

Na Tabela 11, encontramos uma descrição das manifestações clínicas dos vários alimentos que provocaram reação IgE-Med e Não IgE-Med. Assim, quando comparamos entre estes dois tipos de reações aos alimentos, verificamos que:

a) As reações IgE-Med foram mais frequentemente associadas a manifestações clínicas precoces (reação imediata após ingestão) do que as reações Não IgE-Med; 83,0% versus 45,6%; $p < 0,0001$);

b) As reações IgE-Med foram mais frequentemente reações polissintomáticas do que as reações não IgE-Med (42,0% versus 18,0%; $p < 0,0001$).

c) No grupo IgE-Med, a manifestação clínica mais frequente foi mucocutânea (88,64%) sendo em 43,18% de tipo SAO, seguida das manifestações respiratórias (39,77%); no grupo Não IgE-Med a manifestação mais frequente foi de tipo mucocutâneo seguida das manifestações digestivas. Manifestações mucocutâneas (incluindo SAO), respiratórias e anafiláticas foram significativamente mais frequentes no grupo IgE-Med do que no grupo Não IgE-Med (Tabela 11).

Tabela 11 - Manifestações clínicas das reações adversas nas crianças que completaram o estudo (n=109)

Reações a alimentos (n=237)		IgE-Med (n=88)		Não IgE-Med (n=149)		OR (IC 95%) (*)	p value (**)
			%		%		
Imediata	Não	15	17,0	81	54,4	1	<0,001
	Sim	73	83,0	68	45,6	5,797 (3,05-11,02)	
Polissintomática	Não	51	58,0	122	81,9	1	<0,001
	Sim	37	42,0	27	18,1	3,278 (1,81-5,94)	
Urticária/angioedema	Não	21	23,9	54	36,2	1	0,048
	Sim	67	76,1	95	63,8	1,814 (1,00-3,28)	
SAO	Não	50	56,8	116	77,8	1	0,001
	Sim	38	43,2	33	22,2	2,672 (1,51-4,73)	
Gastrointestinal	Não	61	69,3	98	65,8	1	0,575
	Sim	27	30,7	51	34,2	0,851 (0,48-1,50)	
Respiratória	Não	53	60,2	139	93,3	1	<0,001
	Sim	35	39,8	10	6,7	9,179 (4,25-19,84)	
Outra (***)	Não	67	76,1	125	83,9	1	0,141
	Sim	21	23,9	24	16,1	1,632 (0,85-3,15)	
Anafilaxia	Não	56	63,6	143	96,0	1	<0,001
	Sim	32	36,4	6	4,0	13,619 (5,40-34,35)	

(*)OR-odds ratio: Para cada variável categórica, a situação “normal” foi definida como a categoria de referência e as probabilidades foram estimadas para as outras categorias em relação à referência

(**) Calculado usando Qui quadrado

(***) Eczema atópico agravado, cefaleia, alteração da urina

Em termos de reprodutibilidade das reações após ingestão do mesmo alimento não encontramos diferenças estatisticamente significativas entre os grupos IgE-Med e Não IgE-Med, com elevada percentagem de ocorrência de reações semelhantes em ambos os grupos (77.3% versus 74.5%) (Tabela 12). É de destacar que 6,8% das crianças com Reação IgE-Med e 14,8% das crianças com reação não IgE-Med não voltaram a ingerir o alimento suspeito.

Tabela 12- Reprodutibilidade da reação

Reações a alimentos		Reprodutibilidade				Total
		Não	Sim	Desconhecido	Não se aplica	
IgE-Med	n	6	68	8	6	88
	%	6,8	77,3	9,1	6,8	100,0
Não IgE-Med	n	5	111	11	22	149
	%	3,4	74,5	7,4	14,8	100,0
Total	n	11	179	19	28	237
	%	4,6	75,5	8,0	11,8	100,0

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Estudos *in vivo* e *in vitro*

Dos 88 alimentos implicados nas reações IgE-Med, apresentaram IgE específica positiva 79 e TCP e/ou TCDP positivos 47. Todos os TCDP positivos (4 TCDP para frutos) também foram positivos para TCP. Dos 28 frutos, 24 tinham IgE positiva, 12 tinham testes *in vivo* positivos (12 TCP e 4 TCDP) (Tabela 13).

Em relação ao ovo, das 14 reações, 13 tinham IgE positiva (média de 6,24, min - 0,39, Max 29) e 8 TCP positivo (em 7 tanto IgE como TCP foram positivos, em 1 só o TCP foi positivo). Destas, 3 estavam sensibilizadas apenas a clara de ovo e as restantes estavam sensibilizadas a clara e gema.

Em relação a peixe, 17 das 18 AA tiveram IgE positivas (média de 3,54 kUA/l; 0,76-21,5).

Tabela 13- Estudos *in vivo* e *in vitro*

	IgE Específica (kUA/L)			Min	Max	TCP		Alimentos IgE-Med (n)
	Positiva (n)	Média Geométrica	Erro padrão da Média			Positiva (n)	Pápula média±DP (mm)	
Total de casos	78	2,83	1,69	0,40	81,80	47	5,32±2,14	88
Frutos frescos	24	3,02	3,49	1,00	81,80	12	4,67±1,27	28
Peixe	17	3,54	1,45	0,76	21,50	12	6,21±2,37	18
Ovos	13	2,77	2,47	0,39	29,00	8	5,06±1,70	14
Leguminosas	5	4,72	7,11	1,58	38,60	4	7,63±4,03	6
Cereais	6	1,49	8,10	0,44	49,40	1	3	6
Leite	5	1,73	1,15	0,37	6,59	1	4	5
Marisco	4	2,73	7,42	0,36	31,30	3	3,83±1,04	4
Frutos secos	3	2,35	25,86	0,40	78,00	2	5,75±1,06	3
Outros*	2	1,91	1,83	0,82	4,47	4	4,00±0,71	4

* vegetais, carne de porco, especiarias
DP - Desvio padrão

Quando comparámos as reações dos grupos de alimentos mais prevalentes verificámos que todas as reações a peixe foram imediatas e, na maioria, envolvendo manifestações mucocutâneas e respiratórias; as reações a frutos foram, na maioria, Síndrome de alergia Oral (SAO) enquanto as reações a ovo foram menos frequentemente imediatas e mais frequentemente envolviam sintomas gastrointestinais e anafiláticos; Urticária e angioedema foram mais frequentes com o peixe (Tabelas 14 e 15).

Tabela 14- Manifestações clínicas das reações IgE-Med por grupo de alimento

Grupos de Alimentos	Frutos frescos (n=28)		Peixe (n=18)		Ovo (n=14)		p value (*)
	n	%	n	%	n	%	
Reação imediata	25	89,2	18	100	10	71,4	0,035
Urticaria/Angioedema	16	57,1	18	100	11	71,4	0,002
SAO	18	64,3	10	55,6	3	21,4	0,030
Respiratória	6	21,4	10	55,6	6	42,9	0,055
Gastrointestinal	6	21,4	6	33,3	8	57,1	0,069
Anafilaxia	4	14,3	9	50,0	8	57,1	0,006

(*) Teste do Qui-quadrado ou Teste Exato de Fisher

A SAO foi mais frequentemente reportada com frutos frescos e peixe. De facto, 64% das reações a frutos IgE-Med associaram-se a SAO, e todas estas crianças estavam sensibilizadas a pólenes, a maioria gramíneas com ou sem sensibilização a pólenes de árvores. Sintomas respiratórios foram mais frequentemente associados à ingestão de peixe e ovo. Sintomas gastrointestinais e anafilaxia foram mais associados à ingestão de ovo e muito menos à ingestão de frutos frescos (Tabela 15).

Tabela 15- Manifestações clínicas e sensibilização das reações IgE-Med por grupo de alimento

Grupos de Alimentos	Frutos frescos		Peixe		Ovo		Leguminosas		Cereais		Leite	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
N	28		18		14		6		6		5	
IgE específica positiva	24	85,7	17	94,4	12	85,7	5	83,3	6	100,0	5	100,0
SPT Positivo	12	42,9	12	66,7	8	57,1	4	66,7	1	16,7	1	20,0
Reação Imediata	25	89,2	18	100	10	71,4	4	66,7	4	66,7	2	40,0
Urticaria/angioedema	16	57,1	18	100	11	71,4	4	66,7	4	66,7	4	80,0
SAO	18	64,3	10	55,6	3	21,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Respiratória	6	21,4	10	55,6	6	42,9	4	66,7	2	33,3	3	60,0
Gastrointestinal	6	21,4	6	33,3	8	57,1	2	33,3	0	0,0	1	20,0
Anafilaxia	4	14,3	9	50,0	8	57,1	3	50,0	0	0,0	2	40,0

3.2.5. Discussão

Neste trabalho apresentamos o primeiro estudo de base populacional de prevalência de reações adversas a alimentos em crianças, em Portugal. Obtivemos uma taxa de resposta satisfatória (61,2%) para o questionário inicial em crianças que frequentavam as escolas pública e infantários da Região da Cova da Beira. A prevalência de reação adversa a alimentos autorreportada foi, nesta amostra, de 7,1%, e após aplicação de questionário presencial e alargado, de 4,6%, correspondendo à prevalência de alergia alimentar possível. Por outro lado, a prevalência de alergia alimentar provável, IgE-Mediada (IgE-Med) foi de 1,4%.

Em Portugal, havia apenas um estudo anterior de prevalência de alergias alimentares, efetuado num grupo de crianças seguidas em consulta de alergologia e que incluiu crianças e adolescentes até aos 18 anos de idade (Morais-Almeida, 1999).

De um modo global, podemos dizer que a prevalência de alergia alimentar provável, IgE-Mediada (confirmada por testes *in vivo* (TCP) e *in vitro* (IgE específicas para alimentos) em crianças foi, no nosso estudo, de 1,4%. Estes resultados de prevalência são próximos dos encontrados noutros estudos com metodologia semelhante (Pénard-Morand, 2005; Venter, 2006; Dalal, 2002). Diferenças na prevalência de reações adversas a alimentos podem dever-se à diversidade de grupos etários estudados, aos diferentes hábitos alimentares de acordo com a área geográfica e eventualmente a diferentes características genéticas das diferentes populações (Cochrane, 2009; Nwaru, 2014a; Gupta, 2018). Também a metodologia usada pode ser determinante dependendo do facto de o questionário ser preenchido online, por telefone, presencial, incluir ou não problemas entretanto ultrapassados, ou ainda, da pessoa que respondeu (pai, mãe ou o próprio) (Santadusit, 2005; Pereira, 2005; Orhan, 2009; Gupta, 2011; Pyrhönen, 2011; Ho, 2012).

O facto de não termos realizado provas de provocação oral para confirmação de AA pode condicionar uma prevalência um pouco maior do que a real e, de facto, os nossos resultados de prevalência são superiores aos obtidos em estudos que usaram tal metodologia (Roehr, 2004; Santadusit, 2005; Österballe, 2005; Venter, 2006; Lao-araya, 2012; Orhan, 2009). No entanto, para além da contra-indicação clínica para efetuar PPO em algumas crianças, alguns pais mostraram relutância ou não viram interesse em permitir uma provocação quando já tinham um diagnóstico muito provável ou estavam convencidos da existência de AA nos seus filhos.

Obtivemos uma prevalência de reação adversa a alimentos autorreportada de 7,1% quando baseada no questionário inicial de rastreio (Q1), e de 4,6% após aplicação pelo investigador de questionário presencial e alargado (Q2). Esta diferença de valores foi também reportada por um estudo francês com um questionário inicial dirigido a pais de crianças com 2,5 a 14 anos que obteve uma prevalência de 6,7% e, com um questionário posterior confirmatório, a prevalência foi de 4,7% (Rancé, 2005). De facto, a memória de episódios prévios de sintomas associados a

alimentos, pode depender do tempo já decorrido (mais ou menos recente), da gravidade da reação ocorrida, de os pais terem ou não presenciado a reação, do facto de ter tido apenas um ou vários episódios, podendo levar a um viés de memória. No entanto, uma entrevista cuidadosa pode reduzir esse viés (Eggesbø, 2001; Van Zyl, 2016; Hoehn, 2017).

Uma prevalência mais baixa é encontrada quando consideramos RAA com mecanismo IgE-Mediado (1,4%) - alergia alimentar provável, IgE-Mediada, que, no nosso estudo correspondeu a 19,3% de todas as crianças com Q1+, um valor semelhante ao reportado por outros estudos (Österballe, 2005; Brand, 2006). Estes dados confirmam a noção de que os pais sobrevalorizam as reações adversas a alimentos, quando comparamos os resultados com os testes confirmatórios (Österballe, 2005; Santadusit, 2005; Brand, 2006; Venter, 2006; Orhan, 2009) e condicionam, por vezes, dietas de evicção desnecessárias (Brugman, 1998; Pyrhönen, 2009; Caffarelli, 2011).

Os frutos frescos foram, em todas as fases do nosso estudo, o grupo de alimentos mais frequentemente implicado. O peixe e o ovo foram alimentos também bastante implicados e nos quais mais frequentemente se confirmou a suspeita de AA com reação IgE-Med. Curiosamente, as especiarias e o marisco foram alimentos muito envolvidos nas reações adversas a alimentos autorreportadas, mas em que o mecanismo IgE-Mediado não foi confirmado, sendo assim muito frequentes no Grupo Não IgE-Med. De facto, a alergia a condimentos e especiarias não é comum, atingindo entre 4 a 13 indivíduos em cada 10.000 adultos, embora estes números variem de acordo com a dieta da população estudada e sejam mais elevados nos adultos do que nas crianças (Carrapatoso, 2009; Chen, 2011).

Os nossos resultados são um pouco diferentes dos estudos de outros países nos quais os alimentos mais prevalentes foram leite de vaca, amendoim, ovos ou trigo (Venter, 2006; Rancé, 2005; Ho, 2012). Em Hong Kong, foi o peixe o alimento mais implicado (Ho, 2012). No entanto, num estudo alemão efetuado em crianças e adolescentes, também foram os frutos o grupo de alimento mais reportado e confirmado como causa de reações a alimentos (Roehr, 2004). Estudos portugueses prévios reportaram importante relevância de reações alimentares a frutos em adultos (Falcão, 2004; Lozoya-Ibáñez, 2016) e em crianças do grupo etário idêntico ao do nosso estudo (Morais Almeida, 1999). Também num estudo de adultos e crianças com AA em consulta hospitalar, em Espanha, os alimentos mais implicados em crianças alérgicas foram frutos frescos, seguido de frutos secos (Alvarado, 2006). Em relação ao ovo, os nossos resultados são comparáveis aos dos estudos europeus, de acordo com a revisão sistemática e metanálise efetuada por Nwaru e colaboradores, com uma prevalência global de AA possível ao ovo de 1,5% (1,09% no nosso estudo). No entanto, na estratificação por grupos etários e área geográfica, Nwaru *et al* verificou que a prevalência foi maior nas idades mais baixas e nos países nórdicos (Nwaru, 2014a); a prevalência de AA possível ao peixe foi de 0,32% e a prevalência de AA provável ao peixe foi de 0,2% no nosso estudo, valores dentro dos

encontrados na revisão sistemática de Moonesingh e colaboradores, que encontraram uma prevalência de AA ao peixe em crianças, baseada na HC, entre 0-7% nos estudos europeus, e de 0-0,6% quando associaram HC sugestiva e testes de sensibilização (AA provável), sem grandes variações com a área geográfica (Moonesinghe, 2016).

É preciso realçar que os alimentos implicados na AA variam conforme o grupo etário, o método de diagnóstico (autorreportados, estudos de sensibilização ou provas de provocação) e a área geográfica, dependendo muito dos hábitos alimentares de cada região, o que torna difícil a comparação dos resultados obtidos. De facto, tendo em conta que os hábitos alimentares das crianças estudadas, são semelhantes aos das crianças portuguesas em geral, a elevada prevalência no nosso trabalho de alergia a frutos frescos, pouco descrita na literatura (e a peixe), pode dever-se aos hábitos alimentares da população portuguesa com uma alimentação tipo mediterrânica (rica em peixe e frutos desde a 1º infância).

Por outro lado, a prevalência de alergia ao leite de vaca IgE-Med foi de 0,2% no nosso estudo, e ocorreu em crianças mais jovens, sendo a primeira reação também mais precoce do que no grupo geral. Esta prevalência é bastante inferior à reportada em outros estudos, que apontam para valores de cerca de 2,5% (Lee, 2006). No entanto destacamos o facto de, no nosso trabalho, incluirmos apenas crianças com 3 ou mais anos e a alergia ao leite ser habitualmente de aparecimento no 1º ano de vida e aquisição de tolerância progressiva nos primeiros anos de vida (Lee, 2006).

Foi interessante constatar que o primeiro episódio de reação a alimentos foi mais precoce nas reações IgE-Med do que nas Não IgE-Med (1,9 versus 3 anos, respetivamente). Tanto quanto sabemos, este achado nunca tinha sido reportado na literatura. Tal facto pode dever-se a diferentes mecanismos desencadeantes da reação ou aos diferentes alimentos envolvidos, mas também pode dever-se ao facto de as RAA IgE-Med tenderem a ser mais graves do que as RAA Não IgE-Med e, por isso, o 1º episódio poder ser mais facilmente recordado, devido a um viés de memória. No entanto, estão descritas sensibilizações quer por via inalatória quer cutânea que justificam a ocorrência de reação na primeira ingestão do alimento (Breiteneder, 2000; Brough, 2018). Apesar de tudo, acreditamos que os nossos resultados podem refletir uma verdadeira diferença na idade de início dos sintomas, uma vez que o questionário pretendia confirmar esse dado e a maior parte dos pais conseguiu precisar o 1º episódio. De qualquer modo, a média de idade em que ocorreu o 1º episódio de RAA não IgE-Med foi idêntico ao encontrado em outros estudos baseados em questionários, em outros países como França (Rancé, 2005) ou Itália (Caffarelli, 2011).

As reações IgE-Med foram mais frequentes em rapazes, enquanto que as reações Não IgE-Med foram mais frequentes em raparigas, o que constitui uma observação concordante com o estudo populacional de crianças de Hong Kong que também encontrou prevalência de reações a alimentos, reportadas em maior número em rapazes que em raparigas (Ho, 2012), para além de Arminda Jorge

observações semelhantes terem sido efetuadas no estudo de Morais de Almeida, em crianças observadas em consulta de Imunoalergologia, e no qual 60% das crianças com alergias alimentares eram rapazes) (Morais Almeida, 1999). Também no estudo de prevalência de base populacional, efetuado por Sicherer nos USA, através de entrevista estruturada telefónica, mostrou que a alergia a peixe era mais prevalente nos rapazes do que nas raparigas, antes dos 18 anos, relação que se inverte na idade adulta (Sicherer, 2004).

A maioria dos estudos refere que sensibilização a um único alimento é a situação mais frequente (Morais de Almeida com 87% e Rancé com 79,7% dos casos) (Morais de Almeida, 1999; Rancé, 2005). No nosso estudo, 50% das crianças apresentavam reação IgE-Med para dois ou mais alimentos, um valor semelhante ao estudo de Orhan com 52,7%, em crianças turcas de 6 a 9 anos de idade (Orhan, 2009). Esta discrepância poderá resultar do modo de aplicação do questionário e de diferentes grupos etários estudados pois em crianças mais velhas, poderá ser mais frequente a polissensibilização, como demonstrado pelo menos no caso de frutos secos (Clark, 2005).

Em termos de manifestações clínicas, no nosso estudo, as reações IgE-Med foram mais frequentemente polissintomáticas e de início imediato. Estes resultados são semelhantes aos de um estudo espanhol, que envolveu 674 adultos e crianças observadas em consulta de especialidade (Alvarado, 2006). Quanto ao tipo de manifestações clínicas, tal como demonstrado noutros estudos em crianças (Rancé, 2005; Orhan, 2009; Ho, 2012), as manifestações mais frequentes no nosso estudo foram mucocutâneas. Por outro lado, sintomas respiratórios e anafilaxia, foram significativamente mais frequentes nas RAA IgE-Med do que nas RAA não IgE-Med (39.8 versus 6.7 e 36.4 versus 4.0, respetivamente). No nosso estudo, em particular, a prevalência de anafilaxia no Grupo IgE-Med foi muito superior à encontrada noutros estudos, nos quais variou entre 0% e 15.6% (Österballe, 2005; Rancé, 2005; Ho, 2012). Estas diferenças podem dever-se ao diferente perfil de sensibilização aos alimentos, tratar-se de reação IgE-Mediada ou não, mas também se pode atribuir a diferentes grupos etários estudados ou variações na metodologia do diagnóstico.

Destacamos o facto de termos encontrado diferenças significativas nas manifestações clínicas associadas aos 3 tipos de alimentos mais prevalentes: frutos frescos, peixe e ovo. Embora as reações mucocutâneas tenham sido sempre as mais reportadas, as manifestações respiratórias foram mais frequentes nas reações IgE-Med ao peixe e as manifestações digestivas foram mais associadas ao ovo. Por outro lado, as reações ao peixe foram sempre imediatas, enquanto que só o foram em 71,4% dos casos de reação ao ovo. Em termos de anafilaxia, esta foi significativamente menos frequente para os frutos do que para o peixe e o ovo. Muito poucos estudos efetuaram uma análise específica do tipo de sintomas por grupo de alimentos, pelo que se torna mais difícil comparar os nossos resultados. Houve, no entanto, um estudo francês desenvolvido em crianças em idade escolar, com idades semelhantes às do nosso estudo

(Rancé, 2005) que também mostrou que a ingestão de ovo estava mais frequentemente associada a reações mucocutâneas seguindo-se as reações gastrointestinais. No entanto, uma comparação mais alargada com o nosso estudo não pode ser feita porque esses autores incluíram também outros tipos de alimentos.

O IMC médio foi de 18,39 no grupo IgE-Med e de 17,8 no grupo Não IgE-Med sem diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, em desacordo com outros estudos, que mostraram que as crianças com alergias alimentares têm um crescimento menor, em comparação com os indivíduos não alérgicos, sendo diretamente proporcional à quantidade de alimentos excluídos e à duração da dieta (Giovannini, 2014; Meyer, 2019; Boaventura, 2019), embora nem sempre o IMC esteja afetado (Boaventura, 2019). Obviamente que estes dados têm de ser interpretados com cuidado, uma vez que vários fatores podem interferir com este tipo de associações, nomeadamente o tipo de alimento e sua importância na alimentação, a possibilidade de usar alternativas alimentares, bem como a existência de polissensibilizações alimentares que possam restringir severamente a dieta alimentar.

O nosso estudo de prevalência de reações adversas a alimentos tem algumas limitações. Em primeiro lugar, admitimos que pelo facto de não termos feito PPO para os alimentos suspeitos, os valores de prevalência de alergia alimentar provável possam ser mais elevados do que seriam se comprovados por PPO. No entanto, tal como acontece noutros estudos semelhantes em todo o mundo, o nosso estudo revelou dados importantes relativos a RAA IgE-Med e não IgE-Med. Em segundo lugar, relativamente às RAA não IgE-Med, não conseguimos distinguir completamente entre situações de intolerância ao alimento e outras formas de AA não mediadas por IgE, ou mesmo algumas patologias gastrointestinais pediátricas. No entanto, no nosso estudo, as crianças com reação alimentar não IgE-Mediada foram avaliadas do ponto de vista pediátrico e acreditamos que podemos excluir que se trate de uma doença gastrointestinal ou metabólica. Em terceiro lugar, apesar de os nossos dados abrangerem uma larga região do Centro de Portugal, precisamos de ter alguma cautela na generalização dos resultados, embora essa seja a prática habitual dos estudos internacionais que a maior parte das vezes ocorrem apenas em cidades. Por fim, é possível que, tal como descrito noutros estudos, algumas das respostas fornecidas pelos pais sofram algum viés de memória. Consideramos, no entanto, que fomos bastante rigorosos na obtenção e confirmação dos dados relatados, através da confirmação dos episódios prévios, nomeadamente em termos de datas, por vezes tentando obter informação de ambos os pais e, quando justificado, de outros familiares.

Em conclusão, este é o primeiro estudo de base populacional que mostra que a prevalência de AA provável em crianças da região centro de Portugal é baixa e que os seus familiares a sobrevalorizam. Os alimentos mais implicados são os frutos frescos e o peixe. Reações de tipo imediato, polissintomáticas e mais graves tendem a iniciar-se em idades mais precoces e são mais frequentemente associadas a reações IgE-Med que não IgE-Med. O nosso estudo contribuiu

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

claramente para a caracterização das reações adversas a alimentos nas crianças portuguesas e permite complementar dados populacionais, em termos europeus.

3.3. Alergia a frutos frescos em crianças portuguesas de uma região polínica: estudos *in vivo* e *in vitro*

3.3.1. Introdução

A alergia alimentar (AA) é a principal causa de anafilaxia tratada nos serviços de emergência, em países industrializados (Sampson, 2004), nomeadamente em Portugal, particularmente em crianças (Mota, 2015). Os alimentos mais implicados são frequentemente o leite, o ovo, o amendoim e o trigo, embora variem com as idades dos indivíduos e com a localização geográfica e tradições alimentares. De facto, as frutas frescas têm sido cada vez mais importantes como causa de AA, particularmente em Portugal e no sul da Europa (Carrapatoso, 2006; Rougé, 2009; Fernández-Rivas, 2009; Jorge, 2017). Este facto pode estar relacionado com o padrão alimentar rico em consumo de frutas frescas, característico da dieta mediterrânica (Joffe, 2001; Fernández-Rivas, 2008). Existem várias famílias de frutas descritas, incluindo a família das *Rosaceae*, que engloba a maioria das espécies alergénicas. A sensibilização a diversas frutas pertencentes à mesma família botânica é comum, podendo estar relacionada com a sensibilização à Profilina e às Proteínas Transportadoras de Lipídios (LTPs) (González-Mancebo, 2011; Asero, 2015). Também a reatividade cruzada com aeroalergénios (Brown, 2014) e látex (García Ortiz, 1998) é frequente em pessoas sensibilizadas a frutos frescos.

Em termos de epidemiologia das reações adversas a frutos frescos (RAFr), a prevalência em crianças na Europa parece ser baixa, independentemente dos critérios diagnósticos. Por exemplo, a prevalência de RAFr por autorrelato varia entre 0,04 e 0,9% em crianças de 4 a 15 anos, conforme descrito em revisão sistemática com foco europeu (Zuidmeer, 2008).

Embora tenha havido vários estudos sobre a alergia a frutas frescas (AFr) na última década, os dados epidemiológicos ainda são escassos, como demonstrado por revisões sistemáticas (Lack, 2008; Zuidmeer, 2008). Além disso, os resultados dependem da abordagem metodológica utilizada. Por exemplo, a prevalência de AFr autorreportada varia entre 2,2 e 11,5% em crianças, e os frutos frescos mais implicados foram maçã, laranja e limão (Zuidmeer, 2008). Em contraste, a prevalência de AFr avaliada por testes cutâneos por picada (TCP) ou provocação oral é menor, variando entre <0,1 e 4,3%, com diferenças aparentes relacionadas com os alergénios das frutas, a dieta praticada e a faixa etária incluída (Lack, 2008; Zuidmeer, 2008). Além disso, diferenças geográficas relacionadas com padrões culturais e hábitos alimentares também podem ser relevantes. Neste contexto, o pêssogo é a fruta fresca mais frequentemente envolvida em reações alérgicas em países mediterrânicos (Rodrigues-Alves, 2009; Cuesta-Herranz, 2000; González-Mancebo, 2011).

A síndrome de alergia oral (SAO) é a manifestação clínica mais frequente em adultos com alergia a frutos frescos, que também são alérgicas ao pólen, como resultado da reatividade cruzada entre pólen e alimentos derivados de plantas. Em contraste, essa manifestação é considerada rara em crianças pequenas, embora sua prevalência possa ser maior em crianças mais velhas e adolescentes (Ivkovic-Jurekovic, 2015), como foi demonstrado num estudo realizado em Espanha, em crianças de 6 a 14 anos, e que mostrou uma prevalência à volta de 9% de SAO após ingestão de frutos frescos, embora seja de realçar que estas crianças tinham rinite ou asma (Bedolla-Barajas, 2017).

Em Portugal, embora tenham sido realizados alguns estudos em consultas de alergologia em crianças (Fernandes, 1995; Morais-Almeida, 1999; Bento, 2001) ou em adultos (Carrapatoso, 2006), apenas dois estudos epidemiológicos recentes, de base populacional analisaram a alergia alimentar. No entanto, não foram dirigidos especialmente para alergia a frutos frescos, seja em crianças (Jorge, 2017) seja em adultos (Lozoya-Ibáñez, 2016).

Assim, os objetivos do presente estudo foram estimar a prevalência de alergia a frutos frescos em crianças portuguesas e caracterizar os padrões clínicos, os frutos envolvidos e a reatividade cruzada entre frutos frescos, pólenes e látex. Também analisamos a concordância entre testes de hipersensibilidade *in vivo* e *in vitro*.

3.3.2. Objetivos

Definimos assim como objetivos específicos deste trabalho:

- a. Determinar a prevalência de reação adversa a frutos e alergia alimentar a frutos numa população pediátrica portuguesa e suas características sociodemográficas.
- b. Analisar os frutos frescos mais frequentemente causadores de RAA e AA na população estudada.
- c. Caracterizar as reações adversas a frutos frescos e avaliar os quadros clínicos de acordo com idade e alimento/frutos implicados.
- d. Conhecer o perfil de sensibilização dos frutos.
- e. Avaliar as diferenças de estudos *in vivo* e *in vitro* de acordo os grupos de frutos mais prevalentes.
- f. Caracterizar padrões clínicos, sensibilização e a reatividade cruzada a pólenes e látex.

3.3.3. Metodologia

Desenho do estudo

Estudo analítico populacional, transversal, que teve lugar durante dois anos escolares consecutivos (2009 a 2011), tendo como população-alvo todas as crianças dos 3 aos 11 anos de idade, a frequentar 53 jardins de Infância e 69 escolas do 1º ciclo do Ensino básico, públicas da região da Cova da Beira (Concelhos da Covilhã, de Belmonte e do Fundão). Esta é uma região com elevadas contagens polínicas e frequente sensibilização a pólenes (Loureiro, 2005; Lourenço, 2007), resultando em sintomas sazonais (Lourenço, 2007; Lourenço, 2009). As crianças cujos pais reportaram RAFr, conforme detetado por um questionário preliminar (Q1) foram referenciadas para consultas hospitalares de pediatria (Centro Hospitalar e Universitário Cova da Beira), onde foi aplicado um questionário confirmatório, mais completo (Q2) (Jorge, 2018). Este estudo teve como objetivo confirmar os frutos envolvidos, caracterizar os sintomas da reação mais grave com cada fruto, e determinar o tempo de latência entre a ingestão alimentar e o início de sintomas (reação precoce, se surgisse em menos de 2 horas, e reação retardada, se em mais de 2 horas).

Testes Cutâneos por picada

Os estudos *in vivo* incluíram TCP (Laboratorios LETI, Tres Cantos, Espanha) e/ou testes cutâneos por dupla picada (TCDP) / *prick-prick* com os frutos suspeitos. Os testes foram efetuados em duplicado na face interna dos antebraços. Uma gota de cada extrato comercial foi colocada sobre a pele e cada gota foi picada usando uma lanceta de plástico (Laboratóires Stallergènes, Antony, França). Efetuou-se registo do diâmetro maior de cada pápula. Pápulas com um tamanho ≥ 3 mm que o controlo negativo, foram consideradas como um resultado positivo. Os TCDP usaram a mesma metodologia, mas só foram efetuados com frutos frescos. Uma agulha 25G foi inserida nos frutos e o suco obtido foi colocado sobre a pele e picado com uma lanceta de plástico.

Os TCP com extratos de aeroalergénios também foram realizados usando a bateria *standard* europeia de aeroalergénios (Heinzerling, 2013).

Testes in vitro para IgE específicos de alergénios

Os testes *in vitro* consistiram na determinação dos níveis séricos de IgE específica para frutos frescos e látex, usando um método fluorométrico (Unicap 100 Phadia Diagnosis, Thermo Scientific®, Uppsala, Suécia) e foram considerados positivos quando os níveis foram iguais ou superiores a 0,35 KU_A / L. Uma análise semelhante também foi realizada para o rastreio da sensibilização aos aeroalergénios (Phadiatop inalantes ®, Phadia and Thermo Scientific, Uppsala, Sweden).

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Os soros das crianças com testes Unicap positivos para alergénios de frutos frescos também foram testados para a presença adicional de IgE específica para múltiplos alergénios alimentares e para aeroalergénios usando a plataforma ImmunoCAP ISAC (Thermo Fisher Scientific®, Uppsala, Sweden).

Definições utilizadas para alergia a frutos frescos

Considerou-se haver “reação adversa a frutos” (RAFr) em crianças com questionário inicial positivo (Q1).

Considerou-se haver “alergia possível a frutos frescos” (AFr possível), em crianças com uma história positiva de reação adversa a um ou mais frutos (questionário Q1 positivo), confirmada pelo questionário mais completo (questionário Q2 positivo). Considerou-se haver alergia possível a frutos frescos, não IgE-Mediada (AFr não IgE-Med) quando havia uma história positiva (Q1 e Q2 positivos), mas os TCP/TCDP e as IgE específicas eram negativos.

Considerou-se haver “alergia provável a frutos frescos” (AFr provável) em crianças com história positiva (Q1 e Q2 positivos) e TCP/TCDP e/ou IgE específica aos frutos envolvidos positivos. Considerou-se que fosse IgE-Mediada (IgE-Med) nesta situação.

Considerou-se “síndrome pólen-frutos” os casos de aparecimento imediato de sintomas orais e/ou periorais, com ou sem sintomas sistémicos, após a ingestão de frutos frescos ou vegetais, em crianças com manifestações de rinite/rinoconjuntivite sazonal e sensibilizações polínicas (Katelaris, 2010; Mastroilli, 2016).

Análise Estatística

Os dados foram analisados usando o *Statistical Package for Social Sciences*®, versão 21.0. A avaliação da normalidade foi feita para todas as variáveis da amostra, usando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Para a caracterização da amostra foi feita uma análise descritiva. O teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fischer foram usados no caso de variáveis nominais. A análise comparativa das variáveis quantitativas foi realizada por meio do teste *t* de Student ou teste U de Mann-Whitney, dependendo da distribuição das variáveis. Um valor de *p* inferior a 0,05 foi considerado significativo em todos os testes estatísticos.

3.3.4. Resultados obtidos

Prevalência de alergia possível a frutos frescos

De todas as 2474 crianças que responderam a Q1, 64 reportaram reação adversa a pelo menos um fruto (2,59% da população estudada; IC 95%:1,96-3,22) - RAfr (Figura 5).

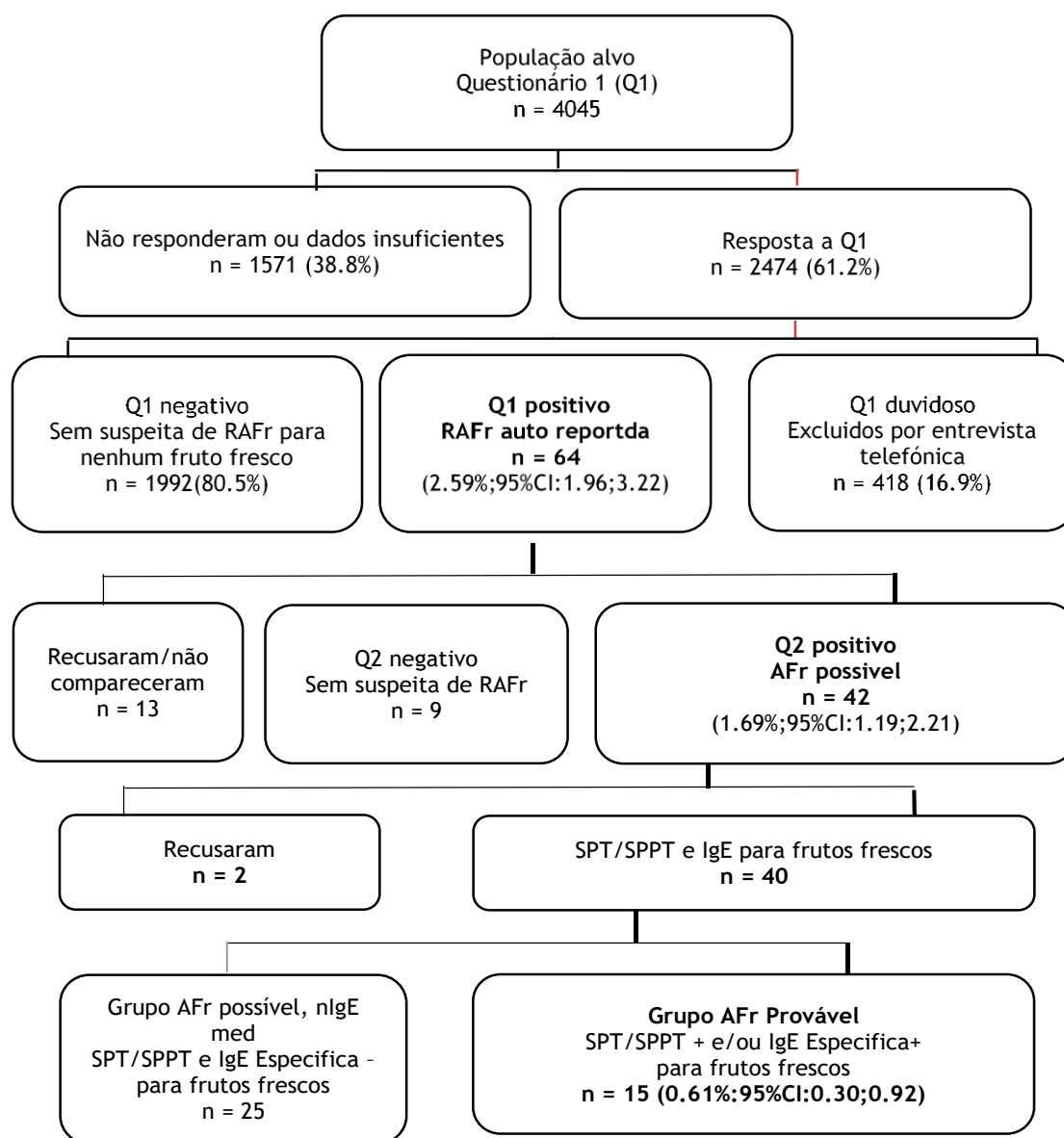


Figura 5- Desenho esquemático do estudo de alergia a frutos frescos

Das 64 crianças com Q1 positivo para frutos frescos, 51 crianças responderam ao questionário alargado (Q2) tendo 42 mantido suspeita de RAfr, sendo assim a prevalência de AFr possível de 1.69% (IC 95%:1.19-2.21) (Figura 5).

Prevalência de alergia provável a frutos frescos

Quarenta crianças (5 dos Jardins de Infância; 35 das escolas de 1º ciclo do Ensino Básico) completaram os estudos diagnósticos preconizados, com determinação de IgE específica e realização de TCP/TCDP para os frutos implicados. Foi confirmada reação IgE-Mediada em 15 das 40 crianças, com TCP e/ou IgE específica positiva para pelo menos um fruto. Isto indica uma prevalência de AFr provável de 0,61% (IC 95%:0,30-0,92); 25 crianças tiveram TCP negativos e IgE específicas para os alimentos suspeitos negativas, configurando situações de AFr possível não IgE-Mediada (grupo AFr nIgE-Med). (Figura 5)

Dados sociodemográficos

Na Tabela 16, pode observar-se a caracterização sociodemográfica da população geral, do grupo de crianças AFr provável, grupo AFr nIgE-Med. Em relação à faixa etária, todos os grupos eram semelhantes, com uma média etária de cerca de 7 anos (população geral: 7,06; AFr provável: 7,13; AFr nIgE-Med: 7,24) e predomínio das idades compreendidas entre os 6 e 8 anos para a população e o grupo AFr provável (53,2% e 66,7% respetivamente) e entre os 6 e 11 anos para o Grupo AFr nIgE-Med (76,0%). Relativamente ao sexo, na população geral houve equilíbrio de distribuição (razão F/M: 1,0/1,0); por outro lado, enquanto que no grupo AFr provável predominou o sexo masculino (F/M: 1,0/1,5), no Grupo AFr nIgE-Med predominou o sexo feminino (F/M: 2,1/1,0). Relativamente aos agrupamentos escolares, todos os grupos apresentaram uma proporção semelhante representativa de cada concelho da Cova da Beira.

Tabela 16- Caracterização sociodemográfica da população, AFr provável e AFr nIgEMed

		População*	AFr provável	AFr nIgEMed	p**
Total, n		2474	15	25	
Idade (anos)	média±δ	7,06±1,90	7,13±1,77	7,24±2,05	0,335
	[3-5]	497(20,1)	3(20)	6(24)	
Grupo etário, n(%)	[6-8]	1316(53,2)	10(66,7)	9(36)	
	[9-11]	654(26,4)	2(13,3)	10(40)	
	NE	7(0,3)	0(0,0)	0,0	
Sexo, n (%)	Feminino	1240(50,1)	6(40)	17(68)	0,083
	Masculino	1234(49,9)	9(60)	8(32)	

* Total de crianças que responderam ao Q1

**Valor de p calculado pelo teste exato de Fisher

RAfr nIgE- RAfr não IgE-Mediada; AFr provável- Alergia a frutos provável; NE- não especificado

Frutos implicados

Nas 64 crianças com RAfr autorreportadas em Q1, o morango e o kiwi foram os frutos mais implicados (0,69% cada) seguidos pelo pêsego, a banana e a laranja (0,32% cada).

Quando foi aplicado o questionário Q2, nas crianças que tinham tido um questionário Q1 positivo, a frequência da RAfr autorreportada foi significativamente menor, pois só 65% das crianças que inicialmente autorreportaram reação a frutos (em Q1), mantiveram esta suspeita em questionário alargado presencial (Q2). A frequência de RAfr por questionário foi de 2,59% em Q1 e 1,69% em Q2.

Encontraram-se semelhanças significativas entre os alimentos autorreportados com os dois questionários - Q1 e Q2. Em Q1, o morango e o kiwi foram os frutos mais reportados (0,69% cada) seguidos pelo pêsego, a banana e a laranja (0,32% cada). Com o Q2, nas 42 crianças com AFr possível foi reportada suspeita de reação a 83 frutos; das RAfr autorreportadas em Q2, o morango foi o fruto fresco mais reportado, seguido do kiwi e laranja: morango 0,76%; kiwi 0,44%; Laranja 0,32%. Os menos reportados foram a manga, a melancia, o figo, a pera, o diospiro, a cereja, a tangerina, a anona, a uva e a maçã.

As quarenta crianças que completaram o estudo *in vivo* e *in vitro* relataram 78 reações adversas aos frutos. O fruto fresco mais frequentemente relatado foi o morango, com uma prevalência de RAfr de 0,76% (IC 95% [0,42; 1,1]), seguida por kiwi e laranja - 0,44% cada (IC 95% [0,18; 0,70]), pêsego - 0,28% (IC 95% [0,07; 0,49]) e banana - 0,24% (IC 95% [0,05; 0,43]).

Nas 15 crianças com AFr provável, a sensibilização mediada por IgE foi demonstrada para 28 frutos. A maioria dessas crianças estava sensibilizada a apenas um fruto fresco (53%), embora uma elevada percentagem mostrasse sensibilização para dois ou mais frutos (47%), e 26,7% tivesse sensibilização para mais de dois frutos. Os frutos frescos mais implicados foram o kiwi, com uma prevalência AFr provável de 0,24% (IC 95% [0,05; 0,43]), seguido de pêsego - 0,20% (IC 95% [0,02; 0,38]), banana e morango - 0,16% cada (IC 95% [0,00; 0,32]) (Tabela 17).

No grupo das 25 crianças em que não foi demonstrada reação IgE-Mediada (Grupo AFr nIgE-Med) foram reportados 50 frutos causadores de reação adversa. Os mais frequentemente reportados foram o morango, a laranja e o kiwi. Já no Grupo AFr provável, os frutos mais implicados foram o morango, a laranja e o kiwi (Tabela 17).

Assim, das 40 crianças com AFr possível (autorreportada em Q2), 37,5% tinham AFr provável, com uma sensibilização IgE-Mediada, detetada por estudos *in vivo* e *in vitro*.

Para 36% dos frutos analisados (78 frutos em 40 crianças que terminaram estudos preconizados) foi possível demonstrar uma reação a frutos IgE-Mediada. Os frutos com maior frequência de

mecanismo mediado por IgE foram: o pêsego (71,4%), a banana (66,6%), o melão (60%) e o kiwi (54,5%). Em contraste, a percentagem de casos confirmados de mecanismos mediado por IgE foi baixa para o morango e a laranja (22 e 18,2%, respetivamente). É de referir que um mecanismo associado à IgE nunca foi confirmado em casos de RAfr para a tangerina, o limão, a maçã, a uva, o diospiro e a cereja (Tabela 17).

Tabela 17- Frutos implicados nas crianças com AFr possível, AFr provável, Grupo AFr nIgE-Med

	Crianças	Frutos todos	Morango	Kiwi	Laranja	Pêsego	Banana	Melão	Limão	Tangerina	Ananás	Outros*
AFr possível	40	78	19	11	11	7	6	5	3	3	3	10
AFr possível nIgE-Med	25	50	15	5	9	2	2	2	3	3	2	7
AFr provável	15	28	4	6	2	5	4	3	0	0	1	3
Confirmação de reação IgE-Med %	37,5	35,9	21,1	54,5	18,2	71,4	66,7	60	0	0	33,3	30
Idade do 1º contacto**		1,68	1,99	2,28	1,73	1,56	0,55	1,19	1,33	0,77	1,00	1,29
Idade 1ª reação**		2,42	2,32	2,38	2,51	3,12	1,93	2,80	1,83	2,00	2,00	3,38

*melancia (1), figo (1), pera (2), diospiro (1), maçã (2), uva (2), cereja (1)

** Anos

A idade da 1ª reação foi, em média, de 2,4 anos, sendo a idade média da 1ª ingestão aos 1,7 anos de idade para todos os frutos, variando esta diferença conforme os grupos de alimentos, sendo menor para o morango e o kiwi, maior para o pêsego e a banana (Tabela 17).

Manifestações clínicas

Caraterização clínica do grupo AFr possível nIgE-Med

Quanto às manifestações clínicas no grupo AFr nIgE-Med (AFr possível, não mediada por IgE), houve predomínio de reação mucocutânea, seguida de sintomas gastrointestinais (todos os frutos: urticária/angioedema 56%, SAO em 34% e GI 24%). A maioria das crianças apresentou reação monossintomática (76%) e o início dos sintomas ocorreu mais frequentemente depois das primeiras 2 horas após a ingestão (reação tardia) (52%). A anafilaxia foi rara, com apenas dois casos relatados de reação leve (banana e diospiro) (Tabela 18). Para cada fruto em particular e de forma semelhante a todas as RAfr, as manifestações clínicas mais frequentes foram mucocutâneas, com frequência variável de SAO (mais frequentes com a laranja, o ananás e o kiwi). As reações monossintomáticas foram as mais frequentes, com exceção de RAfr para o kiwi, a banana e a uva. Quanto ao início dos sintomas, houve predomínio de reações tardias, embora as reações tenham sido predominantemente imediatas com o kiwi, o abacaxi, o melão e o pêsego (Tabela 18).

Tabela 18- Caracterização clínica das AFr nIgE-Med

Frutos	Todos	%	Moran go	Laran ja	Kiwi	Limão	Tange rina	Bana na	Ana nás	Me lão	Pêsse go	Outros*
N	50		15	9	5	3	3	2	2	2	2	7
Idade do 1º contacto (A)	1,43		2.09	0.82	1,62	1,3	0,77	0,54	D	D	0,75	1,42
Idade 1ª reação(A)	2,46		2,46	2.01	1,62	1,8	2	0,54	D	2,5	4.87	3,9
Reação imediata	24	48	7	1	3	0	1	1	2	2	2	5
Urticária/angio edema	28	56	11	3	4	2	2	1	0	1	1	2
SAO	17	34	2	4	2	1	1	0	2	1	1	3
Respiratória	2	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Gastrointestinal	12	24	2	3	2	1	1	1	0	0	0	1
Anafilaxia	2	4	0	0	0		0	1	0	0	0	1
Mono /polissintomática	38/12	76/24	13/2	5/4	2/3	2/1	3/0	1/1	2/0	2/0	2/0	6/1

*diospiro (1), maçã (2), uva (2), cereja (1), pera (1)
D-desconhecido

Caraterização clínica do grupo AFr Provável

As manifestações mais comuns associadas à AFr provável foram as reações mucocutâneas (64,3% SAO, urticária/angioedema 57,1%) seguidas pelos sintomas respiratórios e gastrointestinais (GI) (21,4%). Não houve relatos de reações cardiovasculares. A maioria das reações (89,2%), teve início precoce após a ingestão (<2 horas). Foi imediata para todas as reações a pêssego, banana, melão, ananás, melancia, pera e figo. A maior parte foram monossintomáticas (75%) (Tabela 19). Para cada fruto em particular, a SAO também foi a manifestação mais comum, mas também foram observadas combinações com sintomas gastrointestinais e/ou respiratórios. A reação ao Kiwi teve manifestações clínicas mais diversificadas com urticária/angioedema, SAO e manifestações gastrointestinais em metade dos casos; 2/6 tiveram manifestações respiratórias. No entanto, nos casos de banana e morango, as únicas manifestações detetadas foram a SAO e a urticária/angioedema. A SAO não esteve associada à laranja ou ao figo. Anafilaxia foi relatada em quatro reações (14,3%), de gravidade leve a moderada, mas nenhuma reação anafilática grave foi identificada. Os frutos implicados em reações anafiláticas foram o kiwi, o pêssego, o melão e a laranja (Tabela 19).

Tabela 19- Caracterização clínica da AFr provável

Frutos	Todos	%	kiwi	Pêssego	Banana	Morango	Melão	Laranja	Outros*
N	28		6	5	4	4	3	2	4
Idade do 1º contacto(A)	2,05		2,7	1,83	0,55	1,43	1,75	4	1
Idade 1ª reação(A)	2,35		2,9	2,25	2,4	1,43	2,25	4	2
Reação imediata	25	89,2	5	5	4	3	3	1	4
Urticaria/angioedema	16	57,1	3	3	3	2	2	2	1
SAO	18	64,3	3	4	3	3	2	0	3
Respiratória	6	21,4	2	1	0	0	1	1	1
Gastrointestinal	6	21,4	3	0	0	0	1	1	1
Anafilaxia	4	14,3	1	1	0	0	1	1	0
Mono/polissintomática	21/7	75/25	4/2	4/1	3/1	4/0	2/1	1/1	3/1

*melancia(1), figo (1), pera(1), Ananás(1)

Estudos *in vivo* e *in vitro*

Em termos de concordância entre testes *in vivo* e *in vitro*, para todos os 28 frutos testados nas 15 crianças com AFr provável, 44,4% tiveram TCP e/ou TCDP positivos, 92,3% tiveram IgE específica positiva para os frutos suspeitos, e houve concordância entre TCP positivo e IgE específica positiva em 28,5% dos casos. A concordância entre IgE positivo e TCP positivo foi mais frequente com o melão, o kiwi e o pêssego. Os TCP/TCDP para a banana, o morango, o abacaxi e a pera foram sempre negativos (Tabela 20).

Todas as AFr prováveis tinham sensibilização associada a alérgenos de pólenes, particularmente de gramíneas e de árvores (oliveira). Considerando que 8 das 15 crianças com sensibilizações polínicas e manifestações de rinite/rinoconjuntivite sazonal, bem como com AFr IgE-Mediadas, apresentavam SAO isolado ou em conjunto com outros sintomas após ingestão de frutos, a prevalência de síndrome pólen-frutos foi de 0,32% (8/2474). Todas as crianças com AFr da família *Rosaceae* (morango, pera e pêssego) estavam sensibilizadas ao pólen de gramíneas.

A maioria das crianças com AFr ao kiwi, à banana, ao melão e à melancia (71,6%), também estavam sensibilizadas ao látex (Tabela 20); contudo, estudos de ISAC mostraram que apenas 2 dessas crianças estavam sensibilizadas à profilina Hev b 8 (Tabela 21).

Tabela 20- Caracterização dos estudos *in vivo* e *in vitro* das AFr IgE-Mediadas

	Todos frutos	Kiwi	Pêssego	Banana	Morango	Melão	Laranja	Outros*
Total, n	28	6	5	4	4	3	2	4
IgE específica+ /Pedidos	24 /26	5/6	5/5	4/4	4/4	1/3	1/2	4/4
IgE específica Média	8,35	7,47	5,23	2,1	1,64	2,41	26,1	23,4
TCP/TCDP+ (pedidos)	12(27)	4(6)	2(4)	0(4)	0(4)	3(3)	1(2)	2(4)
IgE+ e TCP+	8	3	2	0	0	1	0	2**
IgE total- Média	678	967,6	402,28	596	1204,3	114,8	35,5	662
Pólenes+ /pedidos	24/24	5/5	4/4	3/3	4/4	3/3	2/2	3/3
Gramíneas+ /pedidos	21/22	4/4	3/3	¾	4/4	3/3	2/2	3/3
Ervas daninhas+ /pedidos	13/20	3/6	1/1	2/2	1/3	3/3	2/2	1/3
Árvores+ /pedidos	20/21	5/6	3/3	2/2	4/4	3/3	2/2	3/3
IgE + látex /pedidos	9/14	4/6	0/0	2/4	0/0	2/3	0/0	1/1
IgE látex Média	3,67	2,85	-	6,23	-	3,4	-	2,39***

*melancia (1), figo (1), pera (1), ananás (1)

**figo, melancia

***melancia

Os resultados individuais estão apresentados na Tabela 21. Nesta tabela, também figuram os principais resultados obtidos por ISAC, em soros de 11 crianças.

Considerando as 11 crianças nas quais os soros foram testados por ISAC, observou-se que 7 estavam sensibilizadas a LTPs, das quais 3 estavam sensibilizadas a múltiplas moléculas desta família. Em particular, havia 6 casos de sensibilização a Pru p 3; estas crianças não tinham reações mais graves após ingestão de frutos da família das *Rosacea* do que crianças não sensibilizadas a esta LTP e, na realidade, uma das crianças sensibilizadas a Pru p 3 (caso 7) não tinha queixas após ingestão desse tipo de frutos. Por outro lado, apenas uma das 11 crianças testadas pela técnica de ISAC, tinha sensibilização a profilinas ligadas à síndrome pólen-frutos (Bet v 2).

Tabela 21- Dados individuais das crianças com AFr IgE-Mediadas

CASOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Idade (A)	5	8	8	8	7	10	7	5	8	6	3	8	8	8	7
Sexo	F	F	M	M	F	M	M	M	F	M	M	M	F	M	M
IgE T(KU/l)	2968	35,1	639	1072	1516	720	144	75,4	49	28,6	175	369	702	636	227
Fx5E	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	NF	+	+
Phadiatop (KUA/l)	>100	0.40	53,9	>100	>100	83.7	25,30	1,54	8,45	0,97	0,68	83,7	94,5	+	>100
Atopia															
Pessoal	S	N	S	S	S	S	N	S	N	S	S	S	S	S	S
Familiar	S	S	S	S	S	S	S	S	S	N	S	S	S	N	S
Sensibilização															
árvores	S	S	S	S	?	S	N	S	?	S	?	S	S	S	S
gramíneas	S	S	S	S	?	S	S	S	?	S	S	S	S	S	S
ervas	S	S	S	N	?	S	S	?	?	N	?	S	S	S	?
látex	S	N	S	-	S	N	S	-	-	N	N	S	S	S	N
AFr (TCP/IgE)+	kiwi morango	Laranja	banana	morango	pêssego banana pera	kiwi	kiwi	pêssego morango	pêssego	kiwi figo	banana	pêssego melão melancia	kiwi morango melão ananás	kiwi melão laranja	pêssego
Sintomas															
Urticária/angioedema	S	S	S	S	N	S	N	S	S	N	S	S	S	S	S
Respiratórios	N	N	N	N	N	N	N	S	N	S	N	N	N	N	N
Digestivos	S	N	S	N	S	S	N	N	S	N	N	S	S	N	S
Reação Imediata	S	N	S	N	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Outras AA	Amendoim Ovo Leite	-	Ovo Peixe Crustáceos moluscos	-	Amendoim Ovo	-	-	-	-	-	Ovo	Tomate	-	Feijão Carne porco espinafres Ovo Leite	-
Sensibilização	Tomate		Tomate		Látex		Tomate					Tomate	Tomate	Látex	
Outros frutos /latex	Melão Banana Abacate Papaia Castanha Melancia Manga Látex		Melão Batata Abacate Papaia Castanha Melancia Kiwi Látex				Melão Banana Batata Abacate Castanha Melancia Manga Látex						Banana Batata Abacate Papaia Castanha Melancia Manga Látex		
ISAC- Alergénios recombinantes positivos (ISU-E)															
Específicos	amendoim	-	ovo bacalhau camarão	-	-	kiwi	noz				ovo				
Gramíneas	S	N	S	S	N	S	S	S	S	N	N				
Árvores	S	N	S	S	N	S	S	N	N	N	N				
Ervas	N	N	N	N	N	S	S	N	N	N	N				
LTP	Ara h 9 Cor a 8 Jug r 3 Pru p 3 Art v 3 Pla a 3	Neg	Ole e 7	Pru p 3	Neg	Ara h 9 Pru p 3	Cor a 8 Jug r 3 Pru p 3 Art v 3 Pla a 3	Ara h 9 Cor a 8 Jug r 3 Pru p 3 Art v 3 Pla a 3	Pru p 3	Neg	Neg				

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

CASOS Cont.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
PR 10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Bet v 1 Aln g 1 Cor a 1.040 Mal d 1 Pru p 1	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg				
Profilinas	Bet v 2 Hev b 8 Mer a 1 Phl p 12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Hev b8	Neg	Neg	Neg	Neg				
Outros	Bos d 6														

Ainda, em relação às 11 crianças cujos soros foram testados por ISAC, em termos de alérgenos recombinantes, observaram-se os seguintes agrupamentos “fenotípicos”, em termos de panalérgenos recombinantes: 4 crianças estavam sensibilizadas a LTPs de forma isolada; 2 estavam sensibilizadas a LTPs e a profilinas; 1 estava sensibilizada a LTPs e a PR10 e 3 não estavam sensibilizadas a LTPs, profilinas ou PR10 testadas. Não se encontraram diferenças em termos de manifestações clínicas, entre estes perfis de sensibilização molecular. Também não se encontraram diferenças significativas entre estes perfis, em termos de leque de sensibilizações não clínicas, a outros frutos frescos (Tabela 21).

Quanto a frutos implicados na síndrome-látex-frutos, das 9 crianças com queixas após ingestão de frutos envolvidos nessa síndrome (7 das quais também analisadas através de ISAC), apenas se detetou a profilina Hev b 8 em 2 (casos 1 e 7).

3.3.5. Discussão

Este é um estudo pioneiro, o primeiro em Portugal e um dos primeiros no mundo em que a população alvo é a população pediátrica geral, fora do contexto de uma consulta de imunoalergologia, e que tem como foco o estudo de alergias a frutos frescos. É, assim, o primeiro estudo português sobre a prevalência de alergia a frutos frescos com base na população pediátrica geral e que usou um questionário previamente desenvolvido e validado (Jorge, 2018).

A prevalência das RAAs e AAs a alérgenos vegetais ainda é incerta, particularmente para o grupo alimentar dos frutos, sendo ainda relativamente pouco conhecida para cada fruto em particular (Lee, 2006). Este estudo determinou, pela primeira vez, dados epidemiológicos de AFr na população pediátrica portuguesa.

Para este estudo, procurou-se ter uma abordagem metodológica cuidadosa, que permitisse determinar o valor de alergia provável a frutos frescos. O uso de frequências pontuais de AAF em vez de frequências cumulativas, calculadas com o uso de testes biológicos *in vivo* (SPT e SPPT) e serológicos (IgE específicas contra alergénios totais e componentes moleculares) e não apenas o uso isolado de um questionário de autorreporte, permitem a determinação da prevalência provável, evitando, ao mesmo tempo, a sobrevalorização destas, que geralmente se observa quando os valores de prevalência se baseiam apenas no autorreporte (Morais Almeida, 1999; Zuidmeer, 2008; Ramesh, 2008). Por outro lado, também a seleção dos extratos dos alergénios para os TCP, que foi baseada na história clínica e não numa bateria padronizada de grupos de alergénios, permite evitar resultados de falsos positivos devidos a sensibilização ou reatividade cruzada (cerca de 50% de casos descritos por Ramesh) (Ramesh, 2008) ou mesmo a presença de sensibilização alérgica sem tradução clínica, de interpretação difícil, dada a baixa especificidade nomeadamente dos TCP (Soares-Weiser, 2014). Finalmente, a aplicação de um segundo questionário presencial permitiu a confirmação de RAfr relatada no questionário preliminar, através de uma história clínica detalhada, que é um elemento-chave no diagnóstico de AFR (Ramesh, 2008; Kummeling, 2009).

A prevalência de RAfr autorreportada, baseada em inquérito não presencial (Q1), foi de 2,59% (IC 95%:1,96;3,22) que é significativamente mais elevada (cerca de 1,5 vezes superior) do que a obtida através de questionário estruturado presencial (Q2), aplicado pelo investigador, que foi de 1,69% (CI 95%:1,19;2,21), representando esta a situação de alergia alimentar “possível”. Para além disso, a prevalência obtida quer por questionário não presencial quer presencial (Q1 ou Q2) foi significativamente mais elevada do que a confirmada por testes de hipersensibilidade *in vitro* e *in vivo*, em crianças com história clínica sugestiva, e que corresponde a prevalência de AFR provável, que foi de 0,61% (IC 95%:0.30-0.92). Outros estudos mostraram este tipo de discrepância (Morais Almeida, 1999; Roher, 2003; Venter, 2006; Zuidmeer, 2008; Ramesh, 2008; Fernández-Rivas, 2009), tal como observado com outros tipos de alimentos e que demonstram que os pais sobrevalorizam as reações adversas a alimentos, uma boa proporção das quais não é confirmada por testes complementares de diagnóstico (Ramesh 2008).

Os alimentos mais frequentemente implicados em AA em crianças são o ovo, o leite e o amendoim, tal como verificado num estudo transversal recente, efetuado em Espanha (Fernández Rivas, 2008 e 2009). Neste estudo, embora os frutos frescos fossem o principal grupo alimentar envolvido na AA em todas as faixas etárias, tiveram menor relevância na faixa pediátrica, ocupando o terceiro lugar no grupo etário de 6 a 15 anos. No entanto, na população pediátrica da Cova da Beira, os frutos frescos foram o principal grupo de alimentos implicados na AA na faixa etária dos 3 aos 11 anos (Jorge, 2017). Esta elevada frequência em crianças, parece estar relacionada com uma importante variante geográfica dos hábitos alimentares da região mediterrânica, cuja dieta é rica em frutos frescos (Madsen, 1997; Fernández Rivas, 2008; Ramesh, 2008) e com o aumento do consumo de frutos exóticos nos países ocidentais (Morais

Almeida, 1999, Ramesh, 2008). Por outro lado, o leite e o ovo, são os alimentos mais implicados na RAA antes dos dois anos de idade, grupo etário não avaliado no nosso estudo (Crespo, 1995; Morais Almeida, 1999; Fernández Rivas, 2009). Assim, a alergia alimentar a frutos frescos parece representar uma fatia cada vez maior das AA na população pediátrica, tal como exposto por Warner, em crianças inglesas (Warner, 2009) e à semelhança de outros países europeus tais como a Holanda (Van Bockel-Geelkerken, 1992; Ramesh, 2008).

A frequência de AFr no nosso estudo foi semelhante à de outros estudos europeus, sendo geralmente <1% (Brugman, 1998; Zuidmeer, 2008), sendo o kiwi (2-14 anos: 0,8%) e o pêsego os frutos mais frequentemente implicados (Madsen,1997; Rancé, 2005). No nosso estudo, os frutos mais prevalentes foram o kiwi (0,24%) e o pêsego (0,2%), seguidos da banana e do morango. Como também avaliado em outros estudos, a laranja e o morango, frequentemente implicados nas RAFr, poucas vezes são confirmados desencadeando uma reação IgE-Mediada, provavelmente devido ao facto de estes frutos poderem estimular diretamente os mastócitos a libertar histamina, mimetizando uma verdadeira alergia a frutos (van Bockel-Geelkerken, 1992; Brugman1998; Venter, 2006; Zuidmeer, 2008; Ramesh, 2008). No nosso estudo, a prevalência de AFr possível (Q2+) para morango foi de 0,76%, mas a alergia IgE-Mediada provável a morango foi de apenas 0,16%, uma diferença também encontrada para a laranja (0,44% versus 0,08%, respetivamente). Contudo, diferenças na metodologia e grupos etários incluídos, dificultam a comparação entre o nosso e outros estudos (Zuidmeer, 2008; Ramesh, 2008).

Um aspecto interessante é o da idade de início de alergias a frutos frescos. De acordo com a literatura, a AFr tende a aparecer mais tarde na infância, tal como descrito por Crespo e colaboradores (1995) em estudo em crianças espanholas no qual em cerca de 80% dos casos, as manifestações surgiam acima dos 2 anos de idade, o que também se verificou nos estudos de Fernández-Rivas *et al* (Fernández-Rivas 2008 e 2009), nos quais cerca de 40% de crianças espanholas avaliadas, tinham sintomas acima dos 16 anos de idade, bem como no estudo de Morais de Almeida *et al*, em crianças portuguesas observadas em consulta de especialidade, no qual a maior parte dos casos surgiam em crianças com mais de 12 anos de idade (Morais de Almeida, 1999). De qualquer forma, uma revisão sistemática de 2008, envolvendo 36 estudos efetuados em mais de 250.000 crianças, adolescentes e adultos, mostrou que a prevalência de alergia a frutos era maior nas crianças do que nos adolescentes e nos adultos (Zuidmeer, 2008). Apesar da média de idades da nossa amostra ser de sete anos, os nossos resultados mostram que os primeiros sintomas com frutos frescos ocorreram bastante cedo na infância, em média por volta dos 2,5 anos de idade, tanto para a AFr possível como AFr provável. Este resultado pode ser devido ao facto de termos procurado ativamente e especificamente a idade de início dos sintomas com frutos frescos, permitindo assim detetar reações em idades mais precoces (Ivkovic-Jurekovic, 2015), e ainda ao facto de os frutos frescos serem precocemente introduzidos na dieta das crianças portuguesas.

Quanto à distribuição por sexos, no grupo de crianças com AFr provável, houve um predomínio franco do sexo masculino enquanto esta relação masculino/feminino se revelou invertida no grupo AFr possível. Estes resultados são semelhantes aos de outros estudos que também mostraram uma prevalência de AA superior nos rapazes em relação às raparigas (Morais Almeida, 1999; Pyrhönen, 2011). Também Fernández-Rivas (2009) encontrou maior proporção de reações alérgicas no sexo masculino, mas apenas em crianças com sensibilização ao leite (18,0% vs. 10,1%), sem diferenças para os outros alimentos, enquanto Sicherer encontrou associação do género masculino com alergia ao peixe e com sensibilização ao amendoim (Sicherer, 2003 e 2010).

Em termos de carga de sensibilização, a alergia a mais que dois frutos foi frequente no nosso estudo, tendo ocorrido em 26,7% das crianças, o que reflete a elevada reatividade cruzada entre frutos frescos (e vegetais), também demonstrada em outros estudos (Crespo, 1995; Vieira, 2014).

No que diz respeito a manifestações clínicas, tanto nas reações a frutos IgE-Mediadas como nas não IgE-mediadas, as principais manifestações clínicas foram os sintomas mucocutâneos, com a SAO mais frequentemente implicada nas reações IgE-Mediadas (64,3%) do que nas não IgE-Mediadas (34%), uma diferença que também foi reportada em outros estudos (Morais Almeida, 1999; Fernández Rivas, 2009; Warner, 2009). No entanto, Rancé *et al*, num estudo que envolveu crianças francesas em idade escolar, encontrou idêntica proporção de reações mucocutâneas e gastrointestinais nomeadamente para o kiwi e frutos exóticos (Rancé, 2005). No nosso estudo, as reações gastrointestinais foram reportadas em percentagem idêntica nas reações IgE-Mediadas e não IgE-Mediadas, enquanto que as reações respiratórias foram mais frequentes nas AFr IgE-Mediadas do que nas AFr não IgE-Mediadas e estiveram associadas ao kiwi, ao pêsego, ao melão, à laranja e ao figo. Finalmente, as reações anafiláticas desencadeadas por frutos frescos foram raras no nosso estudo e de gravidade ligeira a moderada (14% no grupo AFr provável), o que foi semelhante ao observado no estudo de Rancé, efetuado em crianças francesas, e no qual não se observaram casos de choque anafilático com a ingestão de frutos (Rancé, 2005), mas constituiu um valor claramente inferior ao reportado num estudo multicêntrico com dados recolhidos em crianças, adolescentes e adultos espanhóis, e no qual se detetaram cerca de 20% de casos de anafilaxia (Fernández-Rivas, 2009). Contudo, é difícil compararmos os nossos valores com os destes estudos, uma vez que, no estudo de Rancé, apenas foi investigada sensibilização, em termos de frutos, a frutos exóticos como o Kiwi, e no estudo de Fernández-Rivas, os dados não são específicos de crianças. De qualquer forma, é possível que a prevalência de casos de anafilaxia com a ingestão de frutos frescos seja baixa, como sugerido em estudos efetuados em crianças e adolescentes alemãs (Roehr, 2004), dinamarquesas (Österballe, 2005) ou turcas (Orhan, 2009), como exemplos, embora nenhum destes estudos se tenha focado especificamente na alergia a frutos frescos nestas faixas etárias.

O predomínio de SAO no grupo AFr provável está possivelmente relacionado com a elevada prevalência de polinose nas crianças em estudo, com reatividade cruzada com alérgenos lábeis da Classe 2 (Profilinas), ou LTPs presentes nas frutas ingeridas e nos pólenes inalados - Síndrome pólenes-frutos (Fernández-Rivas, 2008; Ramesh, 2008; Fernández-Rivas, 2009; González-Mancebo, 2011; Brown, 2014; Asero, 2015; Carlson, 2019). Em relação à polinose, Loureiro *et al* (2005), verificou que a Cova da Beira é uma zona de Portugal com valores muito elevados de sensibilização a pólenes, sendo a sensibilização a aeroalérgenos superior na população pediátrica, dados estes confirmados por um estudo posterior, efetuado em doentes asmáticos da mesma região (Lourenço, 2007). No nosso estudo, também se verificou maior associação da Síndrome Pólen-Frutos com os frutos da família da *Rosaceae* (pera e pêsego), mas também com as famílias *Cucurbitaceae* (Melancia) e *Bromeliaceae* (Ananás), tal como parece ser frequente, em revisão de casuística efetuada por Ramesh e colaboradores (Ramesh, 2008).

Também no âmbito de reações cruzadas, observámos, no nosso estudo, que, dos 14 frutos com reatividade cruzada conhecida com o látex, nomeadamente o kiwi, a banana, o melão e a melancia, foi demonstrada sensibilização ao látex em crianças sensibilizadas a 10 desses frutos, sugerindo reatividade cruzada. A sensibilização ao látex tem sido associada a AFr, com uma prevalência mais elevada na população adulta conforme demonstrado, por exemplo, no estudo de Garcia-Ortiz, que verificou que 85,9% dos indivíduos com alergia a frutos estão sensibilizados ao látex (Garcia Ortiz, 1998). Um estudo anterior, efetuado na população geral de crianças em idade escolar, na região da Cova da Beira, mostrou que a prevalência de sensibilização ao látex era de 14,3% e que 61,5% das crianças sensibilizadas ao látex estavam sensibilizadas a frutos com reatividade cruzada com látex (Jorge, 2006). Finalmente, tal como no presente estudo em que encontramos sensibilização simultânea ao melão, à melancia e ao látex, também Garcia-Ortiz demonstrou uma elevada prevalência de síndrome látex-frutos para frutos da família das *Cucurbitaceae* (Garcia-Ortiz, 1998). Estes resultados corroboram a necessidade de efetuar estudos de reatividade cruzada em crianças com alergia a frutos e risco individual de alergia ao látex.

Encontrámos uma prevalência global baixa de síndrome pólen-frutos (SPF) (0,32%), embora correspondesse a cerca de 50% do valor dos casos de AFr encontrados. Este dado é interessante, uma vez que a Cova da Beira é uma zona de elevadas contagens polínicas e na qual a percentagem de sensibilizações polínicas, particularmente a gramíneas e a oliveira é elevada (Loureiro, 2005; Lourenço, 2007 e 2009; Caeiro, 2017). No nosso estudo, todas as crianças com alergia provável a frutos frescos estavam sensibilizadas a pólenes, particularmente a gramíneas e a oliveira, com muito pouca sensibilização a bétula. É difícil comparar os nossos valores com os de outros estudos primeiro porque raramente foram estudadas crianças, em termos de epidemiologia deste tipo de síndrome. Por outro lado, a maior parte dos estudos tem uma abordagem diferente, pois estuda a prevalência de SPF em doentes com manifestações

respiratórias polínicas, como se pode observar num estudo em adultos espanhóis, de 2000 (Cuesta-Herranz, 2000) ou num estudo mais recente, efetuado em adultos turcos, em 2019 (Özdemir, 2018), em áreas comparáveis com as da Cova da Beira, onde há uma relativamente baixa carga polínica de bétula e de Ambrosia.

No nosso estudo, quisémos efetuar uma avaliação mais aprofundada, em termos de panalergénios recombinantes, nas crianças com manifestações compatíveis com síndrome pólen-frutos (SAO isolado ou com outros sintomas pós-ingestão de frutos frescos), em comparação com crianças sem manifestações compatíveis (sem SAO). Todas estas crianças eram atópicas e tinham sensibilizações a pólenes de gramíneas e/ou árvores e/ou ervas. Contudo, não encontrámos diferenças entre estes dois tipos de fenótipos, nem em termos de sensibilizações associadas, nem em termos clínicos. Considerando as 11 crianças nas quais os soros foram testados por ISAC, observou-se que 7 estavam sensibilizadas a LTPs, das quais 3 estavam sensibilizadas a múltiplas moléculas desta família. Em particular, havia 6 casos de sensibilização a Pru p 3; estas crianças não tinham reações mais graves após ingestão de frutos da família das *Rosacea* do que crianças não sensibilizadas a esta LTP e, na realidade, uma das crianças sensibilizadas a Pru p 3 (#7) não tinha queixas após ingestão desse tipo de frutos. Por outro lado, apenas uma das 11 crianças testadas pela técnica de ISAC, tinha sensibilização a profilinas ligadas à síndrome pólen-frutos (Bet v 2).

Ainda, em relação às 11 crianças cujos soros foram testados por ISAC, em termos de alergénios recombinantes, observaram-se os seguintes agrupamentos “fenotípicos”, em termos de panalergénios recombinantes: 4 crianças estavam sensibilizadas a LTPs de forma isolada; 2 estavam sensibilizadas a LTPs e a profilinas; 1 estava sensibilizada a LTPs e a PR10 e 3 não estavam sensibilizadas a LTPs, profilinas ou PR10 testadas. Não se encontraram diferenças em termos de manifestações clínicas, entre estes perfis de sensibilização molecular. Também não se encontraram diferenças significativas entre estes perfis, em termos de leque de sensibilizações não clínicas, a outros frutos frescos recombinantes, observámos 4 perfis de sensibilização diferente: 4 crianças estavam sensibilizadas a LTPs de forma isolada; 2 estavam sensibilizadas a LTPs e a profilinas; 1 estava sensibilizada a LTPs e a PR10 e 3 não estavam sensibilizadas a LTPs, profilinas ou PR10 testadas. Estes aspetos fenotípicos deverão, contudo, ser estudados em amostra bastante mais alargada, e de forma específica, pois é possível que haja diferentes endotipos de sensibilização, com associações clínicas diferentes. De facto, um estudo multicêntrico italiano avaliou endotipos (de facto, mais propriamente “fenótipos moleculares”) de SPF em crianças com rinoconjuntivite alérgica sazonal, em 1271 crianças e adolescentes (Mastrorilli, 2016). Este estudo, que encontrou uma prevalência de 24% de SPF na amostra de crianças estudadas, detetou, por análise de clusters, cinco endotipos diferentes, com implicações diferentes:

- a. “SPF com multi-panalergénios”: cossensibilização a ≥ 2 panalergénios, doença mais grave, com frequentes comorbidades alérgicas e sensibilizações alimentares múltiplas;
- b. “SPF com mono-panalergénio - profilina”: sensibilização isolada a profilina, SAO desencadeado por *Cucurbitaceae*;
- c. “SPF com mono-panalergénio - LTP”: sensibilização isolada a nsLTP; doentes geralmente habitando no sul da Itália, SAO desencadeado por avelã e amendoim;
- d. “SPF com mono-panalergénio - PR-10”: doentes com SAO desencadeado por *Rosaceae*;
- e. “SPF sem panalergénios”: sem sensibilização demonstrável a panalergénios, doença ligeira e SAO desencadeado pelo kiwi.

Globalmente, o nosso estudo sugere que a melhor abordagem diagnóstica de AFr em doentes com suspeita de alergia a frutos é a realização concomitante de testes *in vivo* e *in vitro*, tal como descrito por Cocco *et al* (2007). No entanto, para alguns frutos como a banana, o morango, o ananás e a pera, os testes *in vitro* parecem ser mais relevantes.

O nosso estudo tem algumas limitações. Em primeiro lugar, não foi possível confirmar as situações de AFr provável, através de PPODC controlada com placebo, que é considerado o padrão-ouro no diagnóstico de AA (Morais de Almeida, 1999; Rancé, 2005; Cocco, 2007; Carrapatoso, 2009), levando a uma possível sub ou sobrevalorização da verdadeira prevalência, por falha de identificação de casos com sintomas sugestivos, mas testes negativos, e associação errónea de clínica sugestiva à sensibilização a frutas, respetivamente. Em segundo lugar, embora houvesse uma taxa de resposta razoável ao Q1, a subpopulação que não respondeu (38,8%) pode não ser idêntica à população que respondeu, eventualmente devido a uma menor tendência a responder pela ausência de atopia/RAFr (Morais de Almeida, 1999; Lack, 2008), RAFr com menor gravidade ou reação a frutos que podem ser facilmente excluídos da dieta (Eggesbø, 2001; Zuberbier, 2004). Em terceiro lugar, o viés inerente aos estudos de prevalência populacional associado ao questionário (Rancé, 2005; Ramesh, 2008) e ao fato de a população-alvo incluir apenas crianças matriculadas em escolas públicas pode ter influenciado os nossos resultados. Além disso, alguns pais recusaram participar neste estudo por já se encontrarem em seguimento em consulta de alergologista. Em quarto lugar, apenas conseguimos efetuar estudos moleculares em 11 das 15 crianças com alergia provável, o que prejudicou a nossa capacidade de deteção de padrões moleculares em termos de panalergénios. Claramente, há necessidade de se efetuarem estudos multicêntricos, com amostras mais alargadas, de áreas polínicas e não polínicas, efetuando estudos moleculares mais detalhados e alargados. Em quinto lugar, o estudo molecular não incluiu panalergénios mais recentemente descritos, como as proteínas reguladas pela giberelina, como a Pru p 7, no pêsego e a BP14 no cipreste (Sénéchal, 2017) e que podem ter significado clínico (Sénéchal, 2019). Finalmente, como a prevalência de AFr foi baixa e foi ainda menor para cada fruto em particular, é difícil realizar análises estatísticas, estudos comparativos e encontrar padrões clínicos e laboratoriais (Zuidmeer, 2008).

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Em conclusão, este primeiro estudo na população pediátrica portuguesa, efetuado numa região de elevadas contagens polínicas, contribuiu para o conhecimento epidemiológico das AFr em idade pediátrica. A prevalência de alergia provável a frutos, IgE-Mediada é de 0,61% e a de síndrome pólen-frutos é de 0,32%. A sensibilização a mais de uma fruta é frequente; as manifestações clínicas da alergia a frutas são tipicamente mucocutâneas, nomeadamente síndrome de alergia oral, precoces e monossintomáticas. A reatividade cruzada com pólenes e látex é muito frequente. Estudos mais alargados, focando-se na deteção de possíveis *clusters* de fenótipos de sensibilização em crianças são necessários.

3.4. Fatores de risco para alergia alimentar

3.4.1. Introdução

O aparecimento de AA parece resultar da conjugação de vários fatores genéticos e ambientais pré e pós-natais. Assim, para além dos fatores hereditários, a maturidade do sistema imunitário, fatores microbianos (contacto precoce com agentes infecciosos do meio ambiente e intestinais, flora intestinal), fatores dietéticos (vit D, Ac gordos, antioxidantes), exposição a alergénios (dieta materna, o tipo de alimentação desde o nascimento), o ambiente, entre outros, têm sido implicados e alvo de investigação (Halken, 2004; Sausenthaler, 2007; Du Toit, 2013; Shroba, 2018).

Antecedentes pessoais de alergia são fatores de risco consensuais para AA (Calvani, 2011; Du Toit, 2013). Por exemplo, a presença de eczema atópico parece ser um fator facilitador da sensibilização a alergénios alimentares, por via transdérmica. Por outro lado, antecedentes familiares de atopia, nomeadamente a presença de asma, rinite, eczema atópico e AA nos familiares é frequentemente associada à presença de alergia alimentar em crianças (Rancé, 2005; NIAID, 2010; Ebisawa, 2017). O risco é significativamente maior se existe história familiar de atopia, em especial na mãe, ou ainda maior se os dois pais forem atópicos (Chandra 1993; Kumar, 2011; Pyrhönen, 2011). No estudo populacional em crianças até aos 4 anos, Pyrhönen e colaboradores concluíram que a probabilidade de AA era três vezes maior se ambos os pais relatassem ter alergias e duas vezes maior se apenas a mãe ou o pai tivessem alergias, quando comparados com crianças cujos pais não relatassem nenhuma alergia. Nesse estudo, o risco estimado de AA aumentou 1,3 vezes para cada manifestação alérgica adicional nos pais (Pyrhönen, 2011).

Estudos norte-americanos mostraram haver algumas diferenças raciais em termos de prevalência de alergias alimentares. Assim, indivíduos de raça não branca e os negros não hispânicos parecem ter um risco aumentado para AA (Sicherer, 2010; Liu, 2010), tal como foi demonstrado num estudo americano de prevalência realizado por entrevista telefónica, que encontrou uma prevalência de alergia ao peixe de 3,1% nos inquiridos de raça negra e 1,8% nos indivíduos de raça branca (Sicherer, 2004) e também no *Boston Birth Cohort*, relativamente à sensibilização ao ovo e amendoim (Kumar, 2011).

Vários outros fatores de risco e fatores protetores também têm sido estudados, mas com menos grau de relevância (Hong, 2012). Ser rapaz mostrou-se um fator de risco para AA em geral (Pyrhönen, 2009), para alergia ao leite (Fernández-Rivas, 2009) ao peixe (Sicherer, 2004), e ao amendoim (Sicherer, 2010). A exposição ao fumo de tabaco pré e pós-natal, sendo a mãe

fumadora ou por exposição parental, mostrou ser um fator de risco para sensibilização a aeroalergénios e alergia alimentar (Keil, 2009; Hong, 2012). A prematuridade e o baixo peso ao nascimento, foram também associados a aumento do risco de AA, considerando os estudos em que o intestino destes bebés é imaturo e com maior permeabilidade para macromoléculas (Hong, 2012; Chandran, 2012). No entanto, outros estudos não mostraram diferenças significativas (Kumar, 2008) e, pelo menos um estudo japonês, encontrou uma prevalência de AA menor nas crianças nascidas com baixo peso ao nascer (8,1%), do que nas crianças nascidas com peso adequado (11,2%) (Hikino, 2001). A menor duração do sono, aparentemente indutora de inflamação sistémica, tem sido associada a maior risco de AA, tendo sido encontrada uma relação direta e dose dependente entre a duração de sono e a sensibilização a alergénios alimentares e aeroalergénios (Zhang, 2011). Também o estado pró-inflamatório característico da obesidade em crianças (e em adultos) pode ter uma relação com um maior risco de AA (Visness, 2009).

Ainda, a exposição a fatores socioeconómicos, pode ter alguma relevância, conforme demonstrado num estudo caso-controlo em 16247 crianças finlandesas de 2-3 anos de idade, no qual um baixo nível económico materno se associou a um menor risco de alergia ao leite (Metsala, 2010), embora vários fatores potencialmente confundentes não tenham sido controlados.

A exposição a antimicrobianos e a hipótese higiénica têm sido estudados, considerando que a alteração da normal colonização do intestino facilita o aparecimento de AA (Wold, 1998). Assim, o parto por cesariana, a existência de irmãos, os tratamentos com antibióticos em idades muito precoces, o nível de cuidados infantis, a exposição a animais e a residência em ambientes rurais poderiam alterar tal colonização (Johnson, 2005; Sandini, 2011; Li, 2019). Num estudo de coorte realizado na Alemanha, a cesariana associou-se a AA em geral, sendo a mesma associação aparente na meta-análise que procurou uma relação entre parto por cesariana e atopia (Negele, 2004; Bager, 2009); também ficou aparente este tipo de relação com AA ao leite e ao ovo (Eggesbø, 2002; Sanchez-Valverde, 2009). Ser o primeiro filho parece aumentar o risco de AA, mas ter um irmão mais velho parece não prevenir sensibilização (Turner, 2005). Viver em meio rural poderá afetar a colonização do intestino, associando-se ao desenvolvimento de componentes reguladores do sistema imunitário da mucosa intestinal e, conseqüente resposta imune, face às proteínas alimentares da diversificação alimentar (Lewis, 2012). Recentemente, num estudo transversal realizado em crianças indianas, em idade escolar, foi encontrada uma maior proporção de alergia alimentar entre as crianças das escolas urbanas em comparação com as das áreas rurais (Gobinaath, 2018); também num estudo em crianças entre 12 e 36 meses sul-africanas, AA e sensibilização a alimentos foi superior nas residentes em área urbana em relação às residentes em zonas rurais (Botha, 2019). Finalmente, uma associação idêntica tinha também sido reportada num estudo randomizado em crianças

americanas com um *OR* de 1,7 para residência em área urbana relativamente à residência em área rural (Gupta, 2012).

A influência da exposição precoce a alimentos alergénicos no desenvolvimento subsequente de alergia alimentar permanece incerto. A dieta nos primeiros anos de vida tem sido alvo de inúmeras investigações no sentido de encontrar orientações práticas alimentares que reduzam o risco ou sejam protetoras para o desenvolvimento de AA. O atraso na introdução dos potenciais alimentos alergénicos na dieta dos bebés, após o primeiro ano de vida, tem-se mostrado ineficaz como meio de prevenção de AA e já não é recomendado (Allen, 2016; Perkin, 2016; Ebisawa, 2017; Comberiati, 2019). Também os resultados dos estudos LEAP e LEAP-On aumentaram, ainda, significativamente mais o conhecimento acerca da evolução longitudinal das respostas imunitárias e clínicas aos alimentos introduzidos na dieta infantil (Turkanu, 2017). O estudo LEAP avaliou crianças entre 4 e 11 meses de idade, com alto risco de alergia ao amendoim, randomizados em grupos de eliminação completa de amendoim ou consumo de amendoim pelo menos três vezes por semana. Este estudo observou que 17% das crianças que evitaram o amendoim desenvolveram alergia ao amendoim aos 5 anos de idade, e apenas 3% das crianças que comeram amendoim desenvolveram alergia alimentar pela mesma idade. Concluíram assim que, para crianças de alto risco, definidas como portadoras de eczema, alergia ao ovo, ou ambos, ingestão regular de amendoim nos primeiros 11 meses é eficaz na prevenção do desenvolvimento de alergia (Du Toit, 2013). O estudo EAT avaliou se a introdução precoce de alimentos alergénicos aos 3 meses de idade em lactentes saudáveis amamentados, sem fatores de risco, evitaria alergias alimentares. Os alimentos usados foram amendoim, ovo cozido, leite de vaca, sésamo, peixe branco e trigo e os resultados do estudo não mostraram eficácia dessa introdução, na prevenção do desenvolvimento de alergia alimentar, mas ficou em aberto a possibilidade de a prevenção ser dose-dependente (Perkin, 2016). Em geral a introdução precoce do amendoim na dieta, parece reduzir o risco de crianças com risco elevado de alergia ao amendoim desenvolverem a doença (Du Toit, 2018) e não afeta a duração de amamentação nem causa impacto negativo no crescimento ou nutrição (Feeney, 2016). Também para o ovo surgiram recentemente estudos que aconselham a sua introdução entre os 6 e 8 meses, na forma cozinhada (Caffarelli, 2018). Contudo, mais estudos são necessários, não só com outros tipos de alimentos, mas também em outras populações, de forma a testar a reprodutibilidade dos resultados observados.

Num artigo de revisão, Sansotta sugere que a tolerância pode ser conseguida através do contato do sistema imunológico da mucosa com o alérgeno, no momento certo da vida; os efeitos protetores parecem ser potencializados pela prática da amamentação ao mesmo tempo em que o desmame é iniciado. Assim, propõe a prática de desmame a partir da 17ª semana e introdução de quase todos os alimentos até à 27ª semana de vida para reduzir o risco de doenças, nomeadamente alérgicas. As diretrizes enfatizam ainda o papel da amamentação durante a prática do desmame (Sansotta, 2013).

Em termos gerais, a evidência atual sugere que a introdução de alimentos da diversificação alimentar, incluindo os alergénicos, deve ser efetuada na dieta após os quatro meses, ou mais próximo dos seis meses de idade, independentemente do risco de alergia (Muraro, 2014b; Caffarelli, 2018).

Apesar de muitos fatores de risco serem apontados, o aleitamento materno exclusivo até aos 4-6 meses de vida parece ser o fator protetor mais consensual. No estudo de coorte em crianças até 4 anos de idade, de Taiwan, Chiu (2016) concluiu que a amamentação exclusiva ou parcial até aos 6 meses reduzia o risco de sensibilização ao leite e o risco de eczema atópico na infância.

Por outro lado, não está confirmada a eficácia preventiva de medidas como dietas específicas durante a gravidez e a amamentação, nomeadamente pela evicção materna de alimentos potencialmente alergénicos (Grimshaw, 2017).

A compreensão acerca de como as alergias alimentares podem ocorrer é crucial e pode influenciar futuras investigações sobre prevenção, tratamento e eventual cura de alergias alimentares (Shroba, 2018). De facto, a Academia Americana de Pediatria (AAP) considera a investigação sobre diagnóstico, mecanismos e fatores de risco e orientação de AA como prioritária (Sicherer, 2017).

Estudos de avaliação de fatores de risco e protetores para AA são escassos ou mesmo inexistentes em Portugal. Considerando que ainda há bastantes dúvidas em relação a determinantes que possam funcionar como fatores de risco para AA em crianças, e levando em linha de conta que há aspetos genéticos, geográficos e culturais que conferem especificidade a resultados neste domínio, foi objetivo deste trabalho determinar, numa amostra de crianças portuguesas, a associação dos fatores de risco / fatores protetores, genéticos e ambientais mais consensuais entre as crianças com AA possível e RAA Não IgE-Med.

3.4.2. Objetivos

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- a. Analisar os fatores de risco para alergia alimentar em crianças com RAA.
- b. Avaliar o impacto dos fatores de risco mais consensuais para AA e RAA na população estudada.
- c. Comparar o impacto dos fatores de risco entre as crianças com AA provável, IgE-Mediada e as crianças com AA possível, não IgE-Mediada.

3.4.3. Metodologia

Desenvolveu-se um estudo analítico populacional, transversal, que teve lugar durante dois anos escolares consecutivos, de 2009 a 2011, tendo como população-alvo todas as crianças dos 3 aos 11 anos de idade, a frequentar 53 Jardins de Infância e 69 escolas do 1º ciclo do Ensino Básico da região da Cova da Beira (Concelhos da Covilhã, de Belmonte e do Fundão). As crianças cujos pais reportaram RAA, identificadas por um questionário preliminar (Q1) foram referenciadas para consulta hospitalar de pediatria (Centro Hospitalar Cova da Beira), onde foi aplicado um questionário alargado de pesquisa de reações adversas a alimentos e alergia alimentar para crianças (Q2) (Jorge, 2018).

Os fatores de risco foram avaliados para todas as crianças com Q2 positivo. Para além da caracterização demográfica e das reações ao(s) alimentos(s) implicados, foram questionados os antecedentes pessoais e familiares de atopia (dermatite atópica, rinite, conjuntivite, asma, AA), outros antecedentes patológicos, o tempo de amamentação e idade de introdução de alimentos sólidos e reações adversas ocorridas na diversificação alimentar. Foram, ainda, analisados os dados dos estudos *in vivo* e *in vitro* de atopia.

Os estudos *in vivo* incluíram Testes cutâneos por picada (TCP) para os aeroalergénios comuns e TCP e/ou Testes cutâneos “Prick to Prick” (TCDP) para os alimentos suspeitos no questionário Q2. Nos TCP foi aplicada uma gota de cada alergénio (Bateria Leti laboratórios) sobre a epiderme do antebraço e introduzido epicutaneamente com uma lanceta estandardizada; após 15 minutos foi efetuada a leitura através da medição do diâmetro médio em mm, com recurso a uma régua de leitura específica. Nos TCDP foram usados os frutos em natureza suspeitos (alergénios *in natura*), segundo o mesmo método padronizado para os extratos comerciais. A interpretação dos estudos *in vivo* foi realizada através de controlos positivo (Histamina 10 mg/ml) e negativo (soro salino fenolado). A positividade foi considerada para pápulas de diâmetro médio ≥ 3 mm que o controlo negativo. (Sampson, 2004) A reprodutibilidade destes testes foi efetuada através da execução de duas picadas (uma em cada braço) para os extratos comerciais/alergénios *in natura* dos frutos. Dos diâmetros lidos, foi posteriormente calculado o diâmetro médio [(diâmetro do braço esquerdo + diâmetro do braço direito) /2]. Em caso de leituras muito divergentes (> 2 mm), os testes foram repetidos e escolhidos os diâmetros com maior concordância.

Para os estudos *in vitro* foram colhidos 5 ml de sangue venoso periférico por punção venosa e, posteriormente doseada a IgE total, e as IgE`s específicas para alergénios inalantes (Phadiatop®, composto por seis grupos de aeroalergénios) e alimentares (fx5E, composto por seis alergénios alimentares predominantes na patologia alérgica da criança). Foram, também, doseadas as IgE`s específicas para cada alimento suspeito. No caso de positividade nos TCP para aeroalergénios, foram mensuradas as IgE`s específicas das várias espécies que compõem cada grupo de aeroalergénios.

Para a quantificação da IgE total foi utilizado o método imunoenzimático por quimiluminescência direta (Elecsys 2010 - Roche®) e para as IgE's específicas, o método de fluorimetria (Unicap 100 Pharmacia Diagnosis®). A IgE total foi considerada elevada ou positiva para valores acima de 2DP dos valores de referência para a idade, definidos pelo laboratório e fabricante dos reagentes. Para aeroalergénios foram consideradas positivas IgE's específicas iguais ou superiores a 0,7 KU_A/L (Classe 2), para alimentos foram consideradas positivas IgE's iguais ou superiores a 0.35 KU_A/L. (Classe 1).

Considerou-se Alergia alimentar provável a AA IgE-Mediada (IgE.Med) em crianças com história clínica sugestiva de reação adversa e positividade nos estudos alergológicos *in vivo* e/ou *in vitro* para o alimento suspeito; considerou-se AA possível não IgE-Mediada (não IgE-Med) em crianças com história clínica sugestiva de reação adversa a alimento e estudos alergológicos *in vivo* e *in vitro* negativos (Jorge, 2017).

Os dados recolhidos foram registados numa tabela do programa Microsoft Excel 2007® e processados pelo Software Package for Social Sciences (SPSS) versão 19.0®. A avaliação da normalidade das variáveis foi feita com recurso ao teste One Sample Kolmogorov-Smirnov. A análise descritiva baseou-se no cálculo das medidas de tendência central e dispersão: média aritmética e desvio padrão, média geométrica e Erro Padrão da Média para variáveis com distribuição normal; mediana para variáveis de distribuição não normal. Para estudo de variáveis nominais foi usado o Teste de qui-quadrado quando as frequências esperadas (*expected frequencies*) foram superiores a 5 ou o teste de Cramer; para as variáveis dicotómicas foi aplicada a prova exata de Fisher. Para a análise comparativa entre variáveis quantitativas entre 2 grupos foi usado o teste *t-Student* para variáveis com distribuição normal e o teste de *Mann-Whitney* para variáveis com distribuição não normal. Para se encontrarem associações entre os dois grupos principais: grupo AA IgE-Med (em crianças com história clínica sugestiva de reação adversa e positividade nos estudos alergológicos *in vivo* e/ou *in vitro* para o alimento suspeito) e grupo de crianças com RAA não IgE-Med (em crianças com história clínica sugestiva de reação adversa a alimento e estudos alergológicos *in vivo* e *in vitro* negativos) e os possíveis fatores de risco recorreu-se a uma regressão logística e estimaram-se versões não ajustadas, os *odds ratios* (OR) e respetivos intervalos de confiança a 95%. Os testes de hipótese foram considerados significativos quando o respetivo valor de prova (*p-value*, *p*) não excedeu o nível de significância de 5%.

3.4.4. Resultados

Das 109 crianças que concluíram o estudo (Q2 positivo e estudos *in vivo* e *in vitro*), 34 pertenciam ao grupo AA provável, IgE-Med (história clínica sugestiva de reação adversa e positividade nos estudos alergológicos *in vivo* e/ou *in vitro* para o alimento suspeito), e 75

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

pertenciam ao grupo de crianças com AA possível não IgE-Med (história clínica sugestiva de reação adversa a alimento e estudos alergológicos *in vivo* e *in vitro* negativos).

Fatores sociodemográficos

As médias de idade das crianças dos grupos estudados foram, respetivamente de 6,65 ($\pm 1,56$) anos no grupo IgE-Med, e de 7,15 ($\pm 1,91$) anos, no grupo Não IgE-Med, sem diferença estatisticamente significativa (Tabela 22).

Tabela 22- Fatores de risco sociodemográficos

Parâmetros	Total (n=109)	IgE-Med (n=34)	Não IgE-Med (n=75)	OR não ajustado IgE-Med/Não IgE-Med (IC 95%)	p-value*
Sexo (%)					
Feminino	49.5	23.5	61.3	1	
Masculino	50.5	76.5	38.7	5.155 (2.057, 12.918)	<0.001
Idade (em anos)					
Média \pm DP	7.00 \pm 1.82	6.65 \pm 1.56	7.16 \pm 1.91	0.854 (0.680,1.072)	0.173
Residência (%)					
Rural	41.3	38.2	42.7	1	
Urbana	58.7	61.8	57.3	1.206 (0.685, 2.122)	0.517
Classe de Graffar (%)					
I	8.3	11.8	6.7	0,958 (0.266; 3.450)	0,244
II	25.7	23.5	26.7	0.479 (0.172; 1.334)	0,159
III	56.0	50.0	58.6	0.464 (0.181; 1.189)	0,110
IV	10.0	14.7	8.0	1	
V	0.0	0.0	0.0	-	

*Teste de Wald

Enquanto que no total das crianças, a distribuição por sexo foi idêntica, no grupo IgE-Med predominou o sexo masculino (76,5% das crianças) e no grupo Não IgE-Med predominou o sexo feminino (61,3% das crianças). Encontrámos uma associação estatisticamente significativa entre o sexo e os grupos ($p < 0,001$), obtivemos uma probabilidade 5,2 vezes maior de haver uma situação de AA IgE-Med nas crianças do sexo masculino (OR=5.155; IC95%: 2.057, 12.918), quando comparada com as crianças do sexo feminino (Tabela 22).

Quando analisámos a residência das crianças, verificámos que quase 60% do total residiam em área considerada urbana. Contudo, não se encontrou associação estatisticamente significativa entre a residência (urbana ou rural) e a distribuição de casos IgE-Med e Não IgE-Med ($p = 0,517$). Também não se encontrou uma associação estatisticamente significativa entre as condições socioeconómicas (Escala de Graffar) dos familiares das crianças e os grupos IgE-Med ou Não IgE-Med ($p = 0,244$) (tabela 22).

Aleitamento materno

No nosso estudo, o tempo médio de amamentação foi de 6 meses no Grupo IgE-Med, superior ao do Grupo Não IgE-Med (4,2 meses), com diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($p=0,044$). No grupo IgE-Med, em 4 crianças (11,76%), a duração do aleitamento materno foi inferior a 1 mês, em 20 crianças foi inferior a 6 meses (58,8%). No Grupo Não IgE-Med, 72,0% das crianças foram amamentadas por menos de 6 meses.

Não se encontrou uma associação estatisticamente significativa entre amamentação mínima de 6 meses e os grupos em estudo ($p=0,175$) mas, no caso da amamentação mínima de 4 meses, a associação com os grupos foi significativa ($p=0,037$), observando-se uma diminuição de 60% da probabilidade de uma situação de AA ser IgE-Mediada, no caso do tempo de amamentação ser inferior a 4 meses ($OR=0,399$, $IC95\%: 0,168; 0,945$) (Tabela 23).

Tabela 23- Duração de amamentação

	RAA n (%)	IgE-Med n(%)	Não IgE-Med n(%)	OR não ajustado IgE-Med/Não IgE-Med (IC 95%)	<i>p-value*</i>
Leite materno					
≥4 meses	53 (50,0)	21 (65,6)	32 (43,2)	1	
<4 meses	53 (50,0)	11 (34,4)	42 (56,8)	0,399 (0,168; 0,945)	0,037
Leite materno					
≥6 meses	35 (32,1)	14 (41,2)	21 (28,0)	1	
<6 meses	74 (67,9)	20 (58,8)	54 (72,0)	0,556 (0,238; 1,298)	0,175

**Teste de Wald*

Idade de introdução de alimentos sólidos e diversificação alimentar

A introdução de alimentos sólidos ocorreu até aos 6 meses, para 90,3% das crianças do grupo IgE-Med, e apenas numa criança ocorreu antes dos 4 meses, enquanto no grupo Não IgE-Med a introdução de alimentos sólidos ocorreu antes dos 6 meses em quase todas as crianças (Tabela 24). A introdução de alimentos sólidos ocorreu mais tarde no grupo Grupo IgE-Med do que no Grupo Não IgE-Med. A idade de introdução de alimentos sólidos não se mostrou significativamente associada aos grupos em estudo ($p=0,053$), mas a probabilidade de se tratar de uma reacção ser IgE-Med diminuiu significativamente em 97,6% para a introdução de alimentos sólidos entre os 4 e os 6 meses ($OR=0,024$, $IC95\%: 0,001; 0,497$; $p=0,016$), quando comparado com uma introdução mais tardia (Tabela 24).

Tabela 24- Introdução de alimentos sólidos

Introdução de alimentos sólidos	Total n (%)	IgE-Med n(%)	Não IgE-Med n(%)	OR não ajustado IgE-Med/Não IgE-Med (IC 95%)	p-value*
Idade intro. alimentos sólidos					0,053
>6 meses	4 (3,8)	3 (9,7)	1 (1,4)	1	
4-6 meses	85 (81,7)	27 (87,1)	58 (79,5)	0,024 (0,001; 0,497)	0,016
<4 meses	15 (14,4)	1(3,2)	14 (19,2)	0,155 (0,015; 1,561)	0,114
Idade intro. alimentos sólidos					0,053
≥4 meses	88 (84,6)	30 (96,8)	59 (80,8)	1	
<4 meses	16 (15,4)	1 (3,2)	14 (19,2)	0,129 (0,016; 1,023)	0,053

*Teste de Wald

A idade de introdução de leite adaptado, peixe e ovo, alimentos frequentemente implicados na alergia alimentar em crianças, ocorreu mais tarde no grupo IgE-Med (aos 6, 8,4, e 11,2 meses respetivamente) do que no grupo não IgE-Med (aos 4,2, 8,2, e 10,1 meses, respetivamente), mas os grupos IgE-Med e não IgE-Med não se mostraram significativamente associados à idade de introdução de leite adaptado ($p=0,137$), peixe ($p=0,666$) ou ovo ($p=0,429$) (Tabela 25). Por outro lado, a toma prévia de medicamentos ou o exercício físico não foram identificados como fatores desencadeantes de reação alérgica na amostra estudada.

Tabela 25- Introdução de novos alimentos

Introdução de novos alimentos	RAA (n) (média±DP)	IgE-Med (n) (média±DP)	Não IgE-Med (n) (média±DP)	OR não ajustado IgE-Med/Não IgE-Med (IC 95%)	p-value*
Leite adaptado (meses)	106 4.78±5.54	32 6.06±5.93	74 4.23±5.31	1.058 (0.982; 1.139)	0.137
Ovo (meses)	81 10.48±5.34	27 11.15±6.04	54 10.14±4.97	1.034 (0.951; 1.125)	0.429
Peixe (meses)	78 8.26±2.44	27 8.43±2.86	51 8.18±2.22	1.043 (0.862; 1.262)	0.666

*Teste Wald

Antecedentes de atopia

As crianças do grupo IgE-Med tinham significativamente mais antecedentes pessoais de atopia do que as crianças do grupo não IgE-Med (85,3% vs. 57,3%; OR=4,316; IC 95%: 1,505;12,379; $p=0,007$). Quando analisámos individualmente as várias patologias alérgicas verificámos que no grupo IgE-Med, a rinite (67,6%), a conjuntivite (58,8%), e o eczema atópico (70,6%), foram mais frequentes do que no grupo Não IgE-Med (38,7%, 28% e 32%, respetivamente), sendo a diferença mais significativa para a existência de eczema. Todas estas doenças se mostraram significativamente associadas aos grupos ($p<0,001$, para os antecedentes de eczema; $p=0,003$, para os antecedentes de rinite; $p=0,006$, para os antecedentes de conjuntivite), evidenciando

uma probabilidade 5,1, 3,3 e 3,7 vezes maior de uma situação de AA ser IgE-Med para os antecedentes de eczema, rinite e conjutivite, respetivamente, quando comparada com a probabilidade de ser Não IgE-Med. Curiosamente, os antecedentes de asma foram idênticos nos dois grupos ($p=0,282$). Por outro lado, duas ou mais manifestações alérgicas foram reportadas em 70,6% das crianças do Grupo IgE-Med, um valor muito superior ao que ocorreu no grupo não IgE-Med (40%) (Tabela 26).

Tabela 26- Antecedentes pessoais de atopia

Atopia		Total n (%)	IgE-Med n(%)	Não IgE-Med n(%)	OR não ajustado IgE-Med/Não IgE-Med (IC 95%)	<i>p-value*</i>
Antecedentes pessoais de atopia	Não	37 (33.9)	5 (14.7)	32 (42.7)	1	0.007
	Sim	72 (66.1)	29 (85.3)	43 (57.3)	4.316 (1.505,12.379)	
Antecedentes pessoais eczema	Não	61 (56.0)	10 (29.4)	51 (68.0)	1	<0.001
	Sim	48 (44.0)	24 (70.6)	24 (32.0)	5.100 (2.109,12.332)	
Antecedentes pessoais Rinite	Não	57 (52.3)	11 (32.4)	46 (61.3)	1	0.006
	Sim	52 (47.7)	23 (67.6)	29 (38.7)	3.317 (1.410,7.804)	
Antecedentes pessoais conjutivite	Não	68 (62.4)	14 (41.2)	54 (72.0)	1	0.003
	Sim	41 (37.6)	20 (58.8)	21 (28.0)	3.673 (1.572,8.585)	
Antecedentes pessoais Asma	Não	84 (77.1)	24 (70.6)	60 (80.0)	1	0.282
	Sim	25 (22.9)	10 (29.4)	15 (20.0)	1.667 (0.658, 4.223)	
2 ou mais antecedentes pessoais	Não	55 (50.5)	10 (29.4)	45 (60.0)	1	0.004
	Sim	54 (49.5)	24 (70.6)	30 (40.0)	3.600 (1.508,8.596)	

**Teste Wald*

Em relação aos antecedentes familiares de atopia, apesar de globalmente serem mais frequentes no grupo IgE-Med, a diferença não foi estatisticamente significativa, o mesmo se observando no que se refere às diferentes doenças alérgicas como sejam rinite, asma e conjutivite (Tabela 27).

Tabela 27- Antecedentes familiares de atopia

Antecedentes familiares		Total n (%)	IgE-Med n (%)	Não IgE- Med n (%)	OR não ajustado IgE-Med/Não IgE-Med (IC 95%)	p-value*
Atopia	Não	25 (22,9)	5 (14,7)	20 (26,7)	1	0,175
	Sim	84 (77,1)	29 (85,3)	55 (73,3)	2,109 (0,717;6,200)	
Rinite	Não	58 (53,2)	21 (61,8)	37 (49,3)	1	0,230
	Sim	51 (46,8)	13 (38,2)	38 (50,7)	0,603 (0,264;1,378)	
Conjuntivite	Não	38 (34,9)	12 (35,3)	26 (34,7)	1	0,949
	Sim	71 (65,1)	22 (64,7)	49 (65,3)	0,973 (0,416;2,274)	
Asma	Não	50 (45,9)	18 (52,9)	32 (42,7)	1	0,320
	Sim	59 (54,1)	16 (47,1)	43 (57,3)	0,661 (0,293;1,493)	
Dermatite atópica	Não	12 (11,0)	6 (17,6)	6 (8,0)	1	0,145
	Sim	97 (89,0)	28 (82,4)	69 (92,0)	0,406 (0,121;1,366)	
Alergia alimentos	Não	77 (70,6)	22 (64,7)	55 (73,3)	1	0,361
	Sim	32 (29,4)	12 (35,3)	20 (26,7)	1,500 (0,629;3,580)	

Sensibilização alérgica

A média dos níveis de IgE sérica total das 107 crianças do grupo RAA foi de 302,21±611,66, com valores significativamente mais elevados no grupo IgE-Med do que no grupo não IgE-Med. Também os valores absolutos de Fx5E e Phadiatop®, foram significativamente mais elevados no grupo IgE-Med do que no grupo Não IgE-Med ((p<0,001, para a IgE Total e Phadiatop®, e p=0,019, para o Fx5E), evidenciando uma probabilidade 0,3% (OR=1,003; IC95%: 1,001; 1,005), 11,6% (OR=1,116; IC95%: 1,018;1,223)) e 3,7% (OR=1,037; IC95%: 1,021;1,053) vezes superior de uma RAA ser IgE-Med, por cada unidade aumentada de IgE Total, Fx5E e Phadiatop®, respetivamente, quando comparadas com as probabilidades de ser uma situação Não IgE-Med (Tabela 28).

Tabela 28- Rastreio de atopia *in vitro*

Sensibilização	Total (n) (média±DP)	IgE-Med (n) (média±DP)	Não IgE-Med (n) (média±DP)	OR não ajustado IgE-Med/Não IgE- Med (IC 95%)	p-value*
IgE total (unidades)	107 302,21±611,66	33 679,35±953,7 3	74 134,03±227,05	1,003 (1,001; 1,005)	<0,001
Fx5E (unidades)	104 2,28±7,03	31 5,48±8,51	73 0,91±5,85	1,116 (1,018; 1,223)	0,019
Phadiatop (unidades)	105 20,17±33,67	32 47,13±41,26	73 8,35±20,95	1,037 (1,021; 1,053)	<0,001

*Teste Wald

Quando classificámos os valores de IgE sérica total como normal ou elevada, e os Fx5E e Phadiatop® como positivo ou negativo, constatámos que IgE total elevada, Fx5E e Phadiatop® positivos foram significativamente mais frequentes no grupo IgE-Med do que no grupo Não IgE-Med. Assim, havia uma probabilidade 9,98, 32,32 e 17,47 vezes maior de uma situação ser IgE-Med em casos de IgE total elevada, e de Fx5E ou Phadiatop® positivos, respetivamente, quando comparado com a probabilidade de ser Não IgE-Med (Tabela 29).

Tabela 29- Positividade de IgE, Fx5E, Phadiatop®

Sensibilização	Total n (%)	IgE-Med n(%)	Não IgE- Med n(%)	OR não ajustado IgE-Med/Não IgE-Med (IC 95%)	p-value*
IgE total					
Não	31 (29,0)	2 (6,1)	29 (39,2)	1	
elevada	76 (71,0)	31 (93,9)	45 (60,8)	9,989 (2,220; 44,953)	<0,003
Fx5E					
Não	73 (70,2)	7 (22,6)	66 (90,4)	1	
Positivo	31 (29,8)	24 (77,4)	7 (9,6)	32,327 (10,266; 101,797)	<0,001
Phadiatop					
Não	50 (47,6)	3 (9,4)	47 (64,4)	1	
positivo	55 (52,4)	29 (90,6)	26 (35,6)	17,474 (4,851; 62,948)	<0,001

*Teste Wald

A sensibilização a aeroalergénios em geral foi muito mais prevalente no Grupo IgE-Med do que no grupo não IgE-Med (93,3% vs.43,8%), sendo a mesma tendência tanto para a sensibilização global a pólenes (86,7%) como a sensibilização particular a pólenes de árvores, gramíneas e ervas daninhas (Tabela 30).

Tabela 30- Sensibilização a aeroalergénios

Sensibilização		Total n (%)	IgE-Med n(%)	Não IgE- Med n(%)	OR não ajustado IgE-Med/Não IgE-Med (IC 95%)	p-value*
Aeroalergénios	Não	43 (41,7)	2 (6,7)	41 (56,2)	1	<0,001
	Sim	60 (58,3)	28 (93,3)	32 (43,8)	17,938 (3,974; 80,972)	
Pólenes	Não	57 (55,3)	4 (13,3)	53 (72,6)	1	<0,001
	Sim	46 (44,7)	26 (86,7)	20 (27,4)	17,225 (5,337; 55,588)	
Ácaros <i>dp</i>	Não	75 (75,0)	17 (63,0)	58 (79,5)	1	0,095
	Sim	25 (25,0)	10 (37,0)	15 (20,5)	2,275 (0,866; 5,974)	
Ácaros <i>df</i>	Não	80 (80,0)	21 (77,8)	59 (80,8)	1	0,736
	Sim	20 (20,0)	6 (22,2)	14 (19,2)	1,204 (0,410; 3,540)	
Pólenes árvores I	Não	85 (86,7)	18 (69,2)	67 (93,1)	1	0,005
	Sim	13 (13,3)	8 (30,8)	5 (6,9)	5,956 (1,736; 20,428)	
Pólenes árvores II	Não	83 (84,7)	14 (53,8)	69 (95,8)	1	<0,001
	Sim	15 (15,3)	12 (46,2)	3 (4,2)	19,714 (4,913; 79,109)	
Pólenes árvores III	Não	65 (66,3)	5 (19,2)	60 (83,3)	1	<0,001
	Sim	33 (33,7)	21 (80,8)	12 (16,7)	21,000 (6,612; 66,693)	
Gramíneas	Não	60 (60,0)	4 (14,8)	56 (76,4)	1	<0,001
	Sim	40 (40,0)	23 (85,2)	17 (23,3)	18,941 (5,748; 62,414)	
Ervas daninhas	Não	82 (82,0)	14 (51,9)	68 (93,2)	1	<0,001
	Sim	18 (18,0)	13 (48,1)	5 (6,8)	12,629 (3,877; 41,138)	
Epitélio de cão	Não	88 (88,0)	22 (81,5)	66 (90,4)	1	0,230
	Sim	12 (12,0)	5 (18,5)	7 (9,6)	2,143 (0,617; 7,442)	
Epitélio de gato	Não	85 (85,9)	17 (63,0)	68 (94,4)	1	<0,001
	Sim	14 (14,1)	10 (37,0)	4 (5,6)	10,000 (2,793; 35,806)	

*Teste Wald

Todas estas sensibilizações se mostraram significativamente associadas aos grupos, evidenciando uma probabilidade muito maior de se tratar de uma RAA IgE-Med do que uma situação Não IgE-Med, quando havia sensibilização a aeroalergénios, a pólenes, a pólenes de árvores I, a pólenes de árvores II, a pólenes de árvores III, a gramíneas e a ervas daninhas respetivamente (Tabela 30).

Em termos de aeroalergénios perenes, a sensibilização a ácaros e a epitélio de cão não se mostraram significativamente associadas aos grupos. Curiosamente a sensibilização a epitélio de gato foi significativamente mais frequente no grupo IgE-Med do que no grupo Não IgE-Med ($p<0,001$) (Tabela 30).

3.4.5. Discussão

Este é um estudo inovador, pioneiro em Portugal, tendo como base uma população pediátrica com alergia alimentar possível, e no qual foi feita uma avaliação comparativa dos fatores de risco mais consensuais entre as crianças com AA provável, IgE-Med e crianças com AA possível Não IgE-Med. Este estudo mostrou que o sexo masculino, os antecedentes pessoais de doenças alérgicas, marcadores *in vitro* de atopia e a sensibilização a aeroalergénios foram significativamente mais frequentes no grupo IgE-Med do que no grupo Não IgE-Med. Já a residência em área urbana ou rural, o nível socioeconómico, a diversificação alimentar, não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos. Um menor tempo de aleitamento materno foi mais associado ao grupo Não IgE-Med e a introdução de alimentos sólidos entre os 4 e os 6 meses mostrou estar significativamente menos associada à probabilidade de ter uma AA IgE-Med, comparativamente com a sua introdução após os 6 meses.

Apesar de no grupo geral, a distribuição por sexo ser idêntica, no grupo IgE-Med predominou o sexo masculino (76,5% das crianças) enquanto que no grupo Não IgE-Med predominou o sexo feminino (61,3% das crianças) com uma probabilidade 5,2 vezes maior de uma RAA ser IgE-Med nas crianças do sexo masculino (OR=5,155; IC95%:2,057; 12,918), quando comparada com as crianças do sexo feminino, sendo estes resultados concordantes com a revisão sistemática e metanálise de estudos europeus, efetuada por Nwaru *et al* (Nwaru, 2014b), e com outros estudos, nomeadamente um estudo de 503 crianças entre os 3 e os 15 meses de idade, com suspeita de AA e no qual, níveis de IgE específica superiores para amendoim estavam associados ao seu consumo materno prévio na gravidez, sendo esta associação verificada no sexo masculino (Sicherer, 2010). Também, num outro estudo transversal, envolvendo 16.000 indivíduos, a prevalência de alergia ao amendoim era significativamente mais elevada no sexo masculino do que no feminino, em crianças britânicas de 4 anos de idade (Emmett, 1999), o que foi confirmado num estudo posterior, em termos de registos de alergia ao amendoim, entre 2001 e 2005, no Reino Unido (Kotz, 2011). De forma idêntica, estudos epidemiológicos em crianças escandinavas, demonstraram prevalência mais elevada de alergias alimentares em crianças do sexo masculino do que do sexo feminino (Pyrhönen, 2009; Pyrhönen, 2011). De igual forma, as estimativas calculadas a partir dos dados recolhidos na população americana, no National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006, envolvendo 8203 indivíduos entre 1 e mais de 60 anos de idade, mostraram um *odds ratio* (OR) de se desenvolver alergia alimentar de 1,87 no sexo masculino, em relação ao sexo feminino (Liu, 2010). Uma avaliação detalhada e focada em doentes alérgicos ao amendoim, permitiu concluir que, nas crianças, a alergia ao amendoim é mais prevalente nos rapazes (1,7% e 0,7%), enquanto que nos adultos essa diferença se anulava e passava mesmo o sexo feminino a ter mais frequentemente alergia ao amendoim (1,7 e 0,95) (Sicherer, 2003). Num estudo americano de prevalência de alergia a peixe e marisco, na população geral, a prevalência foi maior em mulheres que em homens, mas

na idade pediátrica a prevalência de alergia ao peixe foi igual para rapazes e para raparigas, enquanto a alergia a marisco foi maior nos rapazes que nas raparigas - 80,7 e 0,4% respetivamente) (Sicherer, 2004).

Analisando outras variáveis, no nosso estudo, 57% do total das crianças residiam em área considerada urbana, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, em termos de prevalência de alergias alimentares. Estes resultados são semelhantes aos de um estudo efetuado em 11.473 crianças chinesas dos 7-12 anos de idade, que mostrou não haver diferenças na prevalência global de alergias alimentares prováveis, entre crianças urbanas e crianças rurais, embora houvesse diferenças nos alimentos aos quais as crianças destas duas zonas estavam sensibilizadas (Yang, 2015). Contudo, a maioria dos estudos parece apontar para a existência de diferenças significativas de prevalência de alergia alimentar entre zonas rurais e urbanas, com frequência superior nas zonas urbanas. Seguem-se alguns exemplos de estudos que apontam neste sentido. Um recente estudo sul-africano envolvendo 1185 crianças urbanas e 398 crianças rurais, entre os 12 e os 36 meses de idade, mostrou que aquela era superior nas crianças urbanas (2,5%) em comparação com as rurais (0,5%) (Botha, 2019). De igual forma, um estudo envolvendo 350 crianças indianas, entre os 5 e os 10 anos de idade, mostrou que a prevalência de alergias alimentares autorreportadas era significativamente superior nas crianças das zonas urbanas, em relação às crianças das zonas rurais (Gobinaath, 2018), sendo o mesmo observado em crianças vietnamitas, em termos de alergias alimentares autorreportadas e confirmadas por um médico (Le, 2019). Finalmente, um estudo americano envolvendo uma pesquisa com distribuição eletrónica a lares de famílias com, pelo menos, uma criança com menos de 18 anos, analisando dados respeitantes a 38465 crianças, mostrou claramente que a prevalência de alergia alimentar autorreportada era significativamente maior nas crianças de zonas urbanas do que nas de zonas rurais, com um *odds ratio* de 1,7 para AA, entre as primeiras e as segundas, mesmo após ajustar para fatores confundentes (Gupta, 2012). Vários fatores podem justificar a diferença de resultados entre o nosso estudo e os restantes estudos, nomeadamente, o facto de a nossa amostra ser, comparativamente menor, poder haver fatores genéticos ou epigenéticos envolvidos, ou, de forma mais relevante, o facto de, no nosso estudo, na Cova da Beira, as áreas urbanas não terem diferenças significativas em relação às zonas rurais, em termos de poluição ambiental, de exposição polínica, de perfis de dieta, ou até mesmo em termos socioeconómicos. De facto, no nosso estudo, também não encontramos diferenças, em termos socioeconómicos (Escala de Graffar) das famílias das crianças estudadas, o que constitui um resultado diferente do de outros estudos, nomeadamente um estudo efetuado em crianças francesas, e que reportou a existência de diferenças com o grupo socioprofissional com maior risco de alergia alimentar nas classes económicas mais altas (Kanny, 2001), ou o estudo norte americano de análise de factores de risco de alergias alimentares do National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006 (Liu, 2010), ou no estudo de coorte em crianças norteamericanas que revelou que fatores socioeconómicos e atopia foram os principais preditores de AA aos 6 anos de idade (Luccioli, 2014).

O aleitamento materno exclusivo por 4 a 6 meses é aconselhado para prevenir alergia alimentar nas crianças de risco (Grimshaw, 2017) e a amamentação exclusiva ou parcial até aos 6 meses parece reduzir o risco de sensibilização ao leite na infância (Chiu, 2016). O tempo médio de amamentação foi nas nossas crianças de 6 meses no grupo IgE-Med e de 4,2 meses no grupo não IgE-Med, com diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($p=0.044$). Para um tempo de amamentação inferior ou superior a 6 meses verificamos a mesma tendência, mas sem significância estatística. Assim, ao contrário do esperado, o tempo de amamentação foi superior no grupo IgE-Med, e a menor duração de aleitamento materno não constituiu um fator de risco para AA, resultando mesmo numa diminuição de 60% da probabilidade de uma situação ser IgE-Medida quando o tempo de amamentação foi inferior a 4 meses.

Apesar de a maioria dos trabalhos considerar o aleitamento materno exclusivo, durante pelo menos 4 meses, um fator protetor (Carrapatoso, 2007; Grimshaw, 2017), ainda não há evidências robustas que o comprovem (Shroba, 2018). Por exemplo, um estudo holandês mostrou que o aleitamento materno exclusivo não evidenciou efeitos protetores, em termos de desenvolvimento de alergias alimentares (e outras doenças alérgicas), aos 10 anos de idade (Elbert, 2017). Também, num estudo de coorte de crianças norte-americanas, concluiu que a amamentação exclusiva por 4 ou mais meses pode ter um efeito preventivo sobre o desenvolvimento de AA após 1 ano de idade, em crianças sem alto risco, mas tal efeito não foi observado em crianças de alto risco de AA (Luccioli, 2014). No nosso estudo, o facto de termos avaliado o tempo de amamentação e não termos avaliado se foi exclusiva ou mista, pode condicionar os resultados encontrados, dado que não podemos garantir que todas as crianças que foram amamentadas por 4 meses fizeram aleitamento materno exclusivo.

A idade de introdução de alimentos sólidos não se mostrou significativamente associada a nenhum dos grupos IgE-Med ou Não IgE-Med, mas a probabilidade de uma AA ser IgE-Med diminuiu significativamente em 97,6% para a introdução de alimentos sólidos entre os 4 e os 6 meses, quando comparado com uma introdução mais tardia. Assim a introdução mais tardia dos alimentos não parece constituir um fator protetor para AA e, pelo contrário, no nosso estudo, esteve mais associada a AA. A idade de introdução de leite adaptado, peixe e ovo, alimentos frequentemente implicados na alergia alimentar em crianças, ocorreu mais tarde no grupo IgE-Med do que no grupo Não IgE-Med, mas sem diferença estatisticamente significativa. De facto, para a maioria dos alimentos não está bem definida a janela ótima para sua introdução e atualmente preconiza-se que não se atrase a introdução dos alimentos sólidos, nem dos alérgenos potenciais, nas crianças de risco, estando mesmo preconizada a introdução precoce de amendoim na dieta das crianças com alto risco de alergia (Venter, 2009; Shirer, 2014; Allen, 2016, Peters, 2017; Du Toit, 2018). A introdução de alimentos sólidos enquanto a criança é amamentada parece ser um fator protetor nas crianças com maior risco alérgico (Fiochi, 2006), mas tal análise não foi efetuada no nosso estudo. Estudos recentes, como o LEAP e o EAT também analisaram a exposição precoce e a prevenção de alergias alimentares permitindo

avanços significativos no conhecimento sobre tolerância: o estudo LEAP concluiu que a ingestão regular de amendoim nos primeiros 11 meses é eficaz na prevenção do desenvolvimento de alergia em crianças de alto risco, enquanto o estudo EAT não mostrou eficácia da introdução de alimentos alergénicos pelos 3 meses de idade, na prevenção do desenvolvimento de alergia alimentar (Perkin, 2016; Turcanu, 2017).

Dentre os fatores de risco para AA mais frequentemente estudados, encontram-se aspetos ligados a atopia pessoal e familiar. No nosso estudo, isso foi avaliado através de quatro aspetos: antecedentes pessoais de atopia e doenças alérgicas, antecedentes familiares de atopia e doenças alérgicas, marcadores de atopia e perfis de sensibilização atópica. Os resultados obtidos no nosso estudo mostram uma elevada associação entre AA IgE-Med e antecedentes pessoais de doença alérgica e atopia, concordantes com a literatura (Rancé, 2005, NIAID 2010). De facto, as crianças do grupo IgE-Med tinham significativamente mais antecedentes pessoais de atopia do que as crianças do grupo não IgE-Med ($p=0,004$, $OR=4,3$). História pessoal de doenças alérgicas, nomeadamente rinite, conjuntivite e eczema, foi mais frequentemente reportada no grupo IgE-Med do que no grupo Não IgE-Med, assim como a existência de duas ou mais manifestações alérgicas. Estudos recentes demonstraram que a sensibilização a alimentos pode ocorrer através da pele fragilizada como acontece no eczema atópico, com alteração da função de barreira (Shroba, 2018; Yu JE, 2018). Já os antecedentes de asma, frequentemente associados a AA, nomeadamente reações graves (Ebisawa, 2017), foram, no nosso estudo, idênticos nos dois grupos.

Os marcadores de atopia, como a IgE total elevada, a positividade para Fx5E ou Phadiatop®, foram significativamente mais frequentes no grupo IgE-Med do que no grupo Não IgE-Med. Também os valores absolutos de IgE total, Fx5E e Phadiatop®, foram significativamente mais elevados no grupo IgE-Med do que no grupo Não IgE-Med, evidenciando probabilidades 0,3%, 11,6% e 3,7% vezes maiores de pertencer ao grupo IgE-Med por cada unidade aumentada de IgE Total, Fx5E e Phadiatop®, respetivamente, quando comparadas com as probabilidades de pertencer ao grupo Não IgE-Med.

Antecedentes pessoais de alergia são fatores de risco consensuais (Calvani, 2011; Du Toit, 2013). Também no nosso estudo, a sensibilização para aeroalergénios em geral, foi muito mais prevalente no grupo IgE-Med (93,3%) do que no grupo não IgE-Med, sendo esta diferença também significativa tanto para a sensibilização geral a pólenes (86,7%) como a sensibilização a pólenes de árvores, gramíneas e ervas. A Cova da Beira é, de facto, uma região com elevada contagem polínica podendo justificar uma elevada e precoce sensibilização a pólenes. De acordo com o estudo de Loureiro (2005), em crianças até aos 15 anos, desta região, 86,5% das crianças estavam sensibilizadas para pelo menos um aeroalergénio e 44,9% estavam sensibilizadas a gramíneas. Valores inferiores foram encontrados por Venkataraman (2018), num estudo longitudinal de coorte, de crianças inglesas seguidas desde o nascimento até aos 18

anos, que mostrou que a sensibilização a aeroalergénios foi crescente com a idade, atingindo valores de 40,3% aos 18 anos. Por outro lado, a maioria das crianças com AA também estava sensibilizada a aeroalergénios, sendo rara a sensibilização exclusivamente a alimentos (Venkataraman, 2018).

Em relação aos antecedentes familiares de atopia, apesar de globalmente serem mais frequentes no grupo IgE-Med, a diferença não foi estatisticamente significativa: 85,3% das crianças do grupo IgE-Med tinham antecedentes familiares de atopia; mas rinite em 38,2%, asma em 47,1%, conjuntivite em 64,7% foram ligeiramente menos frequentes no grupo IgE-Med do que no Grupo Não IgE-Med, enquanto eczema (82,4%) e AA (35,3%) foram mais frequentes no grupo IgE-Med. Estes dados diferem dos habitualmente descritos na literatura que referem uma forte associação de AA com a história familiar de atopia (em especial na mãe ou nos dois pais) (Chandra 1993; Kumar, 2011; Pyrhönen, 2011).

Este estudo tem algumas limitações, relacionadas essencialmente com o tamanho da amostra e por se tratar de um estudo retrospectivo. Estes factos não permitiram analisar alguns fatores importantes para esta investigação e podem contribuir para algum viés de memória, nomeadamente nas questões relacionadas com as idades de introdução de novos alimentos. De facto, as mães sabiam claramente o tempo de amamentação, mas eram menos rigorosas nas idades de introdução de carne, peixe ou ovo, provavelmente porque não esteve relacionada com reação grave (Eggesbø, 2001). Quando foi o pai a responder manifestou, claramente, mais dificuldades em responder a estas questões. Por outro lado, não foram avaliados, neste estudo, fatores como a exposição ao fumo do tabaco no período perinatal, baixo peso ao nascer e prematuridade, instrumentação do parto, ordem de nascimento, estação do ano no nascimento, uso de antibióticos, uso de pré-bióticos ou de antioxidantes, suplementação com vitamina D, dieta e suplementos maternos durante a gravidez, a amamentação entre outros que podem ter relevância como fatores de risco para AA (Neuver, 2017; Bride 2012). Contudo, o grau de evidência para muitas destas associações não é elevado, havendo resultados contraditórios entre estudos (Kull, 2006; Kumar, 2008; DesRoches, 2010; Chandran, 2012; Luccioli, 2014; Koplin, 2018). Finalmente, a comparação efetuada neste estudo, entre crianças com AA provável, IgE-Mediada e crianças com AA possível, não IgE-Mediada, torna difícil a comparação com outros estudos que, mais frequentemente, comparam as crianças com AA e a população em geral. Contudo, este aspeto também torna este estudo bastante inovador, ao analisar fatores que possam ajudar a discriminar entre estes dois possíveis tipos de reações a alimentos.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Em conclusão, neste estudo, o sexo masculino, os antecedentes pessoais de doenças alérgicas, marcadores *in vitro* de atopia e a sensibilização a aeroalergénios foram significativamente mais frequentes no grupo IgE-Med do que no grupo Não IgE-Med. Já a residência em área urbana ou rural, o nível socioeconómico, a idade da diversificação alimentar e o tempo de aleitamento materno, não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos de doentes.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

3.5. Alergia alimentar na consulta de Pediatria-alergologia do CHUCB

3.5.1. Introdução

A alergia alimentar é comum na idade pediátrica e a sua prevalência tem vindo a aumentar gradualmente nas últimas 2-3 décadas. Apresenta um pico de prevalência nos primeiros anos de vida e diminui com a idade. Os alérgenos mais frequentemente implicados são o leite de vaca, ovo, frutos secos, peixe, marisco, trigo e soja, sendo estes alimentos responsáveis por 90% das reações (Sicherer, 2018). O diagnóstico e orientação adequados são fundamentais de modo a evitar dietas demasiado restritivas por um lado e, por outro, reduzir o risco de reações anafiláticas e recurso ao serviço de urgência (Falcão, 2003). Apesar de ser uma doença frequente e com grande impacto nas consultas em idade pediátrica, há poucos estudos, e já antigos, sobre a caracterização de alergias alimentares em crianças portuguesas seguidas em consulta hospitalar (Morais-Almeida, 1999; Santalha, 2013).

3.5.2. Objetivos

- Caracterizar, do ponto de vista sociodemográfico e do perfil de sensibilização, as crianças com alergia alimentar seguidas na consulta de Pediatria-Alergologia do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira (CHUCB).
- Refletir sobre a abordagem efetuada de modo a melhorar procedimentos e eficácia clínica.

3.5.3. Métodos

Análise retrospectiva dos doentes que frequentaram a consulta de Pediatria-Alergologia, no ano de 2017, no CHUCB, com diagnóstico clínico de AA. Foram analisados os dados sociodemográficos, antecedentes familiares de patologia alérgica e exames complementares de diagnóstico realizados para estudar a doença alérgica.

3.5.4. Resultados encontrados

De um total de 7435 consultas de pediatria realizadas no ano civil de 2017 no CHUCB, 977 foram consultas de Pediatria-Alergologia. Destas, 163 foram primeiras consultas e 814 consultas subsequentes (16,7% de 1^{as} consultas). As 977 consultas dizem respeito a 526 crianças que foram assim incluídas neste estudo. A idade média à data da última consulta foi de 12 anos e 63% eram de sexo masculino. Relativamente à zona de residência, 57% das crianças residiam em área considerada urbana e 43% em área rural.

As patologias do foro alergológico mais frequentes foram asma (64,4%), e rinoconjuntivite (57,2%), sendo que havia uma sobreposição destas patologias em 167 doentes. 14,8% das crianças tinham diagnóstico de eczema atópico, 7% de alergia alimentar, urticária em 6,7% e anafilaxia em 1,0%.

Das 526 crianças seguidas em consulta de Pediatria- Alergologia no ano de 2017, 37(7%) eram seguidas por Alergia Alimentar (Figura 6).

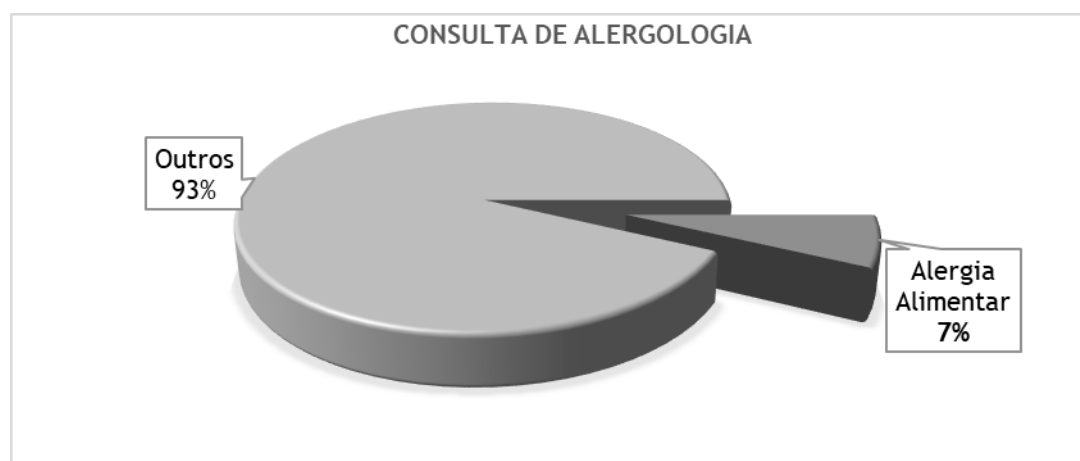


Figura 6- Alergia alimentar na consulta de Pediatria-alergologia

Eram do género masculino 59% das crianças, e 54% viviam em zona urbana. Os dados demográficos das crianças seguidas em consulta por AA encontram-se na Tabela 31.

Tabela 31- Dados sociodemográficos das crianças com alergia alimentar

	total		AA	
	n	%	n	%
Sexo				
Masculino	331	63,0	22	59
Feminino	195	37,0	15	41
Área de residência				
Urbana	300	57,0	20	54
Rural	226	43,0	17	46
Total	526	100,0	37	100

A idade média da primeira consulta foi de 4,6 anos, e a idade média na última consulta (em 2017) foi de 8,2 anos de idade, com um tempo médio de seguimento de 3,6 anos, mais novas que na consulta geral de alergologia com idade média da 1ª consulta de 6 anos e idade média na última consulta de 12 anos (tabela 32). A idade mínima na 1ª consulta foi de 5 meses e máxima de 15 anos

Tabela 32- Idade atual e idade da primeira consulta

Idade (anos)	total	AA
1ª consulta (Média ± DP)	6,18±2,88	4,56 ± 3,10
Última consulta (Média ± DP)	11,58±3,59	8,19 ± 4,24
Tempo de seguimento	4,99±3,31	3,61 ± 3.30

Vinte crianças (54%) tinham registo de antecedentes familiares de atopia; destas, 55% tinham antecedentes de atopia materna, 40% de atopia paterna e 40% tinham irmãos com atopia.

Na avaliação dos dados somatométricos, verificamos que apenas 2 (5,4%) crianças tinham excesso de peso, com IMC $P > 95$ e 2 (5,4%) baixo peso; a maior parte das crianças (89,2%) apresentavam crescimento adequado com um IMC normal.

Das crianças seguidas em consulta por AA, 68% tinham outras manifestações de atopia diagnosticadas, sendo a rinite a patologia mais associada a AA (41%), seguida de asma em 35% das crianças e eczema atópico em 27% das crianças (Figura 7).

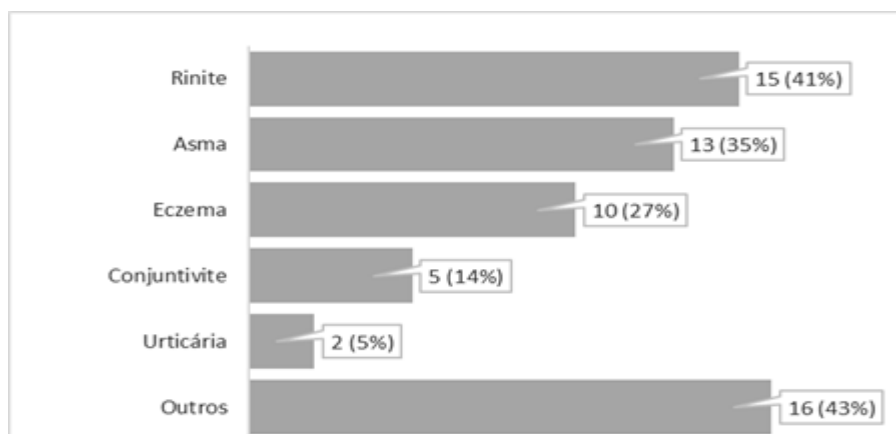


Figura 7-Antecedentes pessoais de atopia em crianças com AA

Foram efetuados estudos de IgE múltiplos em 19 crianças, a maior parte Fx5E (14) que avalia Clara de ovo, Leite, Peixe-bacalhau, Trigo, Amendoim e Soja, 3 fizeram Fx74 (Bacalhau, Cavala, Arenque e Solha), e Fx2 (teste de IgE's múltiplas para Peixe, Camarão, Mexilhão, Atum e Salmão), foi efetuado em duas crianças. Para 27 crianças estavam disponíveis no processo estudos de sensibilização a alimentos (IgE específica). Verificámos que 55,5% das crianças estavam sensibilizadas a dois ou mais alimentos e, 29,6%, estavam sensibilizadas a 4 ou mais alimentos.

Os alimentos mais implicados na AA das crianças seguidas em consulta foram o leite e derivados, seguido de ovo e frutos frescos. Sensibilização ao amendoim ou marisco ocorreu em 15% das crianças (Tabela 33).

Tabela 33- Testes de IgE específica positiva, com distribuição por grupos alimentares

Grupo alimentos /alimento mais implicado	n	%
Leite e seus derivados	11	40,7%
Leite de vaca	10	37,0%
Ovo	10	37,0%
Clara	9	33,3%
Frutos frescos	8	29,6%
Morango	4	14,8%
Frutos secos	5	18,5%
Amendoim	4	14,8%
Marisco	4	14,8%
Camarão	3	11,1%
Leguminosas e legumes	2	7,4%
Soja	2	7,4%
Peixe	2	7,4%
Bacalhau	2	7,4%
Cereais	1	3,7%
Trigo espelta	1	3,7%

3.5.5. Conclusões

As patologias do foro alergológico são patologias frequentes em idade pediátrica, com peso significativo nas consultas de pediatria pela sua frequência (13% do total de consultas) e pela necessidade de seguimento crónico (o tempo médio de seguimento foi de 5 anos). A prevalência de AA é baixa, 7% em crianças da consulta de pediatria-alergologia, um pouco inferior à reportada por Morais de Almeida (1998) (8,5%), eventualmente justificada por existir no CHUCB uma consulta de alergologia de adultos que recebe as crianças mais velhas, no entanto também exige seguimento continuado quer pela patologia em si, até tolerância do alimento implicado ou orientação adequada, quer pelas patologias alergológicas associadas.

As crianças seguidas por AA são mais novas e iniciam o seu seguimento em consulta mais cedo que o grupo geral de crianças seguidas na consulta, o que está de acordo com a literatura que localiza a AA em idades mais precoces, nomeadamente alergia ao leite e ovo que surgem habitualmente no 1º ano de vida (Venkataraman, 2018). Também no nosso estudo de prevalência de AFr, os primeiros sintomas surgiram aos 2,5 anos em média. O sexo masculino e a residência em área urbana foram mais frequentes que o sexo feminino e residência em área rural, tanto para as crianças da consulta em geral como para as crianças com AA, o que está de acordo com maior risco descrito de AA para o sexo masculino e constatado também no nosso estudo de prevalência de AA (Liu, 2010; Pyrhonen, 2011; Jorge, 2017; Botha, 2019). Os alimentos mais implicados foram leite e derivados (40%), ovo (37%) e frutos (29,6%), tendo aqui os frutos uma maior prevalência que no estudo de Morais de Almeida (1999) em que o 3º alimento mais prevalente foi o peixe. Estes dados também estão confirmados no estudo de AA (Jorge, 2017) em que os frutos frescos foram o alimento mais implicado na AA em crianças dos 3 aos 11 anos de idade. Dado o reduzido tamanho da amostra, não analisámos a distribuição dos diferentes alimentos por idades, mas como o grupo inclui crianças desde o primeiro ano de vida estão refletidas aqui as alergias mais frequentes nas crianças mais novas. Alergia ao amendoim e marisco, mais associadas a idades superiores, também foram relevantes. Mais de metade das crianças estavam sensibilizadas a pelo menos 2 frutos e 68% tinham outras manifestações de atopia, em especial rinite e asma, de acordo com os resultados do estudo de prevalência de AA efetuado nesta região (Jorge, 2017).

Antecedentes familiares de atopia, foram encontrados para 54% das crianças com AA, em especial na mãe, de acordo com a literatura que considera a atopia pessoal e familiar como os fatores de risco mais consensuais (Ebisawa, 2017).

A AA tem um grande impacto na vida pessoal e familiar das crianças, pelo que a identificação do alimento e/ou aditivo que causa reação, respetivas proveniências, reatividades cruzadas com alimentos e inalantes, são fundamentais para uma orientação adequada, pois a evicção e educação para evitar exposições inadvertidas é o único tratamento com sucesso comprovado em idade pediátrica. Por outro lado, uma evicção alimentar com restrição de múltiplos

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

alimentos pode condicionar riscos nutricionais, emocionais e redução significativa da qualidade de vida das crianças e suas famílias, pelo que é imperiosa uma adequação criteriosa das medidas impostas, sem, contudo, permitir riscos desnecessários ou descuidar a possibilidade de terapêutica adequada e eficaz.

3.6. Medidas de educação para a saúde na área das alergias alimentares

Com base na evidência atual apresentamos aqui algumas medidas destinadas fundamentalmente a crianças, pais e cuidadores de crianças com alergia alimentar. Acreditamos que estas possam ser úteis para explicar os problemas frequentemente complexos que enfrenta uma criança com alergia, e fornecer ao leitor as medidas apropriadas para prevenção de reação alérgica, tendo em conta que o melhor tratamento de uma reação alérgica grave (nomeadamente anafilaxia) é a prevenção.

Introdução

Uma reação alérgica aos alimentos traduz-se numa reação inapropriada pelo sistema imunitário do organismo, à ingestão de alimentos que não causam efeitos adversos na maioria das pessoas.

As reações alérgicas aos alimentos podem causar doenças graves e, em alguns casos, morte. Portanto, se tem alergia alimentar, é extremamente importante que junto do seu médico se identifiquem quais alimentos causam reação alérgica.

Em pessoas muito sensíveis cheirar ou tocar no alimento alergénico pode ser o suficiente para desencadear a reação alérgica.

O mesmo alimento pode provocar sintomas completamente diferentes em pessoas diferentes, assim como podem surgir diferentes reações na mesma pessoa em ocasiões diferentes. Os sintomas mais frequentes são: náuseas, diarreia, dores abdominais, eczema/ erupções cutâneas, angioedema, urticária, rinite alérgica, tosse ou Vômitos. Edema da glote, crise de asma, choque anafilático são menos frequentes, mas mais graves e podem levar à morte.

Como viver com a alergia?

Não existe, de momento, tratamento eficaz para crianças com alergia alimentar. Somente é possível a prevenção, ou seja, a evicção dos alimentos potencialmente alergénicos.

No caso de exposição acidental, alguns medicamentos podem ajudar a aliviar os sintomas e até salvar a vida de uma pessoa com reação anafilática. Embora alguns anti-histamínicos possam ajudar a aliviar sintomas menores de uma alergia, eles não conseguirão, sozinhos, dominar um episódio de alergia grave.

É, assim, recomendável que, pessoas com alergias, aprendam sobre a composição da comida, tanto no restaurante como nos supermercados, sobre os comportamentos a adotar para prevenir reações e aqueles que sofrem de alergia a alimentos que possam causar reação

anafilática devem ter em sua posse adrenalina autoinjectável (e ter declaração médica de Portador de adrenalina autoinjectável).

O doente alérgico deve consultar os rótulos das embalagens de todos os produtos que consome e familiarizar-se com os termos utilizados pela indústria alimentar que identificam cada um dos ingredientes. A identificação do ingrediente proveniente do alimento a que é alérgico evitará um consumo inadvertido e a ocorrência de uma reação que poderá ser grave.

Para além dos familiares, todos aqueles que contactam diariamente com o doente com alergia alimentar grave devem ter conhecimento da sua alergia, devendo estar familiarizados com o plano de emergência. É importante facultar informação específica quanto ao reconhecimento dos sinais e sintomas de alergia e particularmente quanto à administração de adrenalina injetável. Este ensino deverá ser facultado na escola, no local de trabalho ou outros locais que o doente frequente.

Em que consiste a evicção alimentar?

De modo a prevenir a ocorrência de uma reação alérgica é necessária a restrição, não só de todos os alimentos diretamente responsáveis pela alergia, como também daqueles que poderão conter o alergénio na sua composição. É essencial conhecer quais são os ingredientes que compõem uma receita ou preparação culinária, mesmo quando a presença do alimento alergénico em questão não é aparente. Por exemplo, a confeção de puré de batata poderá incluir como ingredientes leite, ovo e farinha de trigo, ingredientes estes que muitas vezes não são considerados e que devem ser evitados, se uma reação alérgica lhes estiver associada. Para prevenir uma ingestão acidental, é fundamental a educação para a leitura e interpretação de rótulos alimentares, no sentido de identificar alergénios potencialmente escondidos. Os alimentos processados incluem muitas vezes alergénios escondidos, que podem não ser evidentes pela sua designação, p. ex. a presença de frutos secos num chocolate de leite. Por vezes, a presença ocorre por contaminação cruzada nas linhas de produção dos alimentos processados.

Por outro lado, a planificação da dieta passa frequentemente pela colaboração entre o médico e o nutricionista visando garantir uma alimentação diversificada e que não leve a carências ou erros nutricionais.

Contaminação de alimentos

Em algumas pessoas alérgicas, quantidades muito reduzidas de alergénio podem ser suficientes para provocar uma reação grave. Muitas vezes um alimento que parecia ser seguro pode desencadear uma reação alérgica, apenas por ter entrado em contato com outros alimentos que têm o alergénio. A este fenómeno designa-se contaminação cruzada, podendo em alguns casos

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

ter consequências severas. Portanto, devemos estar muito vigilantes ao preparar alimentos para evitar a contaminação por alergénios.

A contaminação direta ocorre quando um alimento toca diretamente num alergénio.

A contaminação cruzada ocorre quando um alimento toca numa panela, uma superfície de trabalho, mãos etc. que já entraram em contacto com um alergénio e não foram devidamente limpos.

Prevenção da contaminação de alimentos /Medidas gerais de prevenção de anafilaxia por alimentos

Existem pequenos cuidados e medidas simples na preparação e produção de alimentos e refeições, que podem prevenir a contaminação cruzada e que permitem garantir a ingestão de alimentos seguros:

1. Ler atentamente a lista de ingredientes nos rótulos de cada produto alimentar e conhecer os diferentes nomes usados para designar alergénios;
2. Lavar as mãos frequentemente quando prepara ou toca os alimentos e também antes e depois de comer;
3. Não usar os mesmos utensílios durante a preparação, confeção, empratamento e distribuição de refeições (talheres, misturadoras, batedeiras, tábuas de corte, pratos, travessas, tachos e panelas e outros);
4. Não utilizar o mesmo óleo de fritura ou água de cozedura para diferentes alimentos;
5. Não utilizar as mesmas bancadas ou superfícies de contacto para a manipulação de alimentos; limpar cuidadosamente as superfícies e os utensílios de trabalho antes e depois da preparação alimentos;
6. Não reutilizar utensílios e recipientes que tenham entrado em contacto com alergénios, a menos que tenham sido lavados e higienizados;
7. Não usar a mesma colher para os diferentes aromas de gelado;
8. Cuidado com panos de limpeza, toalhas, louças que contaminam facilmente;
9. Durante as refeições, doentes com alergia alimentar devem evitar a partilha de alimentos e de utensílios (talheres, pratos, guardanapos, copos) ou contacto direto com alimentos potencialmente alergénicos;
10. Cuidado com os *buffets* servidos em restaurantes porque os utensílios são frequentemente reutilizados em diferentes pratos;
11. Cuidado com a proximidade de alimentos alergénicos:
 - a. Se as nozes moídas forem polvilhadas sobre um bolo, poderão contaminar outros bolos colocados nas proximidades;
 - b. Ao cozinhar dois pratos ao mesmo tempo, poderão ocorrer salpicos de um para o outro;

- c. Evite alimentos a granel;
- d. Armazene adequadamente os alimentos (em recipientes herméticos);
- e. Evite alimentos fatiados na compra, pois o cortador pode ter estado em contato com substâncias alergénicas;
- f. Cuidado com os moedores de café que podem ser usados para moer café, avelãs ou outros alergénios, para além de café comum;
- g. Evite as máquinas de cortar pão que possam ter entrado em contato com nozes ou sementes;
- h. Pergunte se o moedor de carne esteve em contato com mais carne de outra espécie animal e foi cuidadosamente lavado e higienizado.

Responsabilidades dos pais/responsáveis de uma criança com alergia alimentar potencialmente grave / com risco de anafilaxia

Cada pai/mãe/responsável por uma criança com alergia que ameaça a vida, deve ter as seguintes preocupações:

1. Ensinar seu filho a:

- a. Reconhecer os primeiros sintomas de uma reação alérgica/anafilática aos alimentos;
- b. Comunicar com os funcionários da escola assim que sentir que uma reação está a começar;
- c. Transportar consigo a adrenalina autoinjectável, quando apropriado;
- d. Não partilhar lanches, almoços, bebidas ou utensílios;
- e. Entender a importância de lavar as mãos antes e depois de comer;
- f. Relatar provocações e/ou *bullying* que possam estar relacionados com a patologia da criança.

2. Assumir a responsabilidade pela sua própria segurança. O plano deve ser adequado à independência apropriada à idade e à sua capacidade de funcionar autonomamente.

À medida que as crianças crescem, devem:

- a. Conhecer e adotar medidas de autodefesa de acordo com a gravidade da alergia, junto de adultos e colegas;
- b. Comunicar os sintomas, assim que aparecerem, ao professor da escola ou adulto mais próximo;
- c. Incentivar a educação sobre leitura de rótulos e segurança dos ingredientes;
- d. Administrar a adrenalina autoinjectável e ser capaz de treinar outras pessoas para o seu uso;
- e. Desenvolver a consciência sobre ambientes seguros, praticar comportamentos adequados à idade em relação à saúde e segurança.

3. Informar a escola sobre as alergias do seu filho antes da abertura da escola (ou assim que possível após o diagnóstico). Todas as alergias alimentares devem ser documentadas por declaração do Médico Assistente. Fornecer números de contato e informações médicas adicionais.
4. Fornecer adrenalina em viagens de estudo.
5. Fornecer "lanches seguros" para a sala de aula do aluno, para que sempre haja algo que seu filho pode escolher, durante um evento especial não planeado.
6. Incentivar a criança a lavar as mãos antes e depois de manusear os alimentos. Incentive a criança a identificar a zona controlada a utilizar para comer e fácil acesso a sabão dentro ou perto das salas de aula.
7. Informar a escola sobre qualquer alteração no *status* de Alergia alimentar com risco de vida da criança.
8. Fornecer à escola a declaração do médico se o aluno ultrapassou as alergias alimentares.

Responsabilidades da criança ou adolescente na escola

Cada aluno com uma alergia que ameaça a vida deve ser preparado para:

1. Desenvolver um contacto facilitado com o professor ou outro adulto de confiança na escola para ajuda na identificação de questões relacionadas com a sua alergia alimentar na escola.
2. Fazer uma lavagem adequada das mãos antes e depois de comer e durante o dia escolar.
3. Evitar compartilhar ou trocar alimentos ou comer com utensílios de outras pessoas. Assumir a responsabilidade de evitar alergénios alimentares.
4. Não comer nada com ingredientes desconhecidos ou que contenha alergénios.
5. Evitar colocar algo na boca, como utensílios para escrever, dedos ou outros objetos estranhos.
6. Ser proativo no cuidado e orientação das suas alergias e reações alimentares com base no seu nível de desenvolvimento. Aprender a reconhecer sintomas pessoais.
7. Notificar imediatamente um adulto se comer algo que, pensa, pode conter o alimento para o qual é alérgico.
8. Notificar um adulto se estiver a ser provocado ou ameaçado por colegas por ter uma alergia alimentar.
9. Manter adrenalina de emergência com o aluno, num local apropriado da escola ou na sala de aula, de acordo com o plano.
10. Desenvolver uma consciência do ambiente e das zonas controladas para alergias.
11. Conhecer o Plano Individual de Saúde em geral e entender as responsabilidades do plano.
12. Desenvolver maior independência para se manter protegido de reações anafiláticas.

Responsabilidades dos serviços de nutrição e cantinas

Os serviços de nutrição devem:

1. Fornecer formação aos funcionários do serviço de cantinas e nutrição sobre práticas seguras de manuseio de alimentos de modo a evitar contaminação cruzada com possíveis alergénios alimentares.
2. Os funcionários do serviço de alimentação devem usar luvas sem látex. As mãos com luvas deverão ser lavadas ou trocadas frequentemente para evitar a contaminação cruzada com possíveis alergénios alimentares.
3. Manter uma lista de alunos com alergia alimentar na área de serviço de alimentação com uma foto do aluno sempre que possível.
4. Atualizar o conhecimento de quais produtos alimentares que contêm alergénios.
5. Fornecer zonas seguras sem alergénios em escolas onde existam alunos com alergias alimentares.
6. Promover ações de formação e de treino em serviço para atuação em alunos com alergias com risco de vida, incluindo demonstração do uso de adrenalina.
7. Com a aprovação dos pais, estabelecer procedimentos razoáveis para o refeitório em relação a alergias a alimentos.
8. Responder adequadamente a todas as reclamações e preocupações de qualquer aluno com risco de vida por alergia, incluindo permitir que o aluno solicite ajuda se suspeitar de qualquer potencial sintoma.

Responsabilidades dos professores

Cada professor deve ter as seguintes responsabilidades:

1. Conhecimento dos sinais e sintomas de reação alérgica grave, conforme fornecido nas instruções do aluno, no plano de assistência médica, e esteja ciente e implemente o plano de emergência se houver uma reação suspeita.
2. Rever o Plano Individual de Saúde com a equipa de saúde e pai (s) ou responsável (s) de qualquer aluno da sua sala de aula com alergias potencialmente fatais, juntamente com funcionários de referência.
3. Participar em ações de formação e treino em serviço, sobre estudantes com alergias com risco de vida, incluindo demonstração sobre como usar a adrenalina.
4. Em colaboração com os pais ou responsáveis da criança alérgica, e a direção da escola, estabelecer um protocolo sobre a circulação de alimentos na sala de aula. Este protocolo deverá ser comunicado aos restantes alunos e pais/responsáveis da turma.
5. Participar no plano da reinserção de um aluno na escola após uma reação anafilática.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

6. Notificar os pais, por comunicação escrita, sobre qualquer atividade escolar que exija o uso de comida. Limitar o uso de alimentos nas aulas.
7. Colaborar com a escola e pais/responsáveis de uma turma, com uma criança com alergia que ameaça a vida, na divulgação junto dos outros alunos e pais e alertando para o potencial risco do uso de alimentos nas aulas.
8. Reforçar as práticas apropriadas de higiene em sala de aula, nomeadamente a lavagem das mãos antes e depois de comer.
9. Responder imediatamente a relatos de alunos provocados ou intimidados por suas alergias alimentares.
10. Seguir o Plano de Ação para Alergia e ligar para o número de emergência 112 quando ocorrerem sintomas relacionados com a alergia com risco de vida, e atuar de acordo com as manifestações de AA, nomeadamente SBV e uso de adrenalina.

Fontes:

Pádua I, Barros R, Moreira P, Moreira A. Alergia Alimentar na Restauração. Graça P e Carrelhas H. *Direção Geral de Saúde*; 2016.

Grupo de Interesse de alergia a alimentos da SPAIC. Alergia alimentar: conceitos, conselhos e precauções. 1ª edição, Costa C, Prates S, Carrapatoso I, 2017.

Nunes M, Barros R, Moreira P, Moreira A, Almeida MM. Alergia alimentar. Ministério da Educação e Ciência- Direção-Geral da Educação; Ministério da Saúde - Direção Geral da Saúde;2012.

Guidelines for Managing Life-Threatening Food Allergies in Connecticut Schools. Connecticut State Department of Education – 2012.

Muraro A, Agache I, Clark A, Sheikh A *et al.* EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines: managing patients with food allergy in the community. *Allergy* 2014; 69: 1046-1057.

Direção-Geral da Saúde. Anafilaxia: Abordagem Clínica. Norma nº 014/2012 de 16/12/2012 atualizada a 18/12/2014.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

4. Discussão Geral e Conclusões

O primeiro objetivo deste estudo foi desenvolver e validar um questionário confiável, completo e de fácil preenchimento, para utilizar em estudos epidemiológicos e, secundariamente, também para avaliar, diagnosticar e orientar crianças em risco de alergia alimentar.

Assim, neste trabalho contruímos um questionário, o primeiro em Portugal, para avaliação de crianças com suspeita de alergia alimentar, com muito boa consistência interna e estabilidade temporal.

Trata-se de um questionário abrangente, de fácil aplicação como base de avaliação diagnóstica e orientação clínica de crianças com suspeita de alergia alimentar podendo, no nosso entender, ser utilizado na prática clínica diária. Não pretendendo com o questionário fazer um diagnóstico definitivo de AA (a prova de provocação continua a ser o *Gold standard* para o seu diagnóstico), com este instrumento de trabalho, é possível uniformizar linguagem e critérios, fazer estudos de prevalência comparáveis e ser um ponto de partida para futuros estudos na área.

O segundo objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência de RAA e AA, identificando os alimentos mais implicados e as características clínicas e laboratoriais da alergia alimentar em crianças da Beira Interior.

Para atingir este objetivo, apresentámos o primeiro de estudo de prevalência de RAA e AA de base populacional em crianças portuguesas. Este estudo demonstrou que a prevalência de AA é baixa nas crianças portuguesas e é significativamente maior quando o diagnóstico é feito com base em reação autorreportada (questionário não presencial ou presencial) do que quando é feita investigação suplementar. Só 19,3% das crianças com suspeita de RAA, (Q1+) viram confirmada uma Alergia alimentar provável (IgE-Med). Assim, consideramos importante fazer um diagnóstico cuidadoso, baseado em história clínica estruturada sugestiva e em estudos de sensibilização *in vivo* e *in vitro* de modo a distinguir reações adversas de verdadeiras alergias alimentares.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Os alimentos mais frequentemente implicados no nosso estudo, como os frutos frescos e peixe, refletem os hábitos alimentares das nossas crianças com introdução do peixe e frutos no 1º ano de vida e uma alimentação rica nestes alimentos. As reações IgE-Mediadas são mais frequentemente de tipo imediato, polissintomáticas, mais graves, nomeadamente com sintomas respiratórios e anafilaxia, e iniciando-se os sintomas em idades mais precoces nas crianças com reação IgE-Med do que nas crianças com reação não IgE-Med.

O terceiro objetivo deste estudo foi determinar a prevalência de AA a frutos frescos numa região de elevada prevalência de sensibilizações polínicas, caracterizar os aspetos sociodemográficos, os principais frutos implicados, seus padrões clínicos e a sensibilização e a reatividade cruzada a pólenes.

Sendo os frutos frescos um grupo de alimentos essencial a uma alimentação saudável, associado a prevenção de várias patologias neoplásicas e metabólicas, contribuindo em especial na infância para o desenvolvimento e manutenção de estilos de vida saudáveis no futuro (Joffe, 2001; Fernández-Rivas, 2008) foi na Cova da Beira o principal grupo alimentar implicado nas RAA e nas AA (>1/3) para a faixa etária dos 3 aos 11 anos. Em grande parte, esta situação poder-se-á também atribuir ao facto de ser uma região de elevada exposição e sensibilização polínica. A prevalência de AFR mediada por IgE em crianças foi cerca de 0,5%, sendo os frutos mais implicados o kiwi e o pêsego, com LTPs como os panalergénios moleculares mais frequentemente envolvidos. O fenótipo clínico mais frequente foi imediato e monossintomático, sendo a principal manifestação a mucocutânea localizada e SAO. As crianças como AFR apresentaram um elevado grau de sensibilização cruzada a pólenes e ao látex, particularmente para os frutos das famílias *Rosaceae*, *Cucurbitaceae* e *Bromeliaceae*.

O quarto objetivo deste trabalho foi determinar, numa amostra de crianças portuguesas, a associação dos fatores de risco mais consensuais com a presença ou ausência de AA e RAA.

Assim, neste estudo, procurou-se avaliar alguns possíveis fatores de risco para AA provável, IgE-Mediada, em comparação com AA possível, não IgE-Mediada. Embora tenha sido um estudo retrospectivo, foram detetados o sexo masculino e a atopia pessoal como fatores de risco. Por outro lado, aspetos considerados relevantes noutros estudos, como um menor tempo de amamentação, a atopia familiar, o nível socioeconómico e o local de residência não apresentaram, neste estudo, um risco acrescido para reação IgE-Mediada.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

O último objetivo deste trabalho foi refletir sobre as implicações práticas deste estudo, a nível individual, familiar e populacional, resultando na elaboração de medidas de educação para a saúde que se possam refletir em medidas de saúde pública e melhoria contínua dos cuidados de saúde

Neste ponto, produzimos uma monografia com princípios gerais e práticos a seguir para aumentar o grau de literacia em alergias alimentares, para ser distribuída por pais de crianças com alergia, escolas e na comunidade em geral.

Pontos fortes/limitações do estudo

Este estudo sobre alergias alimentares em crianças da Cova da Beira tem alguns pontos fortes bastante relevantes:

Em primeiro lugar, desenvolvemos um questionário para avaliação de crianças com RAA. Avaliámos a sua validade aparente e de conteúdo, a sua consistência interna e reprodutibilidade. Mostrou ser um questionário de fácil aplicação com boa estabilidade temporal e muito boa reprodutibilidade para as questões mais relevantes, podendo ser um questionário adequado para rastreio de crianças com RAA.

Efetuámos um estudo pioneiro, o primeiro em Portugal e um dos primeiros a nível internacional, de prevalência de RAA e AA em crianças, de base populacional. Seleccionámos uma amostra elevada e obtivemos uma taxa de resposta aceitável o que nos permite extrapolar os resultados para a população pediátrica nacional e mesmo a nível internacional. Acreditamos que o rigor do questionário e os estudos *in vivo* e *in vitro* adicionais apenas a crianças com clínica compatível com RAA permitiram-nos conhecer melhor o perfil clínico e imunológico das reações a alimentos em geral e por grupos de alimentos em particular, e determinar prevalências reais.

Aprofundámos ainda mais o estudo, através da avaliação de sensibilização a frutos frescos, uma vez que a Cova da Beira é um exemplo de região com elevadas concentrações polínicas e sensibilizações a esse tipo de aeroalergénios. Isto, permitiu determinar os valores de prevalência não só de alergia possível, mas também provável, IgE-Mediada, a frutos frescos, bem como avaliar a prevalência e características da síndrome pólen-frutos nesta região, bem como a sua base molecular.

Finalmente, efetuámos um estudo comparativo entre RAA IgE-Med e Não-IgE-Med, que permitiu, ainda, perceber os dados clínicos sugestivos de reação a alimentos sugestiva de IgE-Mediada e com risco de reações futuras e sua gravidade.

Globalmente, este estudo tem, no entanto, algumas limitações:

Em relação à validação do questionário, podemos admitir que a validade de conteúdo foi efetuada em 24 crianças com alergias alimentares, que pode ser um número relativamente pequeno. No entanto, foi feita uma análise semelhante também em 50 crianças com suspeita de AA. Assim acreditamos que o tamanho da amostra usada deverá ser adequado tendo em conta as recomendações para análise dos itens (Rouquette, 2011).

Embora a maior parte das questões tenham apresentado muito boa consistência e reprodutibilidade, algumas questões tiveram baixa consistência e foram reformuladas ou mesmo retiradas. A análise de confiabilidade através do alfa de Cronbach não foi usado devido à natureza intrínseca dos itens do questionário que não o permitiram (Rodriguez, 2006). Por outro lado, o tempo decorrido entre o teste e o reteste foi superior ao ideal (cerca de 2 semanas), embora a mediana tenha sido no nosso estudo de 3 semanas a média de tempo foi de 5 semanas, semelhante a outros estudos. No entanto, este tempo decorrido pode estar associado a viés de memória.

Também o viés de memória pode estar presente nas respostas ao questionário relativas a idades de introdução de alimentos, de reações e do tipo de reação. É possível que os pais recordem mais facilmente acontecimentos mais graves ou mais recentes (Eggesbø, 2001). Um estudo prospetivo de coorte poderia obviar esta limitação. Este questionário poderia ainda ser validado, encontrando a sua especificidade e sensibilidade usando como comparação o *Gold standard* que é a PPODC.

Embora o nosso questionário seja simples e tenha sido usado para encontrar crianças com reações adversas e alergias alimentares, poderia ainda ser melhorado introduzindo questões com respostas tipo Likert de modo a aumentar a robustez para detetar perfis específicos de alergia alimentar.

Em relação aos estudos de prevalência de AA, não podemos ignorar a possibilidade de viés inerente aos estudos de prevalência de base populacional (Rancé, 2005; Ramesh, 2008).

Apesar da taxa de resposta ter sido razoável, a subpopulação que não respondeu (38,8%) pode, de algum modo, ser diferente da que respondeu, quer em termos sociais quer em termos de reações. Também a taxa de resposta variou entre os diferentes agrupamentos de escolas; eventualmente os não respondentes poderão ter menos atopia (Venter, 2006; Zuidmeer, 2008), AA menos grave ou AA a alimentos facilmente excluídos da dieta (Eggesbø, 2001; Zuberbier, 2004). Por outro lado, embora com pouca expressão nesta região, não foram incluídas as crianças que frequentavam escolas privadas. Também alguns pais recusaram participar no estudo porque já eram seguidas em imunoalergologista privado.

O facto de não termos confirmado as RAA e AA com PPODC poderá ter condicionado uma sub- ou sobre estimativa da verdadeira prevalência de AA, pela não inclusão de crianças com História Clínica sugestiva, mas testes de sensibilização negativos ou associação errada entre clínica sugestiva e sensibilização (Morais Almeida 1999; Rancé, 2005; Cocco, 2007; Carrapatoso, 2009; Beck, 2017).

Em relação ao estudo de fatores de risco para AA, há muito fatores de risco em discussão e poucos são os consensuais. De facto, avaliámos os fatores de risco mais comprovadamente implicados na AA e mesmo para esses nem sempre obtivemos dados concordantes com a literatura, ou devido ao tamanho da amostra ou porque os fatores de risco continuam controversos e mais estudos são necessários para conhecer verdadeiramente esta patologia. Ainda em relação aos fatores de risco, o facto de se tratar de um estudo retrospectivo poderá ter condicionado viés de memória no que diz respeito ao inquérito alimentar e, nomeadamente, a questões relativas a introdução de alimentos e aleitamento materno. Muitos outros dados poderiam ter sido avaliados, mas dada a vastidão de fatores de risco referidos, aos fatores confundentes que não poderíamos evitar com o desenho deste estudo, a necessidade de incluir muitas mais questões que tornariam o inquérito demasiado longo e desviaria a tenção do objetivo principal deste trabalho entendemos não o fazer. Poderíamos, no entanto, clarificar melhor o aleitamento materno em exclusividade e a diversificação alimentar sob aleitamento materno ou leite adaptado.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

5. Projetos futuros/ implicações práticas

Este estudo permitirá melhorar abordagem de crianças com AA não só da Cova da Beira, mas também de outras regiões, ao conhecer as suas características clínicas e serológicas e os principais alimentos envolvidos, no sentido de melhorar os métodos de rastreio/confirmação de uma AA mediada por IgE e otimizar a terapêutica, nomeadamente a evicção dos alimentos alergénicos da dieta. É necessário sensibilizar as entidades responsáveis pela regulamentação da indústria farmacêutica, alimentar e cosmética, nomeadamente no processo de fabrico e rotulagem dos produtos comercializados de modo a prevenir exposição acidental a alergénios ocultos, nomeadamente reações anafiláticas (Pádua, 2016).

A AFr pré-existente poderá ser considerada um fator de risco adicional para alergia ao látex no futuro, devendo ser avaliada na abordagem e seguimento de uma criança com AFr diagnosticada a frutos ligados à síndrome frutos-látex. Estudos futuros que incluam a determinação da prevalência das AFr em outros grupos etários (nomeadamente os adultos), permitirão conhecer a frequência das AFr na população da Cova da Beira. O recurso à PPODC e o uso de técnicas de biologia molecular para determinação dos epítomos envolvidos na reação alérgica, permitirão a determinação mais precisa da frequência de RAA/AA e o desenvolvimento de imunoterapia específica para cada indivíduo, baseada num padrão de sensibilização individual (Yu W, 2016). No entanto, a dessensibilização resultante da imunoterapia é muitas vezes temporária e a recorrência da alergia alimentar é frequentemente observada após a interrupção da ingestão regular da dose de manutenção do alergénio alimentar pelo que, ainda são necessários estudos adicionais de modo a tornar mais acessível o uso de imunoterapia (Yu W, 2016).

Com a divulgação dos dados deste estudo poderemos mais facilmente trabalhar para aumentar a literacia em saúde na área da alergia alimentar: alertar os pais, educadores e entidades envolvidas na distribuição, armazenamento e confeção de alimentos para a necessidade de implementar medidas práticas de prevenção de exposição. As crianças mais velhas e os pais devem ser informados de que a reação pode ser fatal, ensinados a ler os rótulos e, quando comem fora de casa, encorajados a requerer a composição dos alimentos e informar da sua alergia e riscos. As crianças com mais de 7 anos devem ser ensinadas e ser portadoras de adrenalina autoinjectável. As escolas devem dispor de informação adequada à confeção de alimentos e dispor de formação e equipamento necessário à abordagem de criança com reação anafilática, com identificação de pessoas de referência pra servirem de interlocutores entre a criança, os pais e a escola.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Bibliografia

1. Akasawa A, Matsumoto K, Saito H, Sakaguchi N, Tanaka K, Obata T, Tsubaki T, Iikura Y. Incidence of latex allergy in atopic children in Japan. *Arerugi*. 1993 Apr;42(4):582-585.
2. Alessandri C, Ferrara R, Bernardi ML, Zennaro D, Tuppo L, Giangrieco I *et al*. Diagnosing allergic sensitizations in the third millennium: why clinicians should know allergen molecule structures. *Clin Transl Allergy*. 2017;7:21. doi: 10.1186/s13601-017-0158-7.
3. Alessandri C, Zennaro D, Zaffiro A, Mari A. Molecular allergology approach to allergic diseases in the paediatric age. *Italian Journal of Pediatrics*. 2009;35(29):1-12.
4. Allen KJ, Koplin JJ. Prospects for prevention of food allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4:215-220.
5. Allergen Nomenclature [Online] International Union of Immunological Societies/ Allergen Nomenclature Sub-committee and the World Health Organisation 1986. Consultado a 01/09/2019 <http://www.allergen.org/>
6. Alvarado MI, Pérez M. Study of food allergy on Spanish population. *Allergol Immunopathol*. 2006;34:185-193.
7. Añíbarro B, Seoane FJ, Múgica MV. Involvement of hidden allergens in food allergic reactions. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2007;17:168-172.
8. Aragonés A, Calvo J, Ara G, Falcó S, Martín A. Alergia a las proteínas de huevo. *Allergol Immunopathol*. 2001; 29:84-95. Doi: 10.1016/S0301-0546(01)79023-4.
9. Arvaniti F, Priftis KN, Papadimitriou A, Papadopoulos M, Roma E, Kapsokefalou M *et al*. Adherence to the Mediterranean type of diet is associated with lower prevalence of asthma symptoms, among 10-12 years old children: the PANACEA study. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011;22:283-289.
10. Halcken S. Prevention of allergic disease in childhood: clinical and epidemiological aspects of primary and secondary allergy prevention. *Pediatr Allergy Immunol*. 2004;15 Suppl 16:4-5,9-32.
11. Pomés A, Davies JM, Gadermaier G *et al*. WHO/IUIS Allergen Nomenclature: Providing a common language. *Mol Immunol*. 2018;100:3-13. doi:10.1016/j.molimm.2018.03.003
12. Asero R, Tripodi S, Dondi A, Di Rienzo Businco A, Sfika I, Bianchi A *et al*. Prevalence and Clinical Relevance of IgE Sensitization to Profilin in Childhood: A Multicenter Study. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;168:25-31. doi: 10.1159/000441222.
13. Barre A, Cullerrier R, Granier C, Selman L, Peumans WJ, van Damme EJ, Bienvenu F, Bienvenu J, Rougé P. Mapping of IgE-binding epitopes on the major latex allergen Hev b 2 and the cross-reacting 1,3 beta-glucanase fruit allergens as a molecular basis for the latex-fruit syndrome. *Mol Immunol*. 2009; 46: 1595-1604. Doi: 10.1016/j.molimm.2008.12.007.

14. Barros R, Moreira A, Fonseca J, de Oliveira JF, Delgado L, Castel-Branco MG *et al.* Adherence to the Mediterranean diet and fresh fruit intake are associated with improved asthma control. *Allergy*. 2008 Jul;63(7):917-23.
15. Beck SC, Huissoon AP, Collins D, Richter AG, Krishna MT. The concordance between component tests and clinical history in British adults with suspected pollen-food syndrome to peanut and hazelnut. *J Clin Pathol*. 2018 Mar;71(3):239-245. doi: 10.1136/jclinpath-2017-204573;
16. Bedolla-Barajas M, Kestler-Gramajo A, Alcalá-Padilla G, Morales-Romero J. Prevalence of oral allergy syndrome in children with allergic diseases. *Allergol Immunopathol*. 2017;45(2):127-133.
17. Bento M, Armando F, César-Ramos J. Epidemiology of Food Allergy in Portugal. *Pediatr Pulmonol*. 2001;23:38-40.
18. Björkstén B. Genetic and environmental risk factors for the development of food allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2005 Jun;5(3):249-53.
19. Boaventura RM, Mendonça RB, Fonseca FA, Mallozi M, Souza FS, Sarni ROS. Nutritional status and food intake of children with cow's milk allergy. *Allergol Immunopathol*. 2019. Pii: S0301-0546(19)30048-5. Doi: 10.1016/j.aller.2019.03.003.
20. Bock SA. AAAAI support of the EAACI position paper on IgG4. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125:1410.
21. Bock SA. Diagnostic Evaluation. *Pediatrics*. 2003; 111:1638-1644.
22. Borres MP, Maruyama N, Sato S, Ebisawa M. Recent advances in component resolved diagnosis in food allergy. *Allergol Int*. 2016; 65: 378-387. Doi: 10.1016/j.alit.2016.07.002.
23. Botha M, Basera W, Facey-Thomas HE, Gaunt B, Genuneit J, Gray CL *et al.* Nutrition and allergic diseases in urban and rural communities from the South African Food Allergy (SAFFA) cohort. *Pediatr Allergy Immunol*. 2019; 30: 511-521. Doi: 10.1111/pai.13058.
24. Bousquet J, Björkstén B, Brujnzeel-Koomen CAFM, Huggett A, Ortolani C, Warner JO *et al.* Scientific criteria and the selection of allergenic foods for product labelling. *Allergy*. 1998;53:3-21.
25. Boyano-Martínez T1, García-Ara C, Díaz-Pena JM, Martín-Esteban M. Prediction of tolerance on the basis of quantification of egg white-specific IgE antibodies in children with egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(2):304-9.
26. Boyce JA, Assa'ad A *et al.* Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126 (6 Suppl): S1-S58. Doi:10.1016/j.jaci.2010.10.007.
27. Brand PL, Dubois AE. Diagnosis of food allergies in children. *NedTijdschr Geneesk*. 2006;150:2188-2190.
28. Breiteneder H, Ebner C. Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106(1 Pt 1):27-36.
29. Brough H, Lack G. The role of environmental exposure to peanut and the development of peanut allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2018;120:229-233.

30. Brown CE, Katelaris CH. The prevalence of the oral allergy syndrome and pollen-food syndrome in an atopic paediatric population in south-west Sydney. *J Paediatr Child Health*. 2014;50:795-800. doi: 10.1111/jpc.12658.
31. Brugman E, Meulmeester JF, Spee-vander WA, Beuker RJ, Radder JJ, Verloove-Vanhorick SP. Prevalence of self-reported food hypersensitivity among schoolchildren in The Netherlands. *Eur J Clin Nutr*. 1998;52:577-81.
32. Burks AW, Jones SM, Boyce JA *et al*. NIAID-sponsored 2010 guidelines for managing food allergy: applications in the pediatric population. *Pediatrics*. 2011;128(5):955-965. doi:10.1542/peds.2011-0539.
33. Burks W, Ballmer-Weber BK. Food Allergy. *Mol Nutr Food Res*. 2006;50:595-603.
34. Caeiro E, Ferro R, Nunes C, Lozoya-Ibáñez C, Morais-Almeida M. Calendário polínico da Região da Beira Interior (interior centro, Portugal). *Rev Port Imunoalergologia* 2017;25(3): 214.
35. Caffarelli C, Coscia A, Ridolo E, Povesi Dascola C, Gelmett C, Raqqi V *et al*. Parents' estimate of food allergy prevalence and management in Italian school-aged children. *Pediatr Int*. 2011;53:505-510.
36. Caffarelli C, Di Mauro D, Mastroilli C, Bottau P, Cipriani F, Ricci G. Solid Food Introduction and the Development of Food Allergies. *Nutrients* 2018; 10: 1790. Doi:10.3390/nu10111790.
37. Caffarelli C, Garrubba M, Greco C, Mastroilli C, Povesi Dascola C. Asthma and food allergy in children: is there a connection or interaction? *Front Pediatr*. 2016; 4: 34. Doi: 10.3389/fped.2016.00034.
38. Calvani M, Cardinali F, Martelli A, Muraro A; pucci N *et al*. Risk factors for severe pediatric food anaphylaxis in Italy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011;22:813-819.
39. Carlson G, Coop C. Pollen food allergy syndrome (PFAS): A review of current available literature, *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2019; doi: <https://doi.org/10.1016/j.anai.2019.07.022>.
40. Carrapatoso I, Faria E, Rodrigues F, Todo-Bom A, Loureiro C, Chieira C. Padrões clínicos de hipersensibilidade a frutos. Estudos in vivo e in vitro. *Rev Port Imunoalergol*. 2006;14:127-140.
41. Carrapatoso I, Prates S, Falcão H *et al*. Alergia alimentar. *Rev Port Imunoalergol*. 2009;17: 5-40.
42. Carrapatoso I, Sarinho E. Será possível prevenir a alergia alimentar? *Rev. Port Imunoalergol*. 2007;15:167-171.
43. Cerda LJ, Villarreal L. Evaluación de la concordancia inter-observador en investigación pediátrica: Coeficiente de Kappa. *Rev Chil Pediatr*. 2008;79: 54-8.
44. Chandra RK, Gill B, Kumari S. Food allergy and atopic disease: pathogenesis, diagnosis, prediction of high risk, and prevention. *Ann Allergy*. 1993;71:495-504.
45. Chandran U, Demissie K, Echeverria SE *et al*. Food allergy among low birthweight children in a national survey. *Matern Child Health J*, 2012.

46. Chehade M, Mayer L. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115:3 - 12.
47. Chen JL, Bahna SL. Spice allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2011;107:191-199. Doi: 10.1016/j.anai.2011.06.020.
48. Chiu CY, Liao SL, Su KW *et al*. Exclusive or Partial Breastfeeding for 6 Months Is Associated with Reduced Milk Sensitization and Risk of Eczema in Early Childhood: The PATCH Birth Cohort Study. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95(15):e3391. doi:10.1097/MD.0000000000003391
49. Chokshi NY, Sicherer SH. Interpreting IgE sensitization tests in food allergy. *Exp Rev Clin Immunol*. 2015; 12: 389-403. Doi: 10.1586/1744666x.2016.1124761.
50. Clark AT, Ewan PW. The development and progression of allergy to multiple nuts at diferente ages. *Pediatr Allergy Immunol*. 2005; 16: 507-511. Doi: 10.1111/j.1399-3038.2005.00310.x.
51. Cocco RR, Camelo-Nunes IC, Pastorino AC, Silva L, Sarni ROS, Filho NAR *et al*. Abordagem laboratorial no diagnóstico da alergia alimentar. *Rev Paul Pediatr*. 2007;25:258-265.
52. Cochrane S, Beyer K, Clausen M, Wjst M, Hiller R, Nicoletti C *et al*. Factors influencing the incidence and prevalence of food allergy. *Allergy*. 2009 Sep;64(9):1246-55. doi: 10.1111/j.1398-9995.2009.02128.x.
53. Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas*.1960; 20:37-46.
54. Colver AF, Nevantaus H, Macdougall CF, Cant AJ. Severe food-allergic reactions in children across the UK and Ireland, 1998-2000. *Acta Pædiatrica*. 2005;94:689-695. Doi:10.1111/j.1651-2227.2005.tb01966.x.
55. Comberiati P, Costagliola G, D’Elios S, Peroni D. Prevention of Food Allergy: The Significance of Early Introduction. *Medicina*. 2019; 55:323.
56. Cox HE. Food allergy as seen by an allergist. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008;47 Suppl 2:S45-8. Doi: 10.1097/01.mpg.0000338812.59686.6e.
57. Crespo JF, Pascual C, Burks AW, Helm RM, Esteban MM. Frequency of food allergy in a pediatric population from Spain. *Pediatr Allergy Immunol*.1995;6:39-43.
58. Crespo JF, Rodríguez J. Food allergy in adulthood. *Allergy*. 2003;58:98-113.
59. Cuesta-Herranz J, Lázaro M, Figueredo E, Igea JM, Umpiérrez A, de las Heras M. Allergy to plant-derived fresh foods in a birch- and ragweed-free area. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1411-1416.
60. Dalal I, Binson I, Reifen R, Amitai Z, Shohat T, Rahmani S *et al*. Food allergy is a matter of geography after all: sesame as a major cause of severe IgE Mediated food allergic reactions among infants and young children in Israel. *Allergy*. 2002; 57:362-365.
61. Des Roches A, Infante-Rivard C, Paradis L, Paradis J, Haddad E. Peanut allergy: is maternal transmission of antigens during pregnancy and breastfeeding a risk factor? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2010;20(4):289-94.

62. Deschildre A, Lejeune S, Cap M, Flammarion S, Jouannic L, Amat F, Just J. Food allergy phenotypes: The key to personalized therapy. *Clin Exp Allergy*. 2017;47:1125-1137. doi: 10.1111/cea.12984.
63. Du Toit G, Katz Y, Sasieni P, Mesher D, Maleki SJ, Fisher HR, Fox AT, (...), Lack G et al. Early consumption of peanuts in infancy is associated with a low prevalence of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122:984-991.
64. Du Toit G, Roberts G, Sayre PH, Plaut M, Bahnson HT, Mitchell H, Radulovic S, (...), Lack G et al. Identifying infants at high risk of peanut allergy: The Learning Early about Peanut Allergy (LEAP) screening study. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 131:135-143e12.
65. Du Toit G; Sayre PH; Robert G; Lawson K, Sever ML, Bahnson HT et al. Allergen specificity of early peanut consumption and effect on development of allergic disease in the Learning Early About Peanut Allergy study cohort. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;141:1343-53.
66. Dubois A, Turner PJ, Hourihane J, Ballmer-Weber B, Beyer K, Chan CH at al. quantidade *Allergy*. 2018; 73: 1383-1392. doi:10.1111/all.13405.
67. Ebisawa M, Ito K, Fujisawa T. Japanese guidelines for food allergy. *Allergol Internat* 2017;66:248-264.
68. Eggesbø M, Botten G, Halvorsen R, Magnus P. The prevalence of CMA/CMPI in young children: the validity of parentally perceived reactions in a population-based study. *Allergy*. 2001; 56: 393-402.
69. Eigenmann P, Sampson HA. Interpreting skin prick tests in the evaluation of food allergy in children. *Pediatr Allergy Immunol*.1998;9:186-91.
70. Eigenmann P. Mechanisms of food allergy. *Pediatric Allergy Immunol*.2009;20:5-11.
71. Eigenmann PA. Do we still need oral food challenges for the diagnosis of food allergy? *Pediatr Allergy Immunol*. 2018 May;29(3):239-242. doi: 10.1111/pai.12845.
72. Elbert NJ, van Meel ER, den Dekker HT, de Jong NW, Nijsten TEC, Jaddoe VWV et al. Duration and exclusiveness of breastfeeding and risk of childhood atopic diseases. *Allergy* 2017; 72: 1936-1943. Doi: 10.1111/all.13195.
73. Emmett SE, Angus FJ, Fry JS, Lee PN. Perceived prevalence of peanut allergy in Great Britain and its association with other atopic conditions and with peanut allergy in other household members. *Allergy* 1999; 54: 380-385.
74. Falcão H, Cunha L. Protocolo de estudo de reacções a alimentos numa consulta de alergia alimentar de um hospital pediátrico. *Rev Port Imunoalergol*. 2003;11:117-20.
75. Falcão H, Lunet N, Lopes C, Barros H. Food hypersensitivity in Portuguese adults. *Eur J Clin Nutr*. 2004;58:1621-5.
76. Farias Júnior JC, Lopes AS, Mota J, Santos MP, Ribeiro JC, Halla PC. Validade e reprodutibilidade de um questionário para medida de atividade física em adolescentes. *Rev Bras Epidemiol*.2012;15(1):198-210.
77. Farrell A, Judge C, Redenbaugh V, Awad H, Conlon N. Food-dependent exercise-induced reactions: lessons from a 15-year retrospective study. *Irish J Med Sci*. 2019; 188: 815-819. Doi: 10.1007/s11845-019-01965-1.

78. Feeney M, Du Toit G, Roberts G, Sayre PH, Lawson K, Bahnson HT *et al.* Immune Tolerance Network LEAP Study Team. Impact of peanut consumption in the LEAP Study: Feasibility, growth, and nutrition. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(4):1108-1118. doi: 10.1016/j.jaci.2016.04.016
79. Feldweg AMF. Food-dependent, exercise-induced anaphylaxis: diagnosis and management in the outpatient setting. *J Allergy Clin. Immunology Pract.* 2007;5:283-288.
80. Fernandes A, Bento ML, César-Ramos JM. Alergia alimentar - Casuística da Consulta de Alergia Alimentar do Serviço de Pediatria do Hospital de Santa Maria. *Cad Immun-Alerg Pediatr.* 1995;10:13-18.
81. Fernández-Rivas M, Benito C, González-Mancebo E, de Durana DA. Allergies to fruits and vegetables. *Pediatr Allergy Immunol.* 2008;19:675-681.
82. Fernández-Rivas M. Food Allergy in Alergológica-2005. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2009;19:37-44.
83. Figueiredo Filho D, Silva Junior J. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). *Revista Política Hoje,* 2009;18(1):115-146.
84. Fiocchi A, Assa'ad A, Bahna S. Food allergy and the introduction of solid foods to infants: a consensus document. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2006;97:10-21.
85. García Ortiz JC, Moyano JC, Alvarez M, Bellido J. Latex allergy in fruit-allergic patients. *Allergy.* 1998;53:532-536.
86. Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science.* 2016;352: 539-544. Doi: 10.1126/science.aad9378.
87. Ghaffar A. Hypersensitivity reactions. *J Med Microbiol.* 2001;(19-20):1-6. Disponível em: URL: <http://www.bums.ac.ir/shares/education/education/DrNaseri/Hypersensitivity>.
88. Giannetti MP. Exercise-induced anaphylaxis: literature review and recent updates. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2018; 18: 72. Doi: 10.1007/s11882-018-0830-6.
89. Giovannini M, D'Auria E, Caffarelli C *et al.* Nutritional management and follow up of infants and children with food allergy: Italian Society of Pediatric Nutrition/Italian Society of Pediatric Allergy and Immunology Task Force Position Statement. *Ital J Pediatr.* 2014;40:1. Doi:10.1186/1824-7288-40-1.
90. Gobinaath TR, Arokiaraj LA. Food allergy and allergens associated with bronchial asthma among school children in an urban and rural area of Puducherry, India: a cross-sectional study. *Int J Contemp Ped.* 2018; 5: 1623-1625.
91. Gomes-Belo J, Hannachi F, Swan K, Santos AF. Advances in food allergy diagnosis. *Curr Pediatr Rev.* 2018; 14: 139-149.
92. González-Mancebo E, González-de-Olano D, Trujillo MJ, Santos S, Gandolfo-Cano M, Meléndez A, Juárez R *et al.* Prevalence of Sensitization to Lipid Transfer Proteins and Profilins in a Population of 430 Patients in the South of Madrid. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2011;21:278-282.

93. Grabenhenrich LB, Reich A, McBride D, Sprikkelman A, Roberts G, Grimshaw KEC *et al.* Physician's appraisal vs documented signs and symptoms in the interpretation of food challenge tests: The EuroPrevall birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol.* 2018;29:58-65.
94. Grimshaw K, Logan K, O'Donovan S, Kiely M, Patient K, van Bilsen J *et al.* Modifying the infant's diet to prevent food allergy. *Arch Dis Child.* 2017;102:179-186.
95. Grüber C. Prevention of allergy by pro- and prebiotics. *Expert Rev Immunol.* 2009;5:1-3.
96. Gupta MS, Cox A, Nowak-Wegrzyn A, Wang J. Diagnosis of food allergy. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2018; 38: 39-51- Doi: 10.1016/j.iac.2017.09.004.
97. Gupta RS, Springston EE, Smith B, Warrier MR, Pongracic J, Holl JL. Geographic variability of childhood food allergy in the United States. *Clin Pediatr (Phila).* 2012;51(9):856-61. doi: 10.1177/0009922812448526. Epub 2012 May 17.
98. Gupta RS, Springston EE, Warrier MR, Smith B, Kumar R, Pongracic J *et al.* Prevalence and Distribution of Childhood Food Allergy in the United States. *Pediatrics.* 2011;128: 9-17.
99. Haahtela T. A biodiversity hypothesis. *Allergy.* 2019;74:1445-1456. Doi: 10.1111/all.13763.
100. Heine RG. Gastrointestinal food allergies. *Chem Immunol Allergy.* 2015;101:171-80. Doi: 10.1159/000371700.
101. Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC, Bresciani M, Burbach G *et al.* The skin prick test - European Standards. *Clin Transl Allergy.* 2013;3:3. Doi: 10.1186/2045-7022-3-3.
102. Ho MHK, Lee SL, Wong WHS, IP Patrick, Lau YL. Prevalence of self-reported food allergy in Hong Kong children and teens - a population survey. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2012;30: 275-84.
103. Hochwallner H, Schulmeister U, Swoboda I, Spitzauer S, Valenta R. Cow's milk allergy: from allergens to new forms of diagnosis, therapy and prevention. *Methods* 2014; 66: 22-33. Doi: 10.1016/j.ymeth.2013.08.005.
104. Hoehn JL, Dahlquist LM, Hahn AL, Bollinger ME. Parents of children with food allergy: gender differences in perceived impact and perceived food allergy severity. *J Pediatr Psychol.* 2017;42:186-197. doi:10.1093/jpepsy/jsw059.
105. Hoffmann-Sommergruber K, Mills EN. Food allergen protein families and their structural characteristics and application in component-resolved diagnosis: new data from the EuroPrevall project. *Anal Bioanal Chem.* 2009;395:25-35. doi: 10.1007/s00216-009-2953-z.
106. Hong X, Wang X. Early life precursors, epigenetics, and the development of food allergy. *Semin Immunopathol.* 2012;34:655-669. Doi:10.1007/s00281-012-0323-y.
107. Hosseini B, Berthon BS, Wark P, Wood LG. Effects of fruit and vegetable consumption on risk of asthma, wheezing and immune responses: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2017;9. pii: E341. Doi: 10.3390/nu9040341.
108. Høst A, Halcken S. Practical aspects of allergy-testing. *Paediatr Respir Rev.* 2003;4:312-318. Doi:10.1016/S1526-0542(03)00094-0.

109. Hoyos-Bachiloglu R, Ivanovic-Zuvic D, Álvarez J, Linn K, Thöne N, de los Ángeles Paul M, Borzutzky A. Prevalence of parent-reported immediate hypersensitivity food allergy in Chilean school-aged children. *Allergol Immunopathol.* 2014;42:527-532. Doi: 10.1016/j.aller.2013.09.006.
110. Husby S, Foged N, Host A, Svehag S. Passage of dietary antigens into the blood of children with coeliac disease. Quantification and size distribution of absorbed antigens. *Gut.* 1987;28:1062-1072.
111. Hikino S, Nakayama H, Yamamoto J *et al.* Food allergy and atopic dermatitis in low birthweight infants during early childhood. *Acta Paediatr.* 2007;90:850-855. doi:10.1111/j.1651-2227.2001.tb02444.x.
112. Ivkovic-Jurekovic I. Oral allergy syndrome in children. *Int Dental J.* 2015;65:164-168. Doi: 10.1111/idj.1216.
113. Jenkins JA, Breiteneder H, Mills EN. Evolutionary distance from human homologs reflects allergenicity of animal food proteins. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120:1399-1405.
114. Jenkins JA, Griffiths-Jones S, Shewry PR, Breiteneder H, Mills EN. Structural relatedness of plant food allergens with specific reference to cross-reactive allergens: an in silico analysis. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:163-170.
115. Joffe M, Robertson A. The potential contribution of increased vegetable and fruit consumption to health gain in the European Union. *Public Health Nutr.* 2001;4:893-901.
116. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Brujnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T *et al.* A revised nomenclature for allergy: An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 28:S20-S28.
117. Jorge A, Lorente F, Taborda-Barata L. Prevalence of latex sensitization and allergy in Portuguese children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006;17:466-473. Doi: 10.1111/j.1399-3038.2006.00423.x.
118. Jorge A, Santos-Silva M, Lozoya-Ibáñez C, Lorente F, Sarinho E, Afonso RM, Pereira H, Taborda-Barata L. Development of a tool for screening adverse food reactions and food allergy in Portuguese children. *Allergol Immunopathol.* 2019;47:342-49. Doi:10.1016/j.aller.2018.09.008.
119. Jorge A, Soares E, Sarinho E, Lorente F, Gama J, Taborda-Barata L. Prevalence and clinical features of adverse food reactions in Portuguese children. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2017;13:40. Doi:10.1186/s13223-017-0212-y.
120. Kanny G, Moneret -Vautrim DA, Flabbee J, Beaudoin E, Morisset M, Thevenin F. Population study of food allergy in France. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;108:133-140.
121. Katelaris CH. Food allergy and oral allergy or pollen-food syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2010; 10: 246-251.
122. Kavaliunas A, Surkienė G, Dubakienė R, Stukas R, Zagminas K, Saulitė J *et al.* EuroPrevall Survey on prevalence and patterns of self-reported adverse reactions to food and food allergies among primary schoolchildren in Vilnius, Lithuania. *Medicina (Kaunas).*2012;48:265-271.

123. Kaza U, Knight AK, Bahna SL Risk Factors for the Development of Food Allergy. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2007;7:182-186.
124. Kazatsky AM, Wood RA. Classification of food allergens and cross-reactivity. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016; 16:22. Doi: 10.1007/s11882-016-0601-1.
125. Keet C, Wood R. Food Allergy and Anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin N Am.* 2007;27:193-212. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.iac.2007.03.005>.
126. Keil T, McBride D, Grimshaw K *et al.* The multinational birth cohort of EuroPrevall: background, aims and methods. *Allergy.* 2009;65:482-490. Keil T. Epidemiology of food allergy: What's new? A critical appraisal of recent population-based studies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2007;7:259-263.
127. Kim JS, Sicherer S. Should avoidance of foods be strict in prevention and treatment of food allergy? *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2010;10:252-257.
128. Kim TE, Park SW, Noh GW, Lee SS. Comparison of Skin Prick Test Results between Crude Allergen Extracts from Foods and Commercial Allergen Extracts in Atopic Dermatitis by Double-Blind Placebo- Controlled Food Challenge for Milk, Egg, and Soybean. *Yonsei Med J.* 2002;43:613-620. <https://doi.org/10.3349/ymj.2002.43.5.613>.
129. Koplin JJ, Allen KJ, Tang MLK. Important risk factors for the development of food allergy and potential options for prevention. *Expert Rev Clin Immunol.* 2019;15(2):147-152. doi: 10.1080/1744666X.2019.1546577.
130. Kotz D, Simpson CR, Sheikh A. Incidence, prevalence, and trends of general practitioner-recorded diagnosis of peanut allergy in England, 2001 to 2005. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127: 623-630.
131. Kumar R, Yu Y, Story RE, Pongracic JA, Gupta R, Pearson C, Ortiz K, Bauchner HC, Wang X. Prematurity, chorioamnionitis, and the development of recurrent wheezing: a prospective birth cohort study. *J Allergy Clin Immunol.* 2008 Apr;121(4):878-84.e6. doi: 10.1016/j.jaci.2008.01.030.
132. Kumar R, Ouyang F, Story RE, Pongracic JA, Hong X, Wang G, Pearson C, Ortiz K, Bauchner H, Wang X. Gestational diabetes, atopic dermatitis, and allergen sensitization in early childhood. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124(5):1031-8.e1-4. doi: 10.1016/j.jaci.2009.06.052.
133. Kumar XR, Tsai H, Hong X, Liu X, Wang G, Pearson C *et al.* Race, ancestry, and development of food-allergen sensitization in early childhood. *Pediatrics.* 2011;128:e821-e829. Doi:10.1542/peds.2011-0691.
134. Kummeling I, Mills ENC, Clausen M, Dubakiene R, Fernández Pérez C, Fernández-Rivas M *et al.* The EuroPrevall surveys on the prevalence of food allergies in children and adults: background and study methodology. *Allergy.* 2009;64:1493-1497.
135. Kusunoki T, Mukaida K, Morimoto T, Sakuma M, Yasumi T, Nishikomori R *et al.* Birth order effect on childhood food allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012;23:250-254.
136. Lack G, Fox D, Northstone K, Golding J. Factors associated with the development of peanut allergy in childhood. *N Engl J Med* 2003;348(11):977-85.

137. Lack G. Epidemiologic risks for food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121:1331-1336.
138. Laia-Dias I, Lozoya-Ibáñez C, Skypala I, Gama J, Nurmatov U, Lourenço O, Taborda-Barata L. Prevalence and risk factors for food allergy in elderly individuals: protocol for a systematic review. *BMJ Open* 2019;9:e029633. doi:10.1136/bmjopen-2019-029633.
139. Lao-araya M, Trakultivakorn M. Prevalence of food allergy among preschool children in northern Thailand. *Pediatr Int.* 2012; 54: 238-243.
140. Le TTK, Nguyen DH, Vu ATL, Ruethers T, Taki AC, Lopata AL. A cross-sectional, population-based study on the prevalence of food allergies among children in two different socio-economic regions of Vietnam. *Pediatr Allergy Immunol.* 2019; 30: 348-355. Doi: 10.1111/pai.13022.
141. Lee L, Burks A. Food allergies: prevalence, molecular characterization, and treatment/prevention strategies. *Annu Rev Nutr.* 2006; 26: 539-565.
142. Li M, Lu ZK, Amrol DJ, Mann JR, Hardin JW5, Yuan J, Cox CL, Love BL. Antibiotic Exposure and the Risk of Food Allergy: Evidence in the US Medicaid Pediatric Population. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019 Feb;7(2):492-499. doi: 10.1016/j.jaip.2018.09.036.
143. Liu AH, Jaramillo R, Sicherer SH, Wood RA, Bock A, Burks WA *et al.* National prevalence and risk factors for food allergy and relationship to asthma: results from the National Health & Nutrition Examination Survey 2005-2006. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 126:798-806. Doi: 10.1016/j.jaci.2010.07.026.
144. Lorente F, Isidoro M, Dávila I, Laffond E, Moreno E. Prevention of allergic diseases. *Allergol Immunopathol.* 2007;35:151-156. Doi:10.1157/13108226.
145. Lorio RA, Del Duca S, Calamelli E, Pula C, Lodolini M, Scamardella F *et al.* Citrus Allergy from Pollen to Clinical Symptoms. *PLoS ONE* 2013; 8:e53680. Doi:10.1371/journal.pone.0053680.
146. Loureiro G, Rabaça MA, Blanco B, Andrade S, Chieira C, Pereira C. Aeroallergens sensitization in an allergic paediatric population of Cova da Beira, Portugal. *Allergol Immunopathol.* 2005;33:192-198.
147. Lourenço O, Fonseca AM, Taborda-Barata L. Asthma is more frequently associated with non-allergic than allergic rhinitis in Portuguese patients. *Rhinology* 2009; 47: 207-213.
148. Lourenço O, Fonseca AM, Taborda-Barata L. Demographic, laboratory and clinical characterisation of adult Portuguese asthmatic patients. *Allergol Immunopathol.* 2007; 35: 177-183.
149. Love BL, Mann J, Hardin JW, Lu K, Cox C, Amrol DJ. Antibiotic prescription and food allergy in young children. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2016; 12: 41.
150. Lozoya-Ibáñez C, Morgado-Nunes S, Rodrigues A, Lobo C, Taborda-Barata L. Prevalence and clinical features of adverse food reactions in Portuguese adults. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2016;12:36. Doi:10.1186/s13223-016-0139-8.

151. Luccioli S, Zhang Y, Verrill L, Ramos-Valle M, Kwegyir-Afful E. Infant feeding practices and reported food allergies at 6 years of age. *Pediatrics*. 2014;134 Suppl 1(Suppl 1):S21-S28. doi:10.1542/peds.2014-0646E
152. Lyons SA, Burney PGJ, Ballmer-Weber BK, Fernandez-Rivas M, Barreales L, Clausen M *et al*. Food allergy in adults: substantial variation in prevalence and causative foods across Europe. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019; 7:1920-1928. Doi: 10.1016/j.jaip.2019.02.044.
153. Lyra NR, Motta ME, Rocha LA, Solé D, Peixoto DM, Rizzo JA *et al*. Adverse reactions to foods and food allergy: development and reproducibility of a questionnaire for clinical diagnosis. *J Allergy (Cairo)*. 2013;2013:920679. doi:10.1155/2013/920679.
154. Madsen C. Prevalence of food allergy/intolerance in Europe. *Environ Toxicol Pharmacol*. 1997;4:163-167.
155. Masthoff LJ, Hoffen E, Mattsson L, Lidholm J, Andersson K, Zuidmeer-Jongejan L *et al*. Peanut allergy is common among hazelnut-sensitized subjects but is not primarily the result of IgE cross-reactivity. *Allergy* 2015; 70: 265-274.
156. Mastrorilli C, Tripodi S, Caffarelli C, Perna S, Di Rienzo-Businco A, Sfica I *et al*. Endotypes of pollen-food syndrome in children with seasonal allergic rhinoconjunctivitis: a molecular classification. *Allergy* 2016; 71: 1181-1191-Doi: 10.1111/all.12888.
157. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S *et al*. EAACI molecular allergology user's guide. *Pediatr Allergy Immunol*. 2016; 27 (Supl 23): 1-250. Doi: 10.1111/pai.12563.
158. McBride D, Keil T, Grabenhenrich L, Dubakiene R, Drasutiene G, Fiocchi A *et al*. The EuroPrevall birth cohort study on food allergy: baseline characteristics of 12,000 newborns and their families from nine European countries. *Pediatr Allergy Immunol*.2012;23: 230-239.
159. Meyer R, Wright K, Vieira MC, Chong KW, Chatchatee P, Vlieg-Boerstra BJ *et al*. International survey on growth indices and impacting factors in children with food allergies. *J Hum Nutr Diet* 2019; 32: 175-184. Doi: 10.1111/jhn.12610.
160. Mills EN, Mackie AR, Burney P. *The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe*. *Allergy*. 2007; 62: 717-22.
161. Moonesinghe H, Mackenzie H, Venter C, Kilburn S, Urner P, Weir K, Dean T. Prevalence of fish and shellfish allergy: a systematic review. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016;117:264-272.
162. Moore LE, Stewart PH, deShazo RD. Food allergy: what we know now. *Am J Med Sci*. 2017; 353: 353-366. Doi: 10.1016/j.amjms.2016.11.014.
163. Morais-Almeida M, Prates S, Pargana S *et al*. Alergia alimentar em crianças numa consulta de imunoalergologia. *Rev Port Imunoalergol*.1999; 7: 167-171.
164. Mota I, Pereira AM, Pereira C, Tomaz E, Branco-Ferreira M, Sabino f. Approach and registry of anaphylaxis in Portugal. *Acta Med Port*. 2015; 28: 786-796.
165. Motosue MS, Bellolio MF, van Houten HK, Shah ND, Campbell RL. National trends in emergency department visits and hospitalizations for food-induced anaphylaxis in US children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2018; 29: 538-544. Doi: 10.1111/pai.12908.

166. Mowat A. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:331-441.
167. Muluk NB, Cingi C. Oral allergy syndrome. *Am J Rhinol Allergy* 2018; 32: 27-30. Doi: 10.2500/ajra.2018.32.4489.
168. Muraro A, Halken S, Arshad SH, Beyer K, Dubois AEJ, Du Toit G *et al* on behalf of the EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines. Primary prevention of food allergy. *Allergy* 2014b; 69: 590-601.
169. Muraro A, Lemsanke RF Jr, Castells M, Torres MJ, Khan D, Simon HU *et al.* Precision medicine in allergic disease-food allergy, drug allergy, and anaphylaxis - PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. *Allergy.* 2017; 72: 1006-1021. Doi: 10.1111/all.13132.
170. Muraro A, Roberts G, Clark A, Eigenmann P, Halken S, Lack G *et al.* The management of anaphylaxis in childhood: position paper of European Academy of allergology and clinical immunology. *Allergy.* 2007; 62: 857-871.
171. Muraro A, Wefel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts B, Beyer K, Blindslev-Jensen C *et al* on behalf of the EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines. Diagnosis and management of food allergy. *Allergy.* 2014a; 69: 1008-1025.
172. Neerven RJJV, Savelkoul H. Nutrition and Allergic Diseases. *Nutrients.* 2017;9:762. Doi:10.3390/nu9070762.
173. Negele K, Heinrich J, Borte M *et al.* Mode of delivery and development of atopic disease during the first 2 years of life. *Pediatr Allergy Immunol,* 2004; 15(1):48-54
174. Niggemann B, Beyer K. Diagnostic pitfalls in food allergy in children. *Allergy* 2005;60:104-107. Niggemann B. Special aspects of food allergy in children. *Hautarzt* 2012; 63: 288-293.
175. Nissen SP, Kjaer HF, Høst A, Nielsen J, Halken S. The natural course of sensitization and allergic diseases from childhood to adulthood. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013; 24: 549-55.
176. Noti M, Kim BS, Siracusa MC *et al.* Exposure to food allergens through inflamed skin promotes intestinal food allergy through the thymic stromal lymphopoietin-basophil axis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133:1390-99.
177. Nowak-Węgrzyn A. Future Approaches to Food Allergy. *Pediatrics* 2003;111:1672-1680.
178. Nowak-Węgrzyn A, Assa'ad A, Bahna SL, Bock SA, Sicherer SH, Suzanne S. Teuber SS on behalf of the Adverse Reactions to Food Committee of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Work Group report: Oral food challenge testing. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:S365-S383.
179. Nowak-Węgrzyn A. What makes children outgrow food allergy? *Clin Exp Allergy.* 2015;45:1618-1620.
180. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Cadona V *et al.* The epidemiology of food allergy in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* 2014;69:62-75.

181. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A on behalf of the EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* 2014; 69: 992-1007.
182. Orhan F, Karacas T, Cakir M, Aksoy A, Baki A, Gedik Y. Prevalence of immunoglobulin E-mediated food allergy in 6-9-year-old urban schoolchildren in the eastern Black Sea region of Turkey. *Clin Exp Allergy*. 2009;39:1027-1035.
183. Ortolani C, Ispano M, 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: 683-690.
184. Österballe M, Hansen TK, Mortz CG, Host A, Bindslev-Jensen C. The prevalence of food hypersensitivity in an unselected population of children and adults. *Pediatr Allergy Immunol*. 2005; 16: 567-573.
185. Özdemir SK, Özgüçlü S. Pollen food allergy syndrome in Turkey: clinical characteristics and pollen sensitization. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2018; 36: 77-81. Doi: 10.12932/AP0881.
186. Pádua I, Moreira A, Moreira P, Barros R. Food allergy: practical approach on education and accidental exposure prevention. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2016;48:174-181.
187. Park M, Kim D, Ahn K, Kim J, Han Y. Prevalence of Immediate-Type Food Allergy in Early Childhood in Seoul. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2014;6:131-136.
188. Pénard-Morand C, Raheison C, Kopferschmitt C, Caillaud D, Lavaud F, Charpin D *et al*. Prevalence of food allergy and its relationship to asthma and allergic rhinitis in schoolchildren. *Allergy*. 2005;60:1165-1171.
189. Pereira B, Venter C, Grundy G, Clayton B, Arshad SH, Dean T. Prevalence of sensitization to food allergens, reported adverse reaction to foods, food avoidance, and food hypersensitivity among teenagers. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116:884-892.
190. Perkin MR, Logan K, Marris T *et al*. Enquiring About Tolerance (EAT) study: Feasibility of an early allergenic food introduction regimen. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137:1477-1486. Doi:10.1016/j.jaci.2015.12.1322.
191. Peroni D, Boner A. Food Allergy: the perspectives of prevention using Vitamin D. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2013;13:287-292.
192. Peters RL, Allen KJ, Dharmage SC, Koplin JJ, Dang T, Tilbrook KP *et al*. Natural history of peanut allergy and predictors of resolution in the first 4 years of life: a population-based assessment. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135:1257-1266.
193. Peters RL, Neeland MR, Allen KJ. Primary Prevention of Food Allergy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2017;17:52.
194. Peterson R A. A meta-analysis of Cronbach's coefficient alfa. *J Consumer Res*. 1994;21: 381-391.
195. Price A, Ramachandran S, Smith GP, Stevenson ML, Pomeranz MK, Cohen DE. Oral allergy syndrome (pollen-food allergy syndrome). *Dermatitis*. 2015; 26: 78-88. Doi: 10.1097/DER.0000000000000087.

196. Prous M, Salvanés FR, Ortells LC. Validation of questionnaires. *Reumatol Clin.* 2009;5:171-177.
197. Pyrhönen K, Hiltunen L, Kaila M, Naiha S, Laara E. Heredity of food allergies in an unselected child population: An epidemiological survey from Finland. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011;22: e124-e132.
198. Pyrhönen K, Näyhä S, Kaila M, Hiltunen L, Läära E. Occurrence of parent-reported hypersensitivities and food allergies among children 1-4 yr. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009; 20: 328-338.
199. Qamar NA, Fishbein AB, Erickson KA *et al.* Naturally occurring tolerance acquisition to foods in previously allergic children is characterized by antigen specificity and associated with increased subsets of regulatory T cells. *Clin Exp Allergy* 2015; 45:1663-72.
200. Ramalho H, Labandeiro L, Cerqueira R, Preto EM, Braga C, Moura J. Alergia na idade pediátrica: Avaliação dos métodos de rastreio laboratorial. *Rev Port Imunoalergol.* 2001;8:209-214.
201. Ramesh S. Food Allergy Overview in Children. *Clinic Rev Allerg Immunol.* 2008;34:217-230.
202. Rancé F, Grandmottet X, Granjean H. Prevalence and main characteristics of schoolchildren diagnosed with food allergies in France. *Clin Exp Allergy.* 2005;35:167-172.
203. Rancé F, Kanny G, Dutau G, Moneret-Vautrin DA. Food hypersensitivity in children: Clinical aspects and distribution of allergens. *Pediatr Allergy Immunol.* 1999;10:33-38.
204. Roberts G, Lack G. Diagnosing peanut allergy with skin prick and specific IgE testing. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:1291-1296.
205. Roberts G, Patel N, Levi-Schaffer F, Habibi P, Lack G. Food allergy as a risk factor for life-threatening asthma in childhood: a case-controlled study. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 112: 168-174. Doi: 10.1067/mai.2003.1569.
206. 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.
207. Rodriguez MC, Maeda Y. Meta-analysis of coefficient alpha. *Psychol Methods.* 2006;11:306-322.
208. Roehr CC, Edenharter, Reimann S, Ehlers I, Worm M, Zuberbier T *et al.* Food allergy and non-allergic food hypersensitivity in children and adolescents. *Clin Exp Allergy.* 2004;34:1534-1541.
209. Romagnani S. The role of lymphocytes in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;105:399-408.
210. Rona RJ, Keil T, Summers C, Gislason D, Zuidmeer L, Sodergren E *et al.* The prevalence of food allergy: A meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120:638-646.
211. Rougé P, Borges J-P, Culerrier R, Brulé C, Didier A, Barre A. Les allergies alimentaires aux fruits. *Rev Fr Allergol.* 2009;49 Suppl 1:23-27.

212. Rouquette A, Falissard B. Sample size requirements for the internal validation of psychiatric scales. *Int J Methods Psychiatr Res.* 2011; 20: 235-249.
213. Ruethers T, Taki AC, Nugraha R, Cao TT, Koeberl M, Kamath SD, Williamson NA, O'Callaghan S, Nie S, Mehr SS, Campbell DE, Lopata AL. *Allergy.* 2019 Jul;74(7):1352-1363. doi: 10.1111/all.13748. Epub 2019 Apr 15.
214. Sampson HA, Muñoz-Furlong A, Campbel RL *et al.* Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: Summary report—Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117:391-397.
215. Sampson HA, Gerth van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Burks AW *et al.* Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology - European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130: 1260-1274. Doi: 10.1016/j.jaci.2012.10.017.
216. Sampson HA. Anaphylaxis and emergency treatment. *Pediatrics.* 2003;111:1601-1608.
217. Sampson HA. Food allergy - accurately identifying clinical reactivity. *Allergy.* 2005;60 (Suppl. 79):19-24. J, Sampson HA. Food Allergy. *J Clin Invest.* 2011;121:827-835. Doi: 10.1172/JCI45434.
218. Sampson HA. Food Allergy. Part 1: immunopathogenesis and clinical disorders. *J Allergol Clin Immunol.* 1999;103:717-728.
219. Sampson HA. Update on food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:805-819.
220. Sanchez-Valverde F, Gil F, Martinez D *et al.* The impact of caesarean delivery and type of feeding on cow's milk allergy in infants and subsequent development of allergic march in childhood. *Allergy,* 2009;64(6):884-889
221. Sandin A, Annus T, Björkstén B, Nilsson L, Riiikjäv M-A, van Hage-Hamsten M *et al.* Prevalence of self-reported food allergy and IgE antibodies to food allergens in Swedish and Estonian schoolchildren. *Eur J Clin Nutr.* 2005; 59: 399-403.
222. Sansotta N, Piacentini GL, Mazzei F, Minniti F, Boner AL, Peroni DG. Timing of introduction of solid food and risk of allergic disease development: understanding the evidence. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2013;41(5):337-45. doi: 10.1016/j.aller.2012.08.012.
223. Santadusit S, Atthapaisalsarudee S, Vichyanond P. Prevalence of adverse food reactions and food allergy among Thai children. *J Med Assoc Thai.* 2005; 88:S27-S32.
224. Santalha M, Correia F, Costa A, Macedo L, Alendouro P, Matos A. Alergia alimentar em idade pediátrica. *Nascer e Crescer* 2013; 22(2): 75-79
225. Santos A, van Ree R. Profilins: mimickers of allergy or relevant allergens? *Int Arch Allergy Immunol.* 2011; 155: 191-204. Doi: 10.1159/000321178.
226. Santos AF, Douiri A, Bécares N, Wu SY, Syephens A, Radulovic S *et al.* Basophil activation test discriminates between allergy and tolerance in peanut-sensitized children. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 134: 645-652. Doi: 10.1016/j.jaci.2014.04.039.

227. Santos AF, du Toit G, Douiri A, Radulovic S, Stephens A, Turcanu V *et al.* Distinct parameters of the basophil activation test reflect the severity and threshold of allergic reactions to peanut. *J Allergy Clin Immunol.* 2015; 135: 179-186. Doi: 10.1016/j.jaci.2014.09.001.
228. Santos AF, Lack G. Food allergy and anaphylaxis in pediatrics: update 2010-2012. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012;23:698-706.
229. Sato S, Tachimoto H, Shukuya A, Kurosaka N, Yanagida N, Utsunomiya T *et al.* Basophil activation marker CD203c is useful in the diagnosis of hen's egg and cow's milk allergies in children. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;152(Suppl 1):54-61.
230. Sato S, Tachimoto H, Shukuya A, Ogata M, Komata T, Imai T *et al.* Utility of the peripheral blood basophil histamine release test in the diagnosis of hen's egg, cow's milk, and wheat allergy in children. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011;155(Suppl 1):96-103.
231. Sausenthaler S, Koletzko S, Schaaf B, Lehmann I, Borte M, Herbarth O *et al.* Maternal diet during pregnancy in relation to eczema and allergic sensitization in the offspring at 2 y of age. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:530-537.
232. Savage J, Sicherer S, MDC, Wood R. The natural history of food allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2016;4:196-203. Doi: 10.1016/j.jaip.2015.11.024.
233. Sénéchal H, Keykhosravi S, Couderc R, Selva MA, Shahali Y, Aizawa T *et al.* Pollen/fruit syndrome: clinical relevance of the cypress pollen allergenic gibberellin-regulated protein. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2019; 11: 143-151. Doi: 10.4168/aaair.2019.11.1.143.
234. Sénéchal H, Santrucek J, Melcova M, Svoboda P, Zídková J, Charpin D *et al.* A new allergen family involved in pollen food-associated syndrome: snaking/gibberellin-regulated proteins. *J Allergy Clin Immunol.* 2017; 141: 411-413. Doi: 10.1016/j.jaci.2017.06.041.
235. Shroba J, Rath N, Barnes C. Possible role of environmental factors in the development of food allergies. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2018, Aug 29. Doi: 10.1007/s12016-018-8703-2.
236. Shu SA, Chang C, Leung PS. Common methodologies in the evaluation of food allergy: pitfalls and prospects of food allergy prevalence studies. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2014;46:198-210. Doi: 10.1007/s12016-012-8337-8.
237. Schoemaker AA, Sprickelman AB, Grimshaw KE *et al.* Incidence and natural history of challenge-proven cow's milk allergy in European children-EuroPrevall birth cohort. *Allergy.* 2015;70:963-972.
238. Shaker M. New insights into the allergic march. *Curr Opin Pediatrics.* 2014;26:516-520.
239. Shemesh E, Annunziato RA, Ambrose MA *et al.* Child and parental reports of bullying in a consecutive sample of children with food allergy. *Pediatrics.* 2013;131:10-17.
240. Sicherer S, Muñoz-Furlong A, Sampson H. Prevalence of seafood allergy in the United States determined by a random telephone survey. *J Allergy Clin Immunol* 2004 2004;114(1):159 - 165.
241. Sicherer SH, Allen K, Lack G, Taylor SL, Donovan SM, Oria M *et al.* Critical issues in food allergy: a National Academies Consensus Report. *Pediatrics.* 2017;140(2). pii: e20170194. Doi: 10.1542/peds.2017-0194.

242. Sicherer SH, Sampson H. Food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117:S470-S475.
243. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: a review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. *J Allergy Clin Immunol.* 2018; 141: 41-58. Doi: 10.1016/j.jaci.2017.11.003.
244. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133:291-307.
245. Sicherer SH, Wood RA, Syablein D, Lindblad R, Wesley Burks A, Liu AH *et al.* Maternal consumption of peanut during pregnancy is associated with peanut sensitization in atopic infants. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 126: 1191-1197. Doi: 10.1016/j.jaci.2010.08.036
246. Sicherer SH, Muñoz-Furlong A, Sampson HA. Prevalence of peanut and tree nut allergy in the United States determined by means of a random digit dial telephone survey: A 5-Year follow-up study. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112:1203-1207.
247. Sicherer SH. Clinical implications of cross-reactive food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(6):881-90.
248. Sicherer SH. Epidemiology of food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:594-602.
249. Skypala IJ, Venter C, Meyer R, deJong NW, Fox AT, Groetch M *et al.* The development of a standardised diet history tool to support the diagnosis of food allergy. *Clin Transl Allergy.* 2015;5:7. Published 2015 Feb 19. doi:10.1186/s13601-015-0050-2.
250. Soares-Weiser K, Takwoingi Y, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K *et al.* The diagnosis of food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* 2014; 69: 76-86. Doi: 10.1111/all.12333.
251. Solé D, Silva L, Rosário Filho N, Sarni R, Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2007 Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia. *Rev Med Minas Gerais* 2008; 18: S1-S44.
252. Songhui M, Sicherer S, Nowak-Wegrzyn A, A survey on the management of pollen-food allergy syndrome in allergy practices. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112:784-788.
253. Sporik R, Hill DJ, Hosking CS. Specificity of allergen skin testing in predicting positive open food challenges to milk, egg and peanut in children. *Clin Exp Allergy.* 2000;30(11):1540-6.
254. Sudo N, Sawamura S, Tanaka K, Aiba Y, Kubo C, Koga Y. The requirement of intestinal bacterial flora the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J Immunol.* 1997;159:1739-1745.
255. Taylor SL, Hefle SL, Bindslev-Jensen C, Atkins FM, Andre C, Bruijnzeel-Koomen C *et al.* A consensus protocol for the determination of the threshold doses for allergenic foods: how much is too much? *Clin Exp Allergy.* 2004; 34: 689-695.
256. Toro Monjaraz EM, Ramírez Mayans JA, Cervantes Bustamante R, Gómez Morales E, Molina Rosales A, Montijo Barrios E *et al.* *Rev Gastroenterol Mex.* 2015 Jan-Mar;80(1):27-31. doi: 10.1016/j.rgmx.2015.01.004.
257. Turcanu V, Brough HA, Du Toit G *et al.* Immune mechanisms of food allergy and its prevention by early intervention. *Curr Opin Immunol.* 2017;48:92-98. doi:10.1016/j.coi.2017.08.009.

258. Umasunthar T, Leonardi-Bee J, Turner PJ, Hodes M, Gore C, Wraner JO, et al. Incidence of food anaphylaxis in people with food allergy: a systematic review. *Clin Exp Allergy* 2015; 45: 1621-1636. Doi: 10.1111/cea.12477.
259. Van Bockel-Geelkerken M, Meulmeester JF. Prevalence of putative food hypersensitivity in young children. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 1992;136:1351-1356.
260. Van der Velde JL, Flokstra-de Bolk BMJ, Vlieg-Boerstra BJ et al. Development, validity and reliability of the food allergy independent measure (FAIM). *Allergy.* 2010;65:630-635.
261. Van Zyl Z, Maslin K, Dean T, Blaauw R, Venter C. The accuracy of dietary recall of infant feeding and food allergen data. *J Hum Nutr Diet.* 2016; 29:777-785.
262. Vazquez-Ortiz M, Ludman S, Aston A, Noimark L, Turner PJ. Lip dose challenges in food allergy: current practice and diagnostic utility in the United Kingdom. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019- pii: S2213-2198(19)30441-6. Doi: 10.1016/j.jaip.2019.04.037.
263. Venkataraman D, Erlewyn-Lajeunesse M, Kurukulaaratchy RJ, Potter S, Roberts G, Matthews S et al. Prevalence and longitudinal trends of food allergy during childhood and adolescence: Results of the Isle of Wight Birth Cohort study. *Clin Exp Allergy.* 2018;48:394-402.
264. Venter C, Pereira B, Grundy J, Clayton CB, Arshad SH, Dean T. Prevalence of sensitization reported and objectively assessed food hypersensitivity amongst six-year-old children: A population-based study. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006;17:356-363.
265. Venter C, Pereira B, Voigt K, Grundy J, Clayton CB, Higgins, Arshad SH, Dean T. Factors associated with maternal dietary intake, feeding and weaning practices, and the development of food hypersensitivity in the infant. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009;20:320-327.
266. Vieira T, Cunha L, Neves E, Falcão H. Diagnostic usefulness of component-resolved diagnosis by skin prick tests and specific IgE to single allergen components in children with allergy to fruits and vegetables. *Allergol Immunopathol.* 2014;42:127-135.
267. Walker MT, Green JE, Ferrie RP, Ferrie AM, Queener AM, Kaplan MH et al. Mechanism for initiation of food allergy: Dependence on skin barrier mutations and environmental allergen costimulation. *J Allergy Clin Immunol.* 2018; 141: 1711-1725.
268. Wang Warner J. The changing face of paediatric allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009;20:1-2. Watson PF, Petrie A. Method agreement analysis: a review of correct methodology. *Theriogenol.* 2010; 73: 1167-1179.
269. Werfel T, Asero R, Ballmer-Weber BK, Beyer K, Enrique E, Knulst AC et al. Position paper of the EAACI: food allergy due to immunological cross-reactions with common inhalant allergens. *Allergy* 2015; 70: 1079-1090. Doi: 10.1111/all.12666.
270. Wood RA, Sicherer SH, Vickery BP, Jones SM, Liu AH, Fleischer DM et al. The natural history of milk allergy in an observational cohort. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131:805-812.
271. Wood RA. The natural History of Food Allergy. *Pediatrics* 2003;111:1631-1637.
272. Yang Z, Zheng W, Yung E, Zhong N, Wong GW, Li J. Frequency of food group consumption and risk of allergic disease and sensitization in schoolchildren in urban and rural China. *Clin Exp Allergy.* 2015; 45: 1823-1832. Doi: 10.1111/cea.12532.

273. Yu JE, Mallapaty A, Miller RL. It's not just the food you eat: Environmental factors in the development of food allergies. *Environ Res.* 2018; 165: 118-124. Doi: 10.1016/j.envres.2018.03.028.
274. Yu W, Freeland D, Nadeau KC. Food allergy: immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2016;16:751-765. Doi:10.1038/nri.2016.111.
275. Zhang S, Liu X, Kim JS *et al.* Association between short sleep duration and the risk of sensitization to food and aero allergens in rural Chinese adolescents. *Clin Exp Allergy*, 2011; 41(4):547-555
276. Zuberbier T, Edenharter G, Worm M, Ehlers I, Reimann S, Hantke T *et al.* Prevalence of adverse reactions to food in Germany-a population study. *Allergy.* 2004; 59:338-345.
277. Zuidmeer L, Goldhahn K, Rona RJ, Gislason D, Madsen C, Summers C *et al.* The prevalence of plant food allergies: a systematic review. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121:1210-1218.

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior

Anexos

Estudo de prevalência, fatores de risco e de características clínicas e serológicas de alergia alimentar em crianças dos 3 aos 11 anos, na Beira Interior



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

INQUÉRITO PARA PESQUISA DE REACÇÕES ADVERSAS A ALIMENTOS E ALERGIA ALIMENTAR

Data: ___/___/___

Nome: _____

Morada: _____

Data de Nascimento : ___/___/___ Idade: ____ anos

Sexo: Masculino Feminino

Escola: _____

Entrevistado mãe pai outro

A. A criança tem algum problema de saúde com alguma comida? (ou bebida?)

Sim Não Não sei

B. Qual é o alimento ou bebida que provoca reacção?

1. Leite Sim... Não Não sei
2. Ovo Sim Não Não sei
3. Trigo Sim.. Não Não sei
4. Peixe Sim.. Não Não sei
5. Soja Sim.. Não Não sei
6. Amendoim Sim.. Não Não sei
7. Camarão Sim... Não Não sei
8. Marisco Sim.. Não Não sei
9. Carne de porco ... Sim.. Não Não sei
10. Fruta Sim, qual? _____ Não Não sei
11. Legumes Sim, qual? _____ Não Não sei
12. Outr^a Sim, qual? _____ Não Não sei

(de C até P perguntar um alimento de cada vez se houver vários suspeitos)

C. Quando a criança teve reacção, era a primeira vez que ela comia (ou bebia) esse alimento? Sim/não/não sei/ Em que idades ocorreu?

Alimento implicado	Idade	1 ^a ingestão	1 ^a reacção	Não sei

D. Quanto tempo depois de comer essa comida surgiu a reacção? (Aguardar resposta espontânea e a seguir ler as opções)

Alimento implicado	Até 2 horas (min)	Mais de 2 horas (H)	Bifásico	Não sei

E. Que reacção teve a criança depois de comer esse alimento?

(Aguardar resposta espontânea e a seguir ler as opções)

Sintomas	Alimento implicado			
Tosse				
Crise de espirros				
Obstrução nasal				
Dificuldade respiratória				
Prurido da boca ou garganta				
Edema da boca ou garganta				
Prurido ocular				
Edema ocular				
Edema da face, orelhas, mãos ou pés				
Prurido cutâneo				
Rubor ou calor da pele				
Máculas ou pápulas cutâneas				
Nauseas ou vômitos				
Diarreia				
Cólicas abdominais				
Distensão abdominal				
Fezes com sangue				
Obstipação				
Cefaleias				
Tonturas ou lipotímia				
Outro (Qual?-----)sudorese, palidez, cianose, síncope, palpitações, hipotensão				

F. O que desencadeou a reacção

Alimento implicado	Contacto	Inalação	Ingestão	Não sei

G. Foi ao hospital quando teve reacção a esse alimento (ou bebida)?

Alimento implicado	Sim de urgência	Sim, no outro dia	Não sei

H. Precisou de tomar algum medicamento quando teve reacção a esse alimento?

Alimento implicado	Adrenalina	Corticoide	Broncodilatador	Antihistamínico	Não sei	Não fez

I. Depois da primeira reacção, a criança voltou a comer esse alimento? que reacção teve?

Alimento implicado	sim			não	não sei
	A mesma	Outra (qual?)	Nenhuma		

lista da questão “E”)

J. Quantos episódios teve de reacção adversa ao alimento?

Alimento implicado	1	2-5	>5	Não sei

K. Qual foi a reacção mais grave?

Alimento implicado	todas iguais	1ª reacção mais grave	a agravar	Não sei

L. Se cheirar esse alimento ou tocar na pele, a criança tem alguma reacção? (dificuldade respiratória, mácula ou pápula eritematosa, prurido, edema, vesículas)

Alimento implicado	contacto	inalação	Aos dois	nenhum

M. Exercício ou fármaco podem estar relacionados com a reacção ao comer esse alimento?

Alimento implicado	Exercício	Fármaco -qual	Outro	Não sei

N. Há quanto tempo teve a última reacção?

Alimento	<1Mês	1M-1Ano	1-5Anos	Não sei

O. Alguma vez a criança teve prurido, edema ou dormência na boca depois de comer outro alimento? (alguma fruta ou verdura crua)

Alimento implicado	Sim (qual)	Não	Não sei

P. A criança tem outras alergias?

	Sim	Não	Não sei
Asma/ cansaço			
No nariz			
Na pele			
Nos olhos			
Outras	Qual-----		

Q. Alguém da família tem alergia:

	Mãe	Pai	Irmão(ã)
A alimentos			
Asma			
Rinite			
Conjuntivite			
Dermatite atópica			



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

INQUÉRITO PARA PESQUISA DE REACÇÕES ADVERSAS A ALIMENTOS E ALERGIA ALIMENTAR

Data: ____/____/____

Nome: _____

Morada: _____

Idade: _____ anos

Sexo: Masculino Feminino

Data de Nascimento : ____/____/____

Escola: _____

Entrevistado mãe pai outro

Seguido em consulta de Pediatria Não Sim Hospitalar Médico Privado

A. A criança tem algum problema de saúde com alguma comida? (ou bebida?)

Sim Não Sem informação

B. Qual é o alimento ou bebida que provoca reacção?

1. Leite Sim Não S/info

2. Ovo Sim Não S/info

3. Trigo Sim Não S/info

4. Peixe Sim Não S/info

5. Soja Sim Não S/info

6. Amendoim Sim Não S/info

7. Camarão Sim Não S/info

8. Marisco Sim Não S/info

9. Carne de porco .. Sim Não S/info

10. Fruta Sim, qual? _____ Não S/info

11. Legumes Sim, qual? _____ Não S/info

12. Outra Sim, qual? _____ Não S/info

----- Original Message -----

From: mime-noreply@gepe.min-edu.pt

To: tabordabarata@fcsaude.ubi.pt ; tabordabarata@fcsaude.ubi.pt

Sent: Friday, June 12, 2009 3:49 PM

Subject: Monotorização de Inquéritos em Meio Escolar: Inquérito nº 0039100001

Exmo(a)s. Sr(a)s.

O pedido de autorização do inquérito n.º 0039100001, com a designação *Estudo da prevalência de alergias alimentares em crianças dos 3 aos 11 anos de idade*, registado em 23-04-2009, foi aprovado.

Avaliação do inquérito:

Exmo. Senhor Dr. Luis Taborda Barata

Venho por este meio informar que o pedido de realização de questionário em meio escolar é autorizado uma vez que, submetido a análise, cumpre os requisitos de qualidade técnica e metodológica para tal.

Com os melhores cumprimentos

Joana Brocardo

Directora-Geral

DGIDC

Observações:

Sem observações

Pode consultar na Internet toda a informação referente a este pedido no endereço <http://mime.gepe.min-edu.pt>. Para tal terá de se autenticar fornecendo os dados de acesso da entidade.

ENVIADO A
Núcleo
de Invest. 03/04/2009

Parecer:	Despacho: <i>De acordo</i> <i>[Handwritten signature]</i> 29 OUT. 2009
ASSUNTO: Projecto de Investigação nº 20/2009 - “Estudo da prevalência e das características clínicas de alergias alimentares em crianças e adultos portugueses”	
PARA: Exmo. Sr. Presidente do Conselho de Administração DE: Núcleo de Investigação	N.º 51/NI Data 03/04/2009
<p>Em relação ao assunto em epígrafe, junto envio o pedido de autorização do Prof Dr Luís Taborda Barata, director do serviço de Imunoalergologia do CHCB, Drª Arminda Jorge, pediatra no CHCB, Dr Paulo Tavares, assistente convidado na UBI e Drª Marli Loureiro, médica no Centro de Saúde da Covilhã, para a realização de um estudo subordinado ao tema “Estudo da prevalência e das características clínicas de alergias alimentares em crianças e adultos portugueses”, a realizar no Departamento da Saúde da Criança e da Mulher deste Centro Hospitalar.</p> <p>Envio ainda em anexo, o parecer nº.35/2009 emitido pela Comissão de Ética.</p> <p>Informo que se encontram reunidos todos os requisitos necessários de acordo com o Regulamento e normas do Núcleo de Investigação.</p> <p>Com os melhores cumprimentos,</p> <p>P'lo Núcleo de Investigação</p> <p><i>[Handwritten signature]</i></p> <p>(Dr.ª Rosa Saraiva)</p>	



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estudo da prevalência e das características clínicas e serológicas da alergia alimentar em crianças e adultos Portugueses

Prezados pais ou responsáveis:

As alergias alimentares são um grave problema de saúde, sendo cada vez mais frequentes em crianças e adultos. As manifestações mais comuns são urticária (“babas” na pele), rinite ou asma, ou mesmo agravamento de dermatite atópica. Em determinados casos as reacções aos alimentos são tão graves que podem pôr em risco a vida. Por outro lado, algumas pessoas podem já estar sensibilizadas a alimentos, mesmo sem terem ainda sintomas. Finalmente, um dos aspectos do tratamento de alergias alimentares é conseguir evitar os alimentos envolvidos, que têm de ser detectados por testes de alergia.

Assim é necessário saber com precisão qual é a percentagem de crianças com alergias alimentares, para que esta informação ajude ao tratamento e prevenção deste tipo de alergia.

Para tal estamos a realizar um estudo para pesquisar a presença de reacções adversas a alimentos em crianças da Cova da Beira.

Estamos a pedir aos pais ou responsáveis das crianças de 3 a 10 anos para responderem a um questionário sobre essas doenças, o que tomará um tempo aproximado de 5 minutos.

Salientamos que poderá recusar ou suspender a sua participação neste estudo em qualquer altura, sem que fique prejudicado o seu filho/ a sua filha nos seus direitos de ter assistência médica. Os dados científicos obtidos com este estudo poderão ser divulgados em revistas científicas, mas os dados pessoais serão sempre mantidos confidenciais.

A sua participação é voluntária, mas precisamos de seu consentimento prévio por escrito.



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROTOCOLO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Estudo da prevalência e das características clínicas, serológicas da alergia alimentar em crianças e adultos Portugueses

Após ter lido o consentimento livre e esclarecido,

eu _____

Nome do pai/mãe/responsável (em letra legível)

declaro que entendi todas as informações fornecidas sobre a participação de meu filho/filha _____ na pesquisa.

Nome da criança (em letra legível)

Autorizo a divulgação dos dados das informações obtidos pela pesquisa para fins científicos.

_____ de _____ de 2009.

Paciente

Caso o inquérito revele um risco acrescido de alergia para a criança está disposto a ser contactado para estudos complementares? Caso afirmativo preencha os seguintes dados :

Telefone de contacto _____

Endereço _____

RESEARCH

Open Access



Prevalence and clinical features of adverse food reactions in Portuguese children

Arminda Jorge^{1,2}, Elisa Soares¹, Emanuel Sarinho³, Felix Lorente⁴, Jorge Gama⁵ and Luís Taborda-Barata^{1,6*} 

Abstract

Background: The prevalence of adverse food reactions (AFR) has been increasing in the western world. Clinical manifestations are diversified and it may not be possible to clinically discriminate between IgE and non-IgE mediated AFR. In Portugal, the prevalence of AFR and food allergies in children is not known. Thus, the objectives of this study were to determine the prevalence of AFR in central Portugal.

Methods: Point prevalence study in 3–11 year-old schoolchildren from Central Portugal. Food-related questionnaires, skin prick tests (SPT) with foods and determination of food-specific IgE levels were performed.

Results: Of 4045 schoolchildren, 2474 (61.2%) accepted to be included in the study. Global prevalence of AFR was 7.1% (95% CI 6.2–8.1), based upon the initial questionnaire, 4.6% (95% CI 3.9–5.5), based upon a confirmatory questionnaire and the prevalence of probable food allergy (IgE-associated AFR: positive history + positive SPT and/or positive specific IgE) was 1.4% (95% CI 0.9–1.9). Most frequently implicated foods were fresh fruits, fish and egg. A first episode at an earlier age, mucocutaneous and anaphylactic reactions were more frequent in IgE-associated AFR.

Conclusions: The prevalence of probable food allergy in 3–11 year old Portuguese children from central Portugal is low and parents over-report its frequency. Most frequently implicated foods were fresh fruit and fish. Immediate type, polysymptomatic, and more severe reactions may commence at an earlier age and be more frequent in IgE-associated than in non-IgE associated reactions.

Keywords: Adverse food reaction, Children, Food allergy, Prevalence

Background

The prevalence of adverse reactions to foods (AFR) has been increasing, particularly in the first years of life [1–3]. According to a recent metanalysis, the prevalence of self-reported food allergies varies between 3 and 35%, depending upon the age group, the geographical area and the methodology used [4]. This broad range of values may have to do with different methodological approaches which were used in the various studies; furthermore, in some of the reports the sample of involved only children followed up in specialty clinics whereas

in other studies the values were obtained in the general population of children; finally, in some cases, these self-reported values were backed up by oral provocation studies whereas in other reports, only questionnaire-based results were used. Nevertheless, there is a scarcity of studies carried out in the general population of children.

The diagnosis of food allergies in children cannot be made exclusively on the basis of reported symptoms since although parents believe that their children are allergic to foods, confirmation only takes place in 10–50% of the reported cases [5, 6]. For instance, a review of five studies of food allergies in unselected pediatric populations under 10 years of age concluded that the prevalence of these allergies was higher when it was based upon self-reports than when it was supported

*Correspondence: tabordabarata@fcsaude.ubi.pt

¹ CICS-Health Sciences Research Centre, University of Beira Interior, Avenida Infante D. Henrique, Covilhã 6200-506, Portugal
Full list of author information is available at the end of the article

by additional tests, which suggests that confirmatory allergy tests must be performed [2].

Most frequently reported foods in association with allergies in children are cow's milk, egg, peanut and wheat, and clinical manifestations range from localized cutaneous reactions to life-threatening anaphylaxis [6–8]. The most efficient therapeutic option for food allergies is food eviction [6, 8]. It is, therefore, important to distinguish between situations of true IgE-associated food allergies and other situations that may involve intolerance to food, other forms of non-IgE-mediated food allergy and even common paediatric gastroenterological situations and this is where allergy tests and, when necessary, food challenges are required [9]. Independently of oral provocation tests remaining the “gold standard”, skin prick tests (SPT) and determination of levels of specific IgE should be performed if the clinical history strongly suggests food allergy and there is a clear suspicion of the implicated specific foods [6].

In Portugal, studies on the prevalence of food allergies are scarce [10] with a single study which analysed children attending an allergy outpatient clinic finding a prevalence of 8.7% [11]. However, in contrast to the aims of our study, that report was not carried out in the general population and include children and adolescents up to 18 years of age. Thus, the objective of the present study was to determine the prevalence of IgE-associated food allergy in children selected from the general population of Central Portugal, and to characterize it in terms of implicated foods and clinical manifestations, in comparison with cases of non-IgE associated AFR.

Methods

Study design

Population-based, cross-sectional study, carried out in a 2 year-long period (2012–2013). All 3–11 year old children registered at the existing 53 pre-schools and 69 primary schools in the region of Cova da Beira were recruited for the study. An initial, screening questionnaire about AFR (Q1), containing questions about sociodemographic aspects, the previous occurrence and identification of food associated with the adverse reaction, was filled out by parents. When at least one food was identified as a potential trigger for a previous AFR, a second, previously tested, analysed for cross cultural validation [12] and more comprehensive questionnaire (Q2) was applied by the researchers to fully characterize reactions (Additional file 1). When Q1 and Q2 were both positive, SPT were performed and suspected food-specific IgE levels were determined. The most severe reaction induced by each food was used to characterize the pattern of the reaction [13, 14].

Diagnosis

Probable food allergy (IgE-associated AFR) was considered in children with a clinical history that suggested previous AFR (positive Q1 and Q2) and who also had positive in vivo (food-specific SPT) and/or in vitro (food-specific IgE levels) allergy studies. A non IgE-associated AFR (non-IgE-AFR) was considered in children with a clinical history suggesting AFR (positive Q1 and Q2) but who had negative in vivo and in vitro food-specific allergy tests [6].

In vivo studies included SPT (LETI Laboratories, Spain) and/or skin prick-prick tests (SPPT) with the suspected food. Tests were carried out in duplicate on the volar aspect of the forearms. A drop of each commercial extract was placed upon the skin and each drop was pricked through using a plastic Stallerpoint (Stallergenes, France). The mean weal diameter was recorded. Weals with a mean diameter at least 3 mm greater than that of the negative control were regarded as positive. SPPT tests used the same methodology but were only performed using fresh fruits. A 25-gauge needle was inserted into fruits and the juice obtained was placed upon the skin and pricked through with Stallerpoints.

SPT with aeroallergen extracts were also performed using the European standard battery of aeroallergens [15].

In vitro tests consisted of the determination of serum levels of food-specific IgE for each suspected food, using a fluorometric method (Unicap 100 Phadia Diagnosis, Thermo Scientific®, Uppsala, Sweden) and were regarded as positive when levels were equal to or greater than 0.35 KUA/L. A similar analysis was also performed for screening of sensitisation to aeroallergens (Phadiatop; Phadia Diagnosis; Thermo Scientific®, Uppsala, Sweden).

Statistical analysis

Data were analysed using the Software Package for Social Sciences (SPSS) version 19.0®. Analysis of normality of distribution of variables was performed using the one sample Kolmogorov–Smirnov test. Descriptive analysis was used for the characterization of the sample. Chi Square test or Fischer's Exact Test were used in the case of nominal variables. Comparative analysis of quantitative variables was carried out using Student's t test or Mann–Whitney U test depending on distribution of variables. For each categorical variable, the “normal” situation was defined as the reference category and odds ratios values were estimated for the other categories against the reference one. A *p* value of less than 0.05 was regarded as significant with all statistical tests.

Ethics, consent and permissions

This study was approved by the Ethics Committees of the Faculty of Health Sciences, University of Beira Interior

and the Ethics Committee of Cova da Beira Hospital Centre. A written informed consent was signed by parents. Questionnaires applied at schools were approved by the general board for curricular innovation and development.

Results

Characterization of the population

Of the 4045 children from the target population, the initial questionnaire (Q1) was filled in by the parents of 2474 children (61.2% reply rate) whose mean age was 7.1 ± 1.9 years and 49.9% were males. Socio-demographic features of studied children are shown in Table 1.

Self-reported rates of adverse reaction to foods

In Q1 questionnaire, 176 reported adverse reactions to at least one food (7.1%)—Q1⁺ Group; mean age of 7.1 years; 48.8% males (Fig. 1).

Of these 176 children, 17 declined to continue the study (9.7% drop-out rate), since their parents did not

wish to bring their children to the hospital for further studies. Thus, 159 children with filled in longer questionnaires (Q2), 115 reported an adverse reaction to food (4.6% in relation to the number of Q1 questionnaires)—Q2⁺ Group; mean age of 7.0 years; 51.3% males) (Fig. 1).

Both Q1 and Q2 were filled in by the parents; mothers filled in 81.8% of Q1 questionnaires and 83.1% of Q2 questionnaires.

Atopy and prevalence of sensitisation to foods

Skin tests and determination of serum food allergen-specific IgE were carried out in all children with a positive Q2 questionnaire, with the exception of six, who declined to carry on in the study. In addition, the presence of atopy (using Phadiatop) was also studied in these 109 children. Atopy was present in 52.4% of these children. Thirty-four of these children had positive skin tests and/or allergen-specific IgE to at least one food, suggesting a prevalence of probable IgE-associated AFR of 1.4% in

Table 1 Socio-demographic features of studied children

Parameters	AFR (n = 109)	IgE AFR (n = 34)	Non IgE AFR (n = 75)	Odds ratio IgE AFR/Non IgE AFR (95% CI)	p value	Target cohort (n = 2474)	Q1 ⁺ (n = 176)	Q2 ⁺ (n = 115)
Sex (%)								
F	49.5	23.5	61.3	1	<0.001*	50.1	51.2 ^a	48.7 ^b
M	50.5	76.5	38.7	5.155 (2.057, 12.918)		49.9	48.8 ^a	51.3 ^b
Age (years) (mean ± SD)	7.00 ± 1.82	6.65 ± 1.56	7.16 ± 1.91	–	0.173**	7.1 ± 1.9	7.1 ± 1.85	7.0 ± 1.82
Atopy (%)								
No	47.6	9.4	64.4	1	<0.001*	–	–	–
Yes	52.4	90.6	35.6	17.474 (4.851, 62.948)		–	–	–
History of other morbidities (%)								
No	56.0	61.8	53.3	1	0.411*	–	–	–
Yes	44.0	38.2	46.7	0.707 (0.309, 1.618)		–	–	–
Responding parent (%)								
Father	12.0	11.8	13.3	1	0.821*	18.2	16.9 ^c	12.8 ^d
Mother	88.0	88.2	86.7	1.154 (0.335, 3.978)		81.8	83.1 ^c	87.2 ^d
Residence (%)								
Rural	41.3	38.2	42.7	1	0.663*	–	–	–
Urban	68.7	61.8	57.3	1.202 (0.525, 2.755)		–	–	–
Graffar class (%)								
I	8.3	11.8	6.7	–	0.514**	–	–	–
II	25.7	23.5	26.7					
III	56.0	50.0	58.6					
IV	10.0	14.7	8.0					
V	0.0	0.0	0.0					

* Calculated using Chi square test

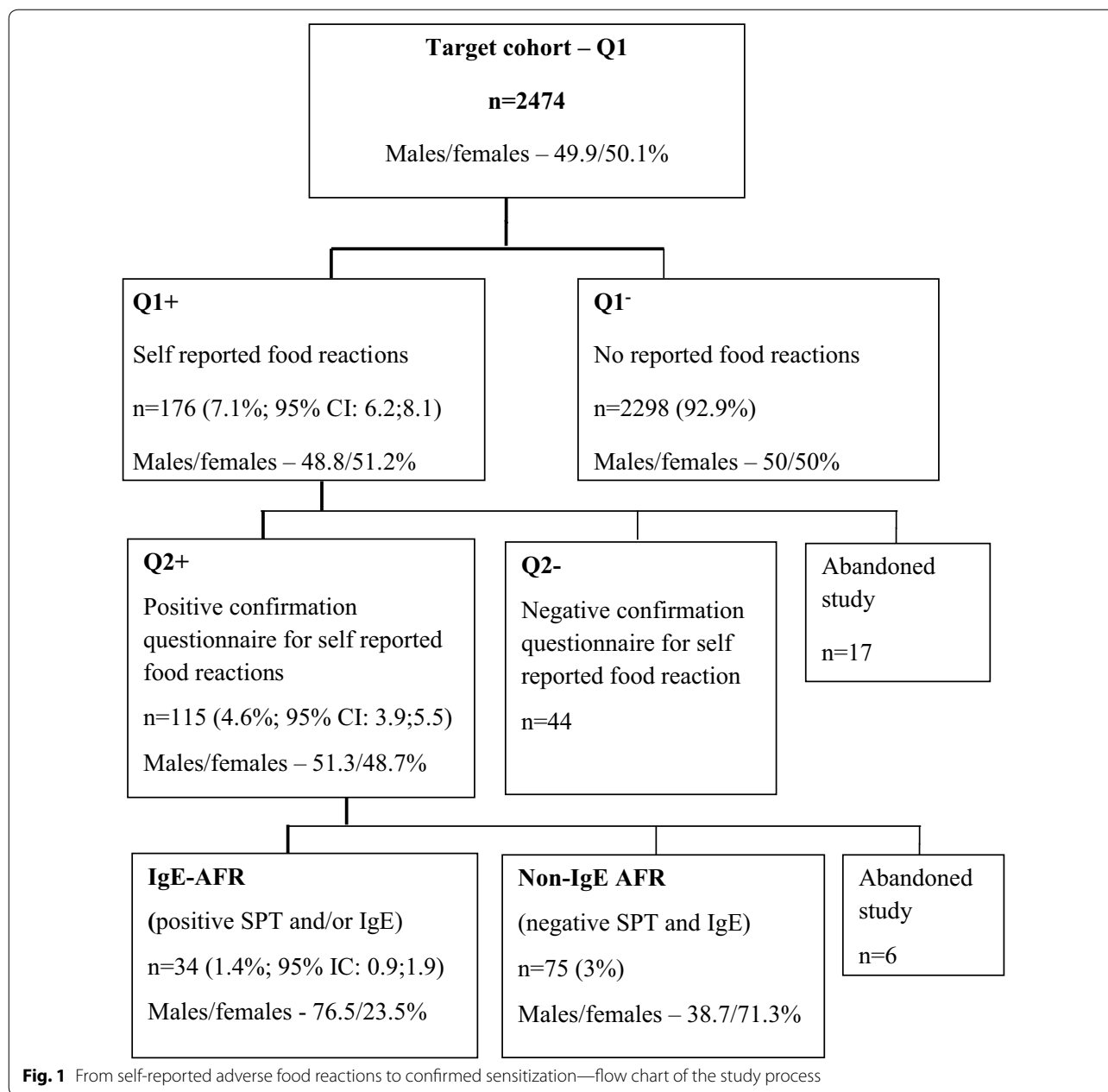
** Calculated using Fisher’s test

^a Binomial test to test against to target cohort proportion, p = 0.421

^b Binomial test to test against to target cohort proportion, p = 0.418

^c Binomial test to test against to target cohort proportion, p = 0.319

^d Binomial test to test against to target cohort proportion, p = 0.091



the target population; IC 95% 0.9–1.9, (IgE-AFR group). Negative skin test and allergen-specific IgE results were observed in 75 children (non-IgE-AFR group) (Fig. 1). The mean age was not significantly different between the IgE-AFR and non-IgE-AFR groups (6.65 ± 1.71 vs 7.16 ± 1.91 years, respectively), but the male/female ratio was significantly higher in the IgE-AFR group than in the non-IgE-AFR group (26/8 vs 29/46, respectively; $p < 0.001$; Chi square Test). In addition, atopy was significantly higher in the IgE-AFR than in the non-IgE-AFR group (Table 1).

Foods implicated in adverse reactions

In the 115 Q2⁺ questionnaires, 259 foods were identified as suspect triggers. The most frequently implicated food groups were fresh fruits (83; strawberry, followed by kiwi fruit, orange and peach), egg (27) and fish (26) (Table 2). Of these 115 children, six abandoned the study (drop-out rate of 5.1%), for various reasons, including not wanting to subject their children to further tests namely because they already had a previous diagnosis or their children were successfully avoiding the suspect foods. In the 109 children who completed the full study, a total

Table 2 Foods implicated in adverse food reactions in Q2, in IgE-associated AFR and in non-IgE-associated AFR

Implicated foods	Q2 ⁺	Non-IgE AFR (SPT–/IgE–)	IgE-AFR (SPT/IgE+)	% confirmation of IgE-associated mechanisms ^a
Total children	115	75	34	
Total foods	259	149	88	37.1
Fresh fruits	83	50	28	35.9
Egg (white and/or yolk) ^b	27	11	14	56.0
Crustaceans/mollusks	23	17	4	19.1
Leguminous	19	8	6	42.9
Milk	17	11	5	31.3
Fish	26	8	18	69.2
Other vegetables ^c	16	12	2	14.3
Spices	20	17	1	5.6
Meat	4	3	1	25.0
Cereals	12	6	6	50.0
Nuts	10	4	3	42.9
Other ^d	2	2	0	0.0

^a % confirmation = IgE-associated cases/(IgE-associated + non IgE-associated) × 100

^b As described in text

^c Peppers, onion, tomato, spinach, celery, cress, cabbage

^d Honey

of 237 adverse food reactions were identified to various foods and analysed (Table 3). It should also be noted that, of these 109 children, 58% were sensitized to any aeroallergen and 44.7% were sensitized to pollens (mostly grass pollen—40%, and tree pollens, mostly olive tree—33%). Of the 78 analyzed food reactions to fresh fruits, 28 were IgE-associated reactions and 50 had negative fruit-specific IgE levels and SPT. Of the 28 cases of IgE-associated reactions, 24 had elevated fruit-specific IgE levels and 12 had positive SPT. Finally, all children sensitized to strawberry, pear and peach were sensitized to grass pollens.

In the 34 children of the IgE-AFR group, upon test-based confirmation, 88 foods were identified as triggers, with a mean of 2.6 foods per child (Tables 2, 3). Fifty per cent of these children were sensitized to two or more foods. The most frequent food groups in the context of IgE-associated sensitization were fresh fruits (kiwi fruit, peach and strawberry), fish and egg. In the 75 children of the non-IgE-AFR group, 149 foods were implicated in the reactions, most frequently fresh fruits (50), spices (17), and shellfish (17). Of all cases of self-reported adverse food reactions, IgE-associated sensitization was confirmed more frequently to fish (69%) and egg (56%). Of the 14 children who were sensitized to egg, four were exclusively sensitized to egg white and the remainder were sensitized to both white and yolk. Anaphylaxis was moderate in two cases of total egg (white and yolk) sensitization, and mild in two cases of egg white sensitivity and in four cases of total egg sensitivity.

Clinical features of adverse food reactions

Ingestion was the trigger for all reported reactions. However, cutaneous contact with foods was significantly more frequently identified as a trigger for reactions in the IgE-AFR group than in the non-IgE-AFR group (27/88 vs 2/149, respectively; $p < 0.0001$ —Fisher's exact test), and this was essentially associated with fish.

IgE-AFR were also significantly more frequently associated with earlier clinical manifestations upon ingestion of foods and with poly-symptomatic manifestations than non-IgE-associated reactions (Table 3).

In the IgE-AFR group, the most frequent clinical manifestation were mucocutaneous and respiratory. In contrast, in the non-IgE-AFR group, mucocutaneous manifestations and gastrointestinal symptoms were very frequently reported and most cases were mono-symptomatic. Mucocutaneous, respiratory and anaphylactic manifestations were significantly more frequent in the IgE-AFR group than in the non-IgE-AFR group (Table 3).

The first adverse reaction to food occurred at a significantly earlier age in children of the IgE-AFR group when compared with the non-IgE-AFR group (1.9 versus 3.0 years of age, respectively; $p < 0.001$; Student's *t* test).

Reactions were similarly reproducible upon re-ingestion of foods in both IgE-AFR and non-IgE-AFR groups, with consistent reactions developing in a high percentage of cases (77.3 and 74.5%, respectively).

Table 3 Clinical manifestations of adverse food reactions in 109 children who fully completed the study

AFR (n = 237)	IgE-AFR (n = 88)	%	Non-IgE-AFR (n = 149)	%	OR (95% CI) ^a	p value*
Immediate						
No	15	17.0	81	54.4	1	<0.001
Yes	73	83.0	68	45.6	5.797 (3.050–11.020)	
Poly-symptomatic						
No	51	58.0	122	81.9	1	<0.001
Yes	37	42.0	27	18.1	3.278 (1.810–5.938)	
Urticaria/angioedema						
No	21	23.9	54	36.2	1	0.048
Yes	67	76.1	95	63.8	1.814 (1.002–3.282)	
OAS						
No	50	56.8	116	77.8	1	0.001
Yes	38	43.2	33	22.2	2.672 (1.507–4.734)	
Gastrointestinal						
No	61	69.3	98	65.8	1	0.575
Yes	27	30.7	51	34.2	0.851 (0.483–1.497)	
Respiratory						
No	53	60.2	139	93.3	1	<0.001
Yes	35	39.8	10	6.7	9.179 (4.247–19.839)	
Other ^b						
No	67	76.1	125	83.9	1	0.141
Yes	21	23.9	24	16.1	1.632 (0.847–3.148)	
Anaphylaxis						
No	56	63.6	143	96.0	1	<0.001
Yes	32	36.4	6	4.0	13.619 (5.400–34.348)	

* Calculated using Chi square test

^a OR odds ratio: For each categorical variable, the “normal” situation was defined as the reference category and odds were estimated for the others categories against the reference one

^b Atopic eczema aggravated, headache, change in urine

In vivo and in vitro studies of IgE-mediated reactions to food

Of the 88 foods tested, elevated levels of allergen-specific IgE were detected in 78 cases and positive SPT and/or SPPT were positive in 47 cases (Table 4). All foods that were positive in SPPT were also positive in SPT. IgE levels were more frequently elevated than were SPT positive, for most food groups.

Food type-linked clinical features of IgE-associated reactions to food

Some significant differences were observed between the three most frequently reported foods, in terms of food-induced clinical manifestations in IgE-associated cases (Table 5).

All reactions to fish were immediate and most involved cutaneous and respiratory manifestations. In contrast, fresh fruits were most commonly associated with oral allergy syndrome (OAS) whereas egg related reactions

were less frequently immediate and most commonly involved gastrointestinal or anaphylactic symptoms.

When clinical manifestations were broken down according to foods, urticarial/angioedema episodes were most frequently reported with fish. OAS was essentially observed with fresh fruits (64% of fruit-sensitized children reported OAS; all of these children were also sensitized to pollens—mainly grass pollens, with or without sensitization to tree pollens) and fish, respiratory symptoms were most commonly associated with fish and egg, and gastro-intestinal symptoms and anaphylaxis were most frequently reported upon ingestion of egg and were much less frequent with fresh fruits. Since fresh fruits were an important trigger of food allergies, we further characterized the specific clinical features of adverse food reactions to most frequently associated fresh fruits. In this context, all of the most frequently associated foods (kiwi, peach and strawberry) were most commonly associated with OAS (75% of all cases of IgE-associated kiwi

Table 4 In vitro and in vivo studies with foods implicated in IgE-associated AFR

	Specific IgE (kUA/L)					SPT		IgE-associated foods (n)
	Positive (n)	Geometric mean	s.e.m.	Min	Max	Positive (n)	Weal size mean ± SD (mm)	
Total number of cases	78	2.83	1.69	0.40	81.80	47	5.32 ± 2.14	88
Fresh fruits	24	3.02	3.49	1.00	81.80	12	4.67 ± 1.27	28
Fish	17	3.54	1.45	0.76	21.50	12	6.21 ± 2.37	18
Eggs	12	2.77	2.47	0.39	29.00	8	5.06 ± 1.70	14
Legumes	5	4.72	7.11	1.58	38.60	4	7.63 ± 4.03	6
Cereals	6	1.49	8.10	0.44	49.40	1	3	6
Milk	5	1.73	1.15	0.37	6.59	1	4	5
Shellfish	4	2.73	7.42	0.36	31.30	3	3.83 ± 1.04	4
Nuts	3	2.35	25.86	0.40	78.00	2	5.75 ± 1.06	3
Other (vegetables, pork, spices)	2	1.91	1.83	0.82	4.47	4	4.00 ± 0.71	4

s.e.m. Standard error of the mean, SD standard deviation

Table 5 Food type-linked clinical features of IgE-associated reactions to food

Foods	Fresh fruits (n = 28)	%	Fish (n = 18)	%	Egg (n = 14)	%	p value*
Immediate reaction	25	89.2	18	100	10	71.4	0.035
Urticaria/angioedema	16	57.1	18	100	11	71.4	0.002
OAS	18	64.3	10	55.6	3	21.4	0.030
Respiratory	6	21.4	10	55.6	6	42.9	0.055
Gastrointestinal	6	21.4	6	33.3	8	57.1	0.069
Anaphylaxis	4	14.3	9	50.0	8	57.1	0.006

* Chi square test or Fisher’s exact Test as appropriate

or strawberry fruit allergy; 80% of all IgE-associated peach allergy cases). Kiwi fruit was the only one which was associated with gastrointestinal manifestations (33% of all cases of IgE-associated kiwi fruit allergy), whereas respiratory symptoms and anaphylactic episodes were only induced by kiwi fruit and peach.

Discussion

This report is the first population-based study of the prevalence of adverse food reactions in children in Portugal. We obtained a satisfactory reply rate (61.2%) to the initial questionnaire from the parents of children attending public schools and pre-schools in the centre of Portugal. Prevalence of self-reported adverse food reactions (perceived food allergy) was 4.6%, and the prevalence of probable IgE-associated food allergy (IgE-AFR) was 1.4%.

In Portugal, there is only one previous study of the prevalence of food allergies in children but which was carried out in an allergy clinic [11]. However, in contrast to our study, that report was not carried out in the general population and include children and adolescents up to 18 years of age. Overall, in our study, the prevalence of in vivo (SPT) and in vitro (food-specific IgE levels)

test-confirmed, probable IgE-associated food allergy was 1.4%. This is close to the prevalence values found in other studies that included a similar approach [16–18]. Since we did not perform oral provocation tests with suspect foods, our point prevalence values are higher than those obtained in studies using such tests [18–23]. This limitation may lead us to overestimate the prevalence of confirmed food allergy. Although we proposed performing provocation tests in children with positive questionnaires, most parents did not consent to the test being performed because they were satisfied with a clinical history-concordant diagnosis of probable food allergy.

We found a prevalence of self-reported adverse food reactions of 7.1%, when based upon our initial, screening questionnaire (Q1), and of 4.6%, when based upon a more thorough, confirmatory questionnaire, applied by the researchers (Q2). Such a difference in self-reported AFR values was also found in a French study, since an initial questionnaire given to parents of 2.5–14 year old children showed a prevalence of 6.7% but a subsequent, confirmatory questionnaire only found a prevalence of 4.7% [24]. Remembering previous episodes of food-associated symptoms may depend upon how recent and how severe

the reaction was, whether the parents witnessed it or not or whether there have been more than one episode, possibly leading to memory bias, and a careful interview may reduce such bias. An even lower prevalence value was found when we consider confirmed IgE-associated AFR in Q1-positive children in our study—1.4%, corresponding to 19.3% of all Q1⁺ cases, a value which is similar to that reported in other studies [5, 21], and which supports the notion that adverse food reactions are over-reported by parents, as compared with results from confirmatory tests [5, 18, 20, 21, 23], often leading to unnecessary eviction diets [25–27].

Fresh fruits were, in all phases of our study, the most frequently implicated food group. Fish and egg were also high-risk foods where the suspicion of food allergy was frequently confirmed. Curiously, in the non-IgE AFR group, spices and shellfish were frequently reported. Our results are different from those more frequently reported in children in other countries, in which the most prevalent foods have been cow's milk, peanut, eggs, or wheat [18, 24, 28] although a German study in children and adolescents also found fruits as the most frequently reported and confirmed cause of food-induced symptoms [19]. Previous Portuguese reports also showed a high relevance of fresh fruits in AFR in adults [10, 29] and in children with an age range similar to that in our study [11], and similar results were observed in Spanish children [30]. Since the diet followed by children in our study is similar to that in other regions of Portugal, the high prevalence of probable allergy to fresh fruits and fish may be due to the mediterranean type of diet of the population.

Some cases of cow's milk allergy were those with the earliest onset. Interestingly, we found that the first episode of an adverse food reaction occurred significantly earlier in the IgE-AFR than in the non-IgE-AFR group (1.9 vs 3 years of age, respectively). As far as we know, this is the first report of such finding in the literature. Although this may be due to differences in the mechanisms of the underlying reaction, or the foods involved, it may also be due to the fact that IgE-AFR tend to be more severe than non-IgE-AFR and, therefore, a first episode of IgE-AFR may be more easily remembered (memory bias). Nevertheless, we believe that our results may indeed reflect a true difference in the age of onset since our questionnaire aimed at confirming such data and almost all parents gave precise records of the first episode. In any case, the mean age at which the first episode of non-IgE-AFR occurred is similar to that found in other questionnaire-based studies elsewhere [24, 27].

As shown in a Spanish study [30], our cases of IgE-AFR were more frequently polysymptomatic and of early onset. In addition, as demonstrated in other reports in

children [23, 24, 28], our study showed that the most frequent clinical manifestations were mucocutaneous. Respiratory symptoms and anaphylaxis were significantly more frequent in the case of IgE-AFR than in non-IgE-AFR (39.8 vs 6.7 and 36.4 vs 4.0, respectively). The prevalence of anaphylaxis (36.4%) was much higher than that observed in other studies, between 0 and 15.6% [21, 24, 28]. These differences may depend upon the profile of sensitising foods, as well as whether reactions are IgE-mediated or not, although they may also possibly be due to different age groups under study or variations in the diagnostic methodology. Interestingly, we detected significant differences in terms of clinical symptoms which were reported with the three food types that were most commonly associated with adverse food reactions (fresh fruits, fish and egg). Very few studies have performed this type of specific food-associated symptom analysis. However, a French study, carried out in schoolchildren of a similar age range [24] also showed that egg ingestion was most frequently associated with cutaneous symptoms, followed by gastrointestinal symptoms. Nevertheless, a further comparison cannot be made with our study since these authors reported other food types.

Our study has some limitations. First of all, we must also fully accept that since we did not perform oral provocation tests with suspect foods, this may lead us to overestimate the prevalence of confirmed food allergy. However, as happens with other similar studies worldwide, our study nevertheless yields very important data regarding IgE-associated and non-IgE-associated AFR. Furthermore, the interpretation of cut-off values for positivity and future studies in children with IgE-associated AFR should address the possibility of defining positive and negative predictive values for a positive oral provocation test, although this depends upon each type of food. Further studies are warranted in Portugal.

Secondly, in terms of non-IgE-associated AFR, we cannot fully distinguish between situations that may involve intolerance to food, other forms of non-IgE-mediated food allergy and some paediatric gastroenterological situations. However, in our study, children with non-IgE associated reactions were fully studied in gastroenterological terms and we believe that we were able to exclude most paediatric gastroenterological and metabolic situations.

Thirdly, although our results involve a broad region comprising most of central Portugal, caution should be applied in terms of generalization of results. However, this applies to most international studies since most of them were carried out in single cities.

Finally, it is possible, as described in other studies, that some of the responses given by the parents are subject to memory bias. Still, we were very rigorous in terms of

confirmation of all reported data, by searching all previous clinical records, besides obtaining information from both parents and, when justified, from other relatives.

Conclusions

In conclusion, this first population-based study showed that the prevalence of probable food allergies in children from central Portugal was low and that parents tend to over-report its frequency. Most frequently implicated foods were fresh fruits and fish. Immediate type, poly-symptomatic, and more severe reactions may commence at an earlier age and be more frequent in IgE-associated than in non-IgE-associated reactions. Our study has contributed to the characterization of adverse food reactions in Portuguese children.

Additional file

Additional file 1. Questionnaire for screening adverse reactions to foods.

Abbreviations

AFR: adverse food reaction; CI: confidence interval; IgE: immunoglobulin E; IgE-AFR: IgE-associated adverse food reaction; Non-IgE-AFR: non-IgE associated adverse food reaction; OAS: oral allergy syndrome; OR: odds ratio; Q1: questionnaire number 1 (initial, screening food questionnaire); Q1⁺: questionnaire 1 with positive responses to AFR-related questions; Q1⁻: questionnaire 1 with negative responses to AFR-related questions; Q2: questionnaire number 2 (expanded, confirmatory food questionnaire); Q2⁺: questionnaire 2 with positive responses to AFR-related questions; Q2⁻: questionnaire 2 with negative responses to AFR-related questions; s.e.m.: standard error of the mean; SPPT: skin prick by prick test; SPT: skin prick test.

Authors' contributions

AJ and LTB conceived and coordinated the study and participated in its design. EmS and FL also contributed to its design. AJ and EIS prepared the first draft and carried out the clinical work. LTB helped with data analysis, writing, and reviewed and translated the draft of the manuscript. JG performed the statistical analysis. All authors read and approved the final manuscript.

Author details

¹ CICS-Health Sciences Research Centre, University of Beira Interior, Avenida Infante D. Henrique, Covilhã 6200-506, Portugal. ² Department of Paediatrics, Cova da Beira Hospital, Covilhã, Portugal. ³ UFPE Allergy & Clinical Immunology Research Centre, Pernambuco Federal University, Recife, Brazil. ⁴ Department of Paediatrics, Salamanca University Hospital, Salamanca, Spain. ⁵ Department of Mathematics, Faculty of Sciences, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal. ⁶ Department of Allergy & Clinical Immunology, Cova da Beira Hospital, Covilhã, Portugal.

Acknowledgements

We would like to thank the Departments of Paediatrics of Cova da Beira Hospital and all nursing staff that helped with skin prick tests.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are fully available from the corresponding author on reasonable request.

Consent for publication

Not applicable.

Ethics approval and consent to participate

This study was approved by the Ethics Committees of the Faculty of Health Sciences, University of Beira Interior and the Ethics Committee of Cova da Beira Hospital Centre. A written informed consent was signed by parents. Questionnaires applied at schools were approved by the General Board for Curricular Innovation and Development.

Funding

This study did not have any external funding. Costs regarding questionnaires and laboratory tests were paid for by internal investigator funds (Faculty of Health sciences and Cova da Beira Hospital).

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Received: 24 January 2017 Accepted: 16 August 2017

Published online: 06 September 2017

References

- Mills EN, Mackie AR, Burney P. The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe. *Allergy*. 2007;62:717–22.
- Keil T. Epidemiology of food allergy: what's new? A critical appraisal of recent population-based studies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007;7:259–63.
- Nissen SP, Kjaer HF, Høst A, Nielsen J, Halken S. The natural course of sensitization and allergic diseases from childhood to adulthood. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013;24:549–55.
- Rona RJ, Keil T, Summers C, Gislason D, Zuidmeer L, Sodergren E, et al. The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120:638–46.
- Brand PL, Dubois AE. Diagnosis of food allergies in children. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 2006;150:2188–90.
- Boyce JA, Assa'ad A, Burcks AW, Jones SM, Sampson HA, Wood RA, et al. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: summary of the report of the NIAID-sponsored expert panel. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126:1105–18.
- Santos AF, Lack G. Food allergy and anaphylaxis in pediatrics: update 2010–2012. *Pediatr Allergy Immunol*. 2012;23:698–706.
- Niggemann B. Special aspects of food allergy in children. *Hautarzt*. 2012;63:288–93.
- Heine RG. Gastrointestinal food allergies. *Chem Immunol Allergy*. 2015;101:171–80.
- Falcão H, Lunet N, Lopes C, Barros H. Food hypersensitivity in Portuguese adults. *Eur J Clin Nutr*. 2004;58:1621–5.
- Morais-Almeida M, Prates S, Pargana S, Arêde C, Godinho N, Tavares C, et al. Alergia alimentar em crianças numa consulta de imunoalergologia. *Rev Port Imunoalergol*. 1999;7:167–71.
- Lyra NR, Motta ME, Rocha LA, Solé D, Peixoto DM, Rizzo JA, et al. Adverse reactions to foods and food allergy: development and reproducibility of a questionnaire for clinical diagnosis. *J Allergy*. 2013. doi:10.1155/2013/920679.
- Sampson HA, Muñoz-Furlong A, Campbell RL, Adkinson NF Jr, Bock SA, Branum A, et al. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report—second national institute of allergy and infectious disease/food allergy and anaphylaxis network symposium. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117:391–7.
- Carrapatoso I, Prates S, Falcão H, Cunha L, Jordão F, Sampaio G, et al. Alergia alimentar. *Rev Port Imunoalergol*. 2009;17(Supl 1):5–40.
- Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC, Bresciani M, Burbach G, et al. The skin prick test—European standards. *Clin Transl Allergy*. 2013;3:3. doi:10.1186/2045-7022-3-3.
- Pénard-Morand C, Raheison C, Kopferschmitt C, Caillaud D, Lavaud F, Charpin D, et al. Prevalence of food allergy and its relationship to asthma and allergic rhinitis in schoolchildren. *Allergy*. 2005;60:1165–71.

17. Dalal I, Binson I, Reifen R, Amitai Z, Shohat T, Rahmani S, et al. Food allergy is a matter of geography after all: sesame as a major cause of severe IgE mediated food allergic reactions among infants and young children in Israel. *Allergy*. 2002;57:362–5.
18. Venter C, Pereira B, Grundy J, Clayton CB, Arshad SH, Dean T. Prevalence of sensitization reported and objectively assessed food hypersensitivity amongst six-year-old children: a population-based study. *Pediatr Allergy Immunol*. 2006;17:356–63.
19. Roehr CC, Edenharter Reimann S, Ehlers I, Worm M, Zuberbier T, et al. Food allergy and non-allergic food hypersensitivity in children and adolescents. *Clin Exp Allergy*. 2004;34:1534–41.
20. Santadusit S, Atthapaisalsarudeee P. Prevalence of adverse food reactions and food allergy among Thai children. *J Med Assoc Thai*. 2005;88:27–32.
21. Osterballe M, Hansen TK, Mortz CG, Host A, Bindslev-Jensen C. The prevalence of food hypersensitivity in an unselected population of children and adults. *Pediatr Allergy Immunol*. 2005;16:567–73.
22. Lao-araya M, Trakultivakorn M. Prevalence of food allergy among pre-school children in northern Thailand. *Pediatr Int*. 2012;54:238–43.
23. Orhan F, Karacas T, Cakir M, Aksoy A, Baki A, Gedik Y. Prevalence of immunoglobulin E-mediated food allergy in 6–9-year-old urban schoolchildren in the eastern Black Sea region of Turkey. *Clin Exp Allergy*. 2009;39:1027–35.
24. Rancé F, Grandmottet X, Granjean H. Prevalence and main characteristics of schoolchildren diagnosed with food allergies in France. *Clin Exp Allergy*. 2005;35:167–72.
25. Brugman E, Meulmeester JF, Spee-van der Wekke A, Beuker RJ, Radder JJ, Verloove-Vanhorick SP. Prevalence of self-reported food hypersensitivity among school children in The Netherlands. *Eur J Clin Nutr*. 1998;52:577–81.
26. Pyrhönen K, Näyhä S, Kaila M, Hiltunen L, Läära E. Occurrence of parent-reported hypersensitivities and food allergies among children 1–4 yr. *Pediatr Allergy Immunol*. 2009;20:328–38.
27. Caffarelli C, Coscia A, Ridolo E, Povesi Dascola C, Gelmett C, Raqqi V, et al. Parents' estimate of food allergy prevalence and management in Italian school-aged children. *Pediatr Int*. 2011;53:505–10.
28. Ho MHK, Lee SL, Wong WHS, Patrick IP, Lau YL. Prevalence of self-reported food allergy in Hong Kong children and teens—a population survey. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2012;30:275–84.
29. Lozoya-Ibáñez C, Morgado-Nunes S, Rodrigues A, Lobo C, Taborda-Barata L. Prevalence and clinical features of adverse food reactions in Portuguese adults. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2016;12:36. doi:10.1186/s13223-016-0139-8.
30. Alvarado MI, Perez M. Study of food allergy in a Spanish population. *Allergol Immunopathol*. 2006;34:185–93.

Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit





Allergologia et immunopathologia

Sociedad Española de Inmunología Clínica,
Alergología y Asma Pediátrica

www.elsevier.es/ai



ORIGINAL ARTICLE

Development of a tool for screening adverse food reactions and food allergy in Portuguese children



A. Jorge^{a,b}, M. Santos Silva^c, C. Lozoya-Ibáñez^{a,d}, F. Lorente^e, E. Sarinho^f, R.M. Afonso^g, H. Pereira^g, L. Taborda-Barata^{a,h,*}

^a CICS – Health Sciences Research Centre, University of Beira Interior, Avenida Infante D. Henrique, 6200-506 Covilhã, Portugal

^b Department of Paediatrics, Cova da Beira Hospital Centre, Covilhã, Portugal

^c Quality Management Unit, Cova da Beira Hospital Centre, Covilhã, Portugal

^d Allergy Department, Castelo Branco Local Health Unit, Castelo Branco, Portugal

^e Department of Pediatrics, Salamanca University Hospital, Spain

^f Center for Research in Allergy and Clinical Immunology (HC/UFPE), Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

^g Psychology and Education Department, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal

^h Department of Allergy & Clinical Immunology, Cova da Beira Hospital Centre, Covilhã, Portugal

Received 20 July 2018; accepted 4 September 2018

Available online 30 November 2018

KEYWORDS

Adverse food reaction;
Children;
Consistency;
Food allergy;
Questionnaire;
Reproducibility;
Temporal stability

Abstract

Introduction and objectives: A standardised questionnaire may be an excellent tool for epidemiological studies aiming at screening children with suspected food allergies. Thus, the aim of the present study was to develop a screening questionnaire for assessing children with suspected food allergy and to analyse its reproducibility.

Materials and methods: A questionnaire of adverse food reactions was developed by literary review of similar questionnaires validated in other countries as well as less well defined, non-validated Portuguese questionnaires. Peer review of the questionnaire by a panel of specialists and subsequent exploratory analysis was carried out by applying the questionnaire in children with confirmed food allergy. Test–retest analysis was performed by giving a face-to-face questionnaire to 159 children with suspected adverse food reactions, aged between three and 11 years. Temporal stability using Spearman Rho correlation test and reproducibility was studied using Cohen's Kappa index.

Results: 115 children confirmed adverse food reactions that occurred with one or more foods. Retest was given about three weeks after the test, to 50 of these children who were randomly selected. The questionnaire showed good temporal stability (Spearman correlation coefficient of 0.834), and good reproducibility (only two of the 27 items had a Kappa index <0.60).

Conclusions: This questionnaire showed good temporal stability and reproducibility. Its validation for screening children with suspected food allergy will allow a standardised approach to diagnosis and comparison of results obtained in different centres.

© 2018 SEICAP. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

* Corresponding author.

E-mail address: tabordabarata@fcsaude.ubi.pt (L. Taborda-Barata).

<https://doi.org/10.1016/j.aller.2018.09.008>

0301-0546/© 2018 SEICAP. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introduction

Food allergy involves reactions to foods in which an immunological mechanism can be demonstrated and which includes IgE-mediated reactions.^{1,2} However, other mechanisms may be implicated in adverse reactions to foods, namely non-toxic mechanisms such as intolerance.³ Clinical manifestations of food allergy are diverse, but most frequently include mucocutaneous reactions, although anaphylaxis may also occur,⁴⁻⁶ with children and adolescents having a higher risk.⁷ A final diagnosis of food allergy requires confirmation by *in vivo* and *in vitro* tests ("probable" food allergy), as well as oral provocation procedures (gold standard; "confirmed" food allergy), in specific situations.⁸ However, clinical suspicion may be based on a clear history of reproducible specific food-associated symptoms with resolution upon eviction⁴ in association with predictive thresholds for food-specific IgE levels.⁸ This is helpful for the characterisation of the suspect food, clinical features and their severity, thereby allowing the appropriate clinical management of the situation, avoiding too restrictive or unnecessary diets.⁹ It may also allow clarification regarding which foods must be avoided to prevent serious reactions on contact with suspect foods.⁶ In accordance with international guidelines,^{4,10} skin prick tests (SPT) and determination of food-specific IgE levels should be focused on specific foods, guided by clinical history and food-specific IgE levels.⁸

The prevalence of food allergy may be increasing, at least for certain foods,¹¹ and is highest in children and then declines with age.^{6,12-14} If assessment of the prevalence of food allergy is based on self-report ("perceived/possible" food allergy), the values show a broad variation (3-47%), depending upon factors such as age, geographical area, operational definition of "food allergy", "food hypersensitivity" or "adverse food reaction" used, and the questionnaire methodology applied (by telephone, self-administered, interviewer-driven, etc.).^{10,15-18} In this context, a standardised, reliable, easily completed and available questionnaire may be an excellent tool for epidemiological studies focusing on detecting children with suspected food allergies. Although it is possible to translate questionnaires validated in other languages, it is not always feasible to adapt such questionnaires for use with populations that are culturally different, which may compromise the validity of the data obtained.¹⁹ Furthermore, most epidemiological studies provide scant information on the questionnaires that were used,^{14-18,20} even those that used the EuroPrevall questionnaire.^{21,22} In this context, a previously developed questionnaire in Brazil underwent preliminary studies by some members of our team, in terms of reproducibility and was shown to have a high number of questions with a good Kappa index (≥ 0.6).²³

In Portugal, a couple of studies carried out in children at Allergy clinics used non-validated questionnaires.^{24,25} Thus, the objective of the present report was to analyse internal consistency and reproducibility of this questionnaire for the study of adverse food reactions and food allergy in Portuguese children.

Methods

Development of the questionnaire

The first step consisted in a bibliographical search for validated questionnaires for application in children with suspected food allergies. We found no validated questionnaires for the Portuguese population. Questionnaires used in prevalence studies in other countries did not mention validation data²⁶⁻²⁸ and EuroPrevall studies did not include readily available questionnaires.

We then built a preliminary version of our questionnaire, based upon the most frequent clinical manifestations of food allergy reported in other studies^{10,27,29-31} and upon the questionnaire previously tested for reproducibility and temporal stability in Brazilian children.²³ Guidelines from Portuguese⁹ and European³² scientific societies were taken into account. Our questionnaire included more questions (deemed clinically relevant) than the one used in Brazil, and was a confirmatory, second phase questionnaire, as seen in other studies.^{20,21,31}

Clinical data that are crucial for the diagnosis^{32,33} were reflected in our questionnaire: nature of the suspect food, time lag between ingestion and development of symptoms, whether ingestion of the suspect food induced similar symptoms on other occasions; other triggers such as physical exercise, and when the previous reaction took place³² were also analysed. Questions on reproducibility of symptoms were also included.

Pre-test, logical and content validity

A pilot study was then performed with the questionnaire in twenty-four children from the paediatric outpatient Allergy Clinic of Cova da Beira Hospital Centre, with clinical, laboratory and double-blind, placebo-controlled challenge-confirmed (DBPCFC) food allergy (14 males and 10 females; mean age of 7.4 years, $SD \pm 3.4$). This stage aimed at assessing the applicability of the questionnaire, logic, comprehension and adequacy of the questions from the point of view of the target population. It also allowed us to perform a first evaluation of the consistency of the questions. The time it took parents to fill in the questionnaire was timed and doubts reported by children and their parents were recorded. The questionnaire was regarded as thorough by the children and parents but with simple and easily understandable questions and adequately timed (duration of 7-12 minutes).

With the feedback obtained with this pilot study, we made some changes, namely in the sequence of the questions. We also simplified some of the questions and defined the parameters better, in order to turn open questions into closed ones.

Once completed, the questionnaire was sent to a panel of three Allergists with experience in food allergy, and comments obtained were used for analysis of logical or apparent validity, and content validity of the questionnaire. Thus,

content validity was confirmed with a panel of children and their parents, Allergy experts and literature review.

The final questionnaire was also read by a specialist in Portuguese linguistics, to correct language errors.

Description of the questionnaire

In addition to questions regarding demographics, the questionnaire included 17 questions (Table 1), in seven domains. Domain 1 focused on confirmation of the presence of a previous adverse reaction to food. Domain 2 aimed at identifying the food which triggered the adverse reaction. The questionnaire only proceeded on from this point in the event that at least one trigger food had been selected. Domain 3 focused on the characterisation of the first reaction to suspect food(s), and included questions 3–9. These questions were answered separately for each identified trigger food, and included evaluation of reported symptoms and their severity, definition of the reaction as immediate or delayed, identification of eventual triggers, how the food induced the reaction, and identification of new foods that might have been neglected. Domain 4 included questions 10 and 11 and focused on procedures followed in response to the reaction. Domain 5 involved questions about the stability of reactions upon a new contact. Questions included how long ago the last reaction had taken place (item 12), subsequent ingestion of the suspect food and eventual reactions (item 13), changes in severity or tolerance to the food on subsequent contact (item 14), and the number of new episodes (item 15). Finally, Domain 6 included questions 16 and 17, on personal and family history of allergy, as risk factors.

Initial study

A shortened form of the final questionnaire consisting only of questions on demographics and two questions (questions 1 and 2) regarding the previous occurrence of food reactions and identification of the suspect foods was sent to all children from public Pre-Schools and Primary Schools of the region of Beira Interior (Belmonte, Covilhã and Fundão), Portugal. Of the 2474 children whose parents replied to this simplified questionnaire (Questionnaire 1), 176 children were detected as having possible, self-reported food allergy. The parents of 159 of these children then replied to the complete questionnaire (Questionnaire 2) (Supplementary materials 1 and 2) and 115 confirmed a suspicion of adverse reaction to at least one food (Fig. 1).

Test–retest

Reliability of the screening questionnaire was studied for intra-observer reliability (test–retest). From the group of 115 children with suspected food allergy, we randomly selected 50 children for test–retest analysis, who again had to fill in the same questionnaire. The retest was applied by the same researcher, 1–12 weeks (mean five, median three weeks) after the first application of the questionnaire. For the calculation of the retest results, the food associated

with the most severe reaction was selected, if there were reactions to more than one food.

Statistical analysis

Spearman's Rho correlation coefficient (with a level of significance of $p < 0.01$) was used to analyse temporal stability, regarding values >0.70 in the absolute value as a strong correlation. Analysis of concordance and reproducibility of the questionnaire was performed using Cohen's Kappa test for each question. Cohen's Kappa results and their 95% confidence intervals were interpreted for levels of concordance: 0.00 – poor; 0.01–0.20 – slight; 0.21–0.40 – fair; 0.41–0.60 – moderate; 0.61–0.80 – substantial; >0.80 – almost perfect.³⁴ Data were analysed using the Software Package for Social Sciences (SPSS) version 20.0®. A p value of less than 0.05 was regarded as significant with all tests.

Ethical considerations

This study was approved by the Ethics Committees of the Faculty of Health Sciences of the University of Beira Interior and Cova da Beira Hospital Centre. All parents/guardians signed a written informed consent. The questionnaire was approved by the General Board for Curricular Innovation and Development (Direcção-Geral de Inovação e de Desenvolvimento Curricular – DGIDC).

Results

Demographic data

The 50 children who were randomly selected in order to perform the test–retest had a mean age of 8.7 ± 2.4 years and 58% were male. Most of the children (69%) lived in an urban environment, 37 (74%) were atopic and 31 (62%) had family history of atopic diseases. The most frequently reported reactions to foods occurred with fresh fruits ($n=16$); fish ($n=9$); and eggs ($n=8$).

Temporal stability

Analysis of temporal stability using the sum of the most relevant test/re-test replies to questions 4, 5, 10, 11 (which allowed characterisation of clinical manifestations and their severity) and 16, showed a Spearman's Rho correlation coefficient of 0.834.

Analysis of concordance and reproducibility of the questionnaire

Kappa Cohen's test was used for analysis of reproducibility (intra-observer reliability) of the test–retest for each question (Table 1). For the 17 questions, 27 analyses of concordance were performed. One of the questions (9) showed perfect concordance for one category, nine items showed an almost perfect concordance (Kappa between 0.81–1), fifteen items had a good or very good Kappa value (>0.6) and two (items 5 and 12) showed a moderate Kappa value (0.48 and 0.56, respectively).

Table 1 Assessment of reproducibility of a screening questionnaire for the detection of adverse food reactions and food allergy.

Questions	Relative concordance			Kappa (CI 95%)
	<i>n</i>	%		
<i>Domain 1 – Confirmation of allergic reaction</i>				
1 Does your child have any health problem or reaction with any food or drink?	50	50	100	1.0 (1.00–1.00)
<i>Domain 2 – Identification of suspect food</i>				
2 Which food or drink triggers a reaction?	47	50	–	–
Milk	49	50	98	0.91 (0.74–1.08)
Egg	50	50	100	1.0 (1.00–1.00)
Fish	49	50	98	0.94 (0.82–1.06)
Soy bean	48	50	96	0.89 (0.74–1.04)
Peanut	50	50	100	0.75 (0.57–0.92)
Meat	50	50	100	0.83 (0.55–1.10)
Fresh fruits	50	50	100	1.0 (1.00–1.00)
Fresh legumes	48	50	96	0.6 (0.24–0.96)
Other	49	50	98	0.92 (0.82–1.03)
<i>Domain 3 – Characterisation of the first reaction and associated features</i>				
3 When your child had the reaction, was that the first time that he/she ate/drank that food?	43	50	86	0.77 (0.62–0.93)
4 How long after having eaten the food did the reaction occur?	49	50	98	0.88 (0.74–1.01)
5 What type of reaction did your child have after having eaten/drank that food/drink?	–	–	–	–
Respiratory symptoms	47	50	94	0.82 (0.62–1.02)
Gastrointestinal symptoms	45	50	90	0.77 (0.57–0.96)
Mucocutaneous symptoms	49	50	98	0.94 (0.83–1.05)
Cardiovascular symptoms	48	50	96	0.48 (–0.14 to 1.10)
6 How was the reaction triggered by the food/drink?	50	50	100	1.0 (1.00–1.00)
7 If your child smells that food or it touches his/her skin, does he/she have any reaction?	48	50	96	0.85 (0.66–1.04)
8 Were factors such as physical exercise, ingestion of medication or any other associated with the reaction to the foods?	50	50	100	–
9 Did your child ever have itchy, swollen or tingling lips, mouth or throat after having eaten any other food?	50	50	100	1.0 (1.00–1.00)
<i>Domain 4 – Procedure followed after reaction</i>				
10 Was your child taken to hospital when he/she had the reaction to food/drink?	47	50	94	0.83 (0.68–0.99)
11 Did your child have to be given any medication when he/she had the reaction?	46	50	92	0.87 (0.74–0.99)
<i>Domain 5 – Stability of reaction upon new contact</i>				
12 How long ago did the last reaction take place?	40	50	80	0.56 (0.36–0.76)

Table 1 (Continued)

Questions	Relative concordance			Kappa (CI 95%)
	<i>n</i>		%	
13	49	50	98	0.88 (0.65–1.11)
14	47	50	94	0.85 (0.69–1.01)
15	47	50	94	0.89 (0.77–1.01)
<i>Domain 6 – Risk factors</i>				
16	40	50	80	0.64 (0.46–0.82)
17	43	50	86	0.79 (0.65–0.93)

CI: confidence interval.

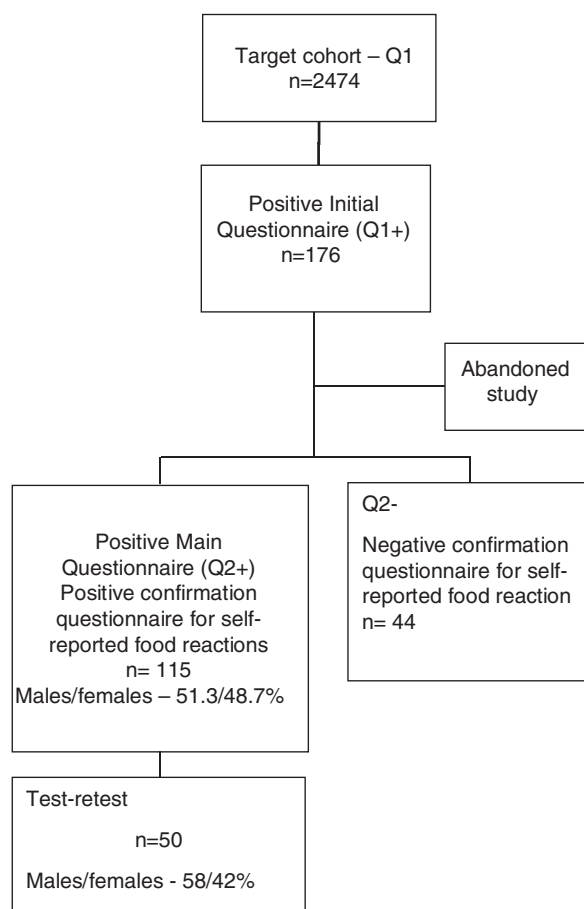


Figure 1 Flow chart of the study design for analysis of reproducibility and temporal stability in Portuguese schoolchildren.

The item related to identification of suspect food (item 2) showed a good or very good Kappa value (≥ 0.75) for all foods, except for fresh legumes (0.60).

Although most parents did not know whether the first reaction coincided or not with the first ingestion (item 3), we found a good concordance in replies to this question as well as in terms of the number of episodes (item 15) (0.77 and 0.89, respectively).

In terms of questions aiming at characterising the reactions, question 4, whose objective was to discriminate between early and delayed reactions, showed a relative concordance of 98% and a Kappa value of 0.88. Questions related to clinical features of the reactions were grouped into mucocutaneous, respiratory, digestive or cardiovascular manifestations (item 5) and showed good temporal consistency (≥ 0.77) except for cardiovascular symptoms (Kappa of 0.48). Item 6 aimed at identifying the contact route with the food (inhalation, cutaneous contact or ingestion), and showed a concordance of 100% and a Kappa value of 1. Item 13, which aimed at assessing the reproducibility of the reaction, showed a 98% concordance and a Kappa value of 0.88.

Questions regarding food episode-associated hospital visits (item 10) and medication prescribed (item 11) also showed an almost perfect concordance value (0.83 and 0.87, respectively), and aimed at assessing severity of the reaction.

In terms of the question regarding triggers/co-triggers such as physical exercise or drugs (item 8) all answers were 'I do not know'.

Questions 16 and 17 aimed at assessing possible risk factors for the reactions and showed a Kappa value of 0.64 for other allergic symptoms in the children, and of 0.79 for allergic disease in children's families.

Discussion

In the present study, we developed and studied feasibility, reliability (test-retest reproducibility), face and content validity of a questionnaire for screening adverse food reactions in children. The questionnaire was shown to be simple to apply, to have good temporal stability, as well as good or very good reproducibility of most questions,^{19,35} thereby suggesting its adequacy for screening children with adverse food reactions.

The questionnaire was called "Questionnaire 2 (Q2)" and was intended to be applied to children with suspected food allergies who had reported food-related symptoms in a preliminary, two question-long questionnaire ("Q1"). This means that we intended to follow a two-step approach for epidemiological studies, also used in EuroPrevall²¹ and other studies.^{20,31} Nevertheless, our Q2 screening questionnaire was designed to be applied without the need for the initial Q1 questionnaire. Our full questionnaire involves a semi-structured interview, which makes it more powerful than a simple checklist, and its construction followed a theoretical model, based upon a robust theoretical review of the literature. In addition, it also continued the work of a previously published questionnaire in Brazil,²³ with the addition of questions deemed to be clinically relevant.

With its two initial questions, this questionnaire allows the identification of children with adverse food reactions who may be at risk of developing further reactions. Question 1 aimed at detecting the presence of self-reported adverse reactions to foods and question 2 aimed at identifying the trigger foods. Although these questions are not specific enough to exclude non-allergy related situations, they are potentially highly sensitive, thereby allowing the inclusion of all cases of adverse food reactions which will be more specifically studied by the subsequent items in the questionnaire. In fact, most previously used questionnaires,^{18,20,22} namely those used in EuroPrevall²¹ and the Brazilian studies²³ included two similar initial questions.

As far as reliability is concerned, our questionnaire was assessed for intra-observer stability. In this context, temporal stability demonstrated high and significant Spearman Rho correlation values ($r=0.834$; $p<0.01$), thereby suggesting that it has good enough temporal stability (value close to 1) for it to be applied in our target population.

Kappa index has been studied in various studies in children, to assess concordance among various observers³⁴ but also for analysis of intra-observer reliability.^{36,37} Our study used Kappa index for assessment of the reproducibility of the different questions and eventually proposing their modification or exclusion. All domains showed high levels of concordance, with only two questions in Domain 3 (characterisation of the first reaction) showing a fair concordance Kappa value (question 4, for cardiovascular symptoms; and question 12, regarding how long ago had the previous reaction taken place). Thus, all the remaining 15 questions demonstrated a substantial concordance (Kappa value >0.6), and nine questions showed an almost perfect concordance (Kappa between 0.81 and 1). It is difficult to compare these parameters since we could not find any published validation of similar screening questionnaires for food allergies in the literature, apart from the Brazilian study.²³

The Brazilian study showed almost perfect concordance in two questions ("Has your child had any reaction when this food only touched his/her skin?" and "Did your child feel itching, swelling, or numbness in his/her mouth after eating fruit or raw vegetable?") and this was in agreement with our study.

Our study showed that there was a good concordance in the identification of suspect foods except for fresh legumes, which may be due to the fact that in our population there is a low prevalence of adverse reactions to fresh legumes,^{24,25,38} as has also been reported in other countries.^{20,22} In fact, allergy to legumes is not regarded as a common food allergy.¹¹ Furthermore, whenever reactions to fresh legumes were reported in our study, these were mild or mostly based upon a single episode of symptoms, which may make it more difficult for the reaction to be remembered, as was demonstrated in a previous study on cow's milk allergy/intolerance.³⁹

In terms of characterisation of the first reaction (Domain 3), although most parents did not know whether it coincided with the first ingestion of the suspect food (question 3), we still found a good concordance in replies to this question (0.77), with values that were higher than those reported in the Brazilian questionnaire (0.55).²³

Still in Domain 3, answers concerning clinical characterisation of the reaction showed substantial concordance (≥ 0.77) except for cardiovascular symptoms (0.48), which may have been due to the fact that these symptoms were very seldomly reported in our sample. In terms of triggers such as physical exercise or medication (question 8), all answers were "I do not know" which, in spite of full concordance, did not allow us to further study this aspect. Thus, although these triggers are regarded as relevant in other studies,²⁹ we could not demonstrate that in our patients.

In Domain 4 (procedure followed after reaction), questions regarding going to hospital as well as medication given, are useful for assessing the severity of the reaction, and showed an almost perfect level of concordance (0.83 and 0.87, respectively), thereby suggesting that there may be a sharper memory of issues of greater frequency or severity.³⁹ These high levels of concordance were higher than those found in Brazilian children, in similar questions,²³ possibly because the reactions involved were of lower magnitude.

In Domain 5 (stability of reactions upon new contact), concordance was also almost perfect (Kappa value of 0.88) for answers about the number of adverse food reaction episodes. This is possibly because we narrowed parent choice by allowing them to choose from a range of numbers of episode rather than by asking them to fill in a single absolute number of episodes.

Still in Domain 5, in terms of time elapsed since the previous reaction (question 12), we only found a moderate concordance value (Kappa of 0.56), which was, nevertheless, higher than that observed in the Brazilian children (Kappa of 0.28).²³ Questions that deal with elapsed time and age of occurrence may show a low degree of concordance, due to memory bias. In fact, memory of the previous episode may depend upon the severity of the event and time elapsed ever since.^{26,39} Another reason may be that these reactions may include both food-induced allergies as well as non-allergic adverse food reactions with different degrees

of severity. In addition, after the initial interview, parents may have attempted to remember the episodes in order to give a more precise reply on retest. Finally, children may have developed tolerance to foods between test and retest as was demonstrated in similar studies in children.^{39,40}

In Domain 6 (assessment of risk factors), questions 16 and 17, which aimed at assessing risk factors, only showed good Kappa values (0.64 for other allergic symptoms, and 0.79 for history of allergies in the family). This may be partially explained by the fact the parents of some children may have become more aware that their children had an allergic disease or had a confirmed diagnosis of allergic disease between test and retest, as happened in some cases. In addition, low temporal stability may also have been due to a memory bias, as has been previously reported.^{38,40}

Our study has some limitations. Firstly, content validity was only assessed in twenty-four children with food allergies, which is a relatively low number of individuals. Nevertheless, a similar analysis was also performed in 50 children with suspected food allergies. Thus, we believe that the sample size used for this study may have been adequate according to item analysis recommendations⁴¹ Secondly, although most questions had very good consistency and reproducibility, some of the questions had low consistency and will need to be reformulated or removed by multiplex reduction analysis. Thirdly, reliability analysis of the questionnaire using alfa Cronbach's test was not carried out because the intrinsic nature of the items of the instrument did not allow it.³⁷ Fourthly, the time lag between test–retest was moderately outside the ideal time range (two weeks), although the median in our study was only three weeks, and the mean was five weeks, which is similar to other reports. Nevertheless, this time lag may have been associated with memory bias. In addition, our questionnaire will subsequently have to be validated regarding its sensitivity and specificity by comparing it to the gold standard technique of DBPCFC. Although our 24 children with DBPCFC-confirmed food allergy filled in the questionnaire, we did not perform such an analysis at this stage. Finally, although our questionnaire is simple and was used for screening children for adverse food reactions and food allergies, it may still be further improved by introducing Likert-type questions to increase its robustness for detecting specific food allergy profiles. Further studies are warranted, namely in collaboration with the Brazilian questionnaire.²³

Nevertheless, our questionnaire has the advantage of being simple to use, easily available, and follows criteria for diagnosis of food allergy.^{4,10,21} This is particularly relevant in terms of its application for a rapid and simple diagnosis of possible food allergy in children, a population in which such a problem is highly relevant.^{7,11}

Thus, we believe our questionnaire may subsequently be applied in all Portuguese-speaking countries (250 million people) and has features that allow its application worldwide, given its availability, ease of application, global consistency and temporal stability.

Conclusions

We have developed the first questionnaire in Portugal for screening food allergies in children, which has very good

internal consistency and reproducibility and can be easily applied. It holds good potential as a useful screening test for food allergies.

Funding

This study did not have any external funding. Costs regarding questionnaires and laboratory tests were paid for by internal investigator funds (Faculty of Health sciences and Cova da Beira Hospital).

Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgments

We would like to thank the Departments of Paediatrics of Cova da Beira Hospital and all nursing staff that helped with skin prick tests.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.aller.2018.09.008](https://doi.org/10.1016/j.aller.2018.09.008).

References

- Johansson JG, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:832–6.
- Sicherer SH, Sampson H. Food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117:S470–5.
- Sicherer SH. Epidemiology of food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:594–602.
- Boyce JA, Assaad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, Wood RA, et al. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: summary of the report of the NIAID-sponsored expert panel. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126:S1–58.
- Santos AF, Lack G. Food allergy and anaphylaxis in pediatrics: update 2010–2012. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012;23:698–706.
- Niggemann B. Special aspects of food allergy in children. *Hautarzt.* 2012;63:288–93.
- Sampson HA, Mendelson L, Rosen JP. Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. *N Engl J Med.* 1992;327:380–4.
- Eigenmann PA. Do we still need oral food challenges for the diagnosis of food allergy? *Pediatr Allergy Immunol.* 2018;29:239–42. <http://dx.doi.org/10.1111/pai.12845>.
- Carrapatoso I, Falcão H, Cunha L, Jordão F, Sampaio G, Costa AC, et al. Alergia alimentar. *Rev Port Imunoalergol.* 2009;17 Suppl. 1:5–40.
- Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy.* 2014;69:1008–25.
- Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Cardona V, et al. The epidemiology of food allergy in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy.* 2014;69:62–75.

12. Mills EN, Mackie AR, Burney P. The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe. *Allergy*. 2007;62:717–22.
13. Keil T. Epidemiology of food allergy: what's new? A critical appraisal of recent population-based studies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007;7:259–63.
14. Nissen SP, Kjaer HF, Høst A, Nielsen J, Halken S. The natural course of sensitization and allergic diseases from childhood to adulthood. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013;24:549–55.
15. Rona RJ, Keil T, Summers C, Gislason D, Zuidmeer L, Sodergren E, et al. The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120:638–46.
16. Pereira B, Venter C, Grundy G, Clayton CB, Arshad SH, Dean T. Prevalence of sensitization to food allergens, reported adverse reaction to foods, food avoidance, and food hypersensitivity among teenagers. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116:884–92.
17. Shu SA, Chang C, Leung PS. Common methodologies in the evaluation of food allergy: pitfalls and prospects of food allergy prevalence studies. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2014;46:198–210.
18. Hoyos-Bachiloglou R, Ivanovic-Zuvic D, Álvarez J, Linn K, Thöne N, de los Angeles Paul M, Borzutzky A. Prevalence of parent-reported immediate hypersensitivity food allergy in Chilean school-aged children. *Allergol Immunopathol*. 2014;42:527–32.
19. Farias Júnior JC, Lopes AS, Mota J, Santos MP, Ribeiro JC, Halla PC. Validade e reprodutibilidade de um questionário para medida de atividade física em adolescentes. *Rev Bras Epidemiol*. 2012;15:198–210.
20. Orhan F, Karakas T, Kadir M, Aksoy A, Baki A, Gedik Y. Prevalence of immunoglobulin E-mediated food allergy in 6–9 year-old urban schoolchildren in the eastern Black Sea region of Turkey. *Clin Exp Allergy*. 2009;39:1027–35.
21. Kummeling I, Mills ENC, Clausen M, Dubakiene R, Fernández Pérez C, Fernández-Rivas M, et al. The EuroPrevall surveys on the prevalence of food allergies in children and adults: background and study methodology. *Allergy*. 2009;64:1493–7.
22. Kavaliunas A, Surkienė G, Dubakienė R, Stukas R, Zagminas K, Saulitė J, et al. EuroPrevall Survey on prevalence and patterns of self-reported adverse reactions to food and food allergies among primary schoolchildren in Vilnius, Lithuania. *Medicina (Kaunas)*. 2012;48:265–71.
23. Lyra NRS, Motta MEFA, Rocha LAR, Solé D, Peixoto DM, Rizo JA, et al. Adverse reactions to foods and food allergy: development and reproducibility of a questionnaire for clinical diagnosis. *J Allergy*. 2013;2013:1–7.
24. Morais-Almeida M, Prates S, Pargana S, Arêde C, Godinho N, Tavares C, et al. Alergia alimentar em crianças numa consulta de imunoalergologia. *Rev Port Imunoalergol*. 1999;7:167–71.
25. Bento ML, Armando F, Cesar-Ramos JM. Epidemiology of food allergy in Portugal. *Pediatr Pulmonol*. 2001; Suppl. 23:38–40.
26. Rancé F, Grandmottet X, Granjean H. Prevalence and main characteristics of schoolchildren diagnosed with food allergies in France. *Clin Exp Allergy*. 2005;35:167–72.
27. Venter C, Pereira B, Grundy J, Clayton CB, Arshad SH, Dean T. Prevalence of sensitization reported and objectively assessed food hypersensitivity amongst six-year-old children: a population-based study. *Pediatr Allergy Immunol*. 2006;17:356–63.
28. Zuberbier T, Edenharter G, Worm M, Ehlers I, Reimann S, Hantke T, et al. Prevalence of adverse reactions to food in Germany – a population study. *Allergy*. 2004;59:338–45.
29. Van der Velde JL, Flokstra-de Blok BM, Vlieg-Boerstra BJ, Oude Elberink JN, DunnGalvin A, Hourihane JO, et al. Development, validity and reliability of the food allergy independent measure (FAIM). *Allergy*. 2010;65:630–5.
30. Kanny G, Moneret-Vautrim DA, Flabbee J, Beaudoin E, Morisset M, Thevenin F. Population study of food allergy in France. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108:133–40.
31. Sandin A, Annus T, Björkstén B, Nilsson L, Riikjäärvi M-A, van Hage-Hamsten M, et al. Prevalence of self-reported food allergy and IgE antibodies to food allergens in Swedish and Estonian schoolchildren. *Eur J Clin Nutr*. 2005;59:399–403.
32. Sampson HA. Anaphylaxis and emergency treatment. *Pediatrics*. 2003;111:1601–8.
33. Sampson HA. Food allergy – accurately identifying clinical reactivity. *Allergy*. 2005;60 Suppl. 79:19–24.
34. Cerda J, Villarreal L. Evaluación de la concordancia inter-observador en investigación pediátrica: Coeficiente de Kappa. *Rev Chil Pediatr*. 2008;79:54–8.
35. Watson PF, Petrie A. Method agreement analysis: a review of correct methodology. *Theriogenology*. 2010;73:1167–79.
36. Prous MJGY, Salvanés FR, Ortells LC. Validation of questionnaires. *Reumatol Clin*. 2009;5:171–7.
37. Rodríguez MC, Maeda Y. Meta-analysis of coefficient alpha. *Psychol Methods*. 2006;11:306–22.
38. Lozoya-Ibáñez C, Morgado-Nunes S, Rodrigues A, Lobo C, Taborda-Barata L. Prevalence and clinical features of adverse food reactions in Portuguese adults. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2016;12:36. <http://dx.doi.org/10.1186/s13223-016-0139-8>.
39. Eggesbø M, Botten G, Halvorsen R, Magnus P. The prevalence of CMA/CMPI in young children: the validity of parentally perceived reactions in a population-based study. *Allergy*. 2001;56:393–402.
40. Van Zyl Z, Maslin K, Dean T, Blaauw R, Venter C. The accuracy of dietary recall of infant feeding and food allergen data. *J Hum Nutr Diet*. 2016;29:777–85. <http://dx.doi.org/10.1111/jhn.12384>.
41. Rouquette A, Falissard B. Sample size requirements for the internal validation of psychiatric scales. *Int J Methods Psychiatr Res*. 2011;20:235–49.