

# Padrões de sensibilização na hipersensibilidade a leguminosas. Estudo numa população da região Centro.

*Sensitisation patterns in legume hypersensitivity.  
A study from the central region of Portugal*

Data de receção / Received in: 17/09/2008

Data de aceitação / Accepted for publication in: 05/12/2008

Rev Port Imunoalergologia 2009; 17 (1): 37-55

Luísa Geraldes<sup>1</sup>, Isabel Carrapatoso<sup>1</sup>, Alexandra Santos<sup>1</sup>, Fernando Rodrigues<sup>2</sup>, Ana Todo-Bom<sup>1</sup>, Emília Faria<sup>1</sup>, Celso Chieira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Serviço de Imunoalergologia / *Immunology Department*. Hospitais da Universidade de Coimbra

<sup>2</sup> Serviço de Patologia Clínica / *Clinical Pathology Unit*. Hospitais da Universidade de Coimbra

## RESUMO

**Fundamentos:** As leguminosas, plantas essenciais na dieta mediterrânica, podem condicionar reacções graves e potencialmente fatais. Está descrita uma elevada reactividade cruzada imunológica entre os diferentes alimentos desta família, mas a sua relevância clínica não é consensual. **Objectivo:** Pretendeu-se com este estudo fazer uma caracterização clínica e laboratorial de doentes sensibilizados a leguminosas e com manifestações clínicas após ingestão de pelo menos uma leguminosa. **Métodos:** Foram incluídos de forma consecutiva 13 indivíduos observados em 2006 na consulta de alergia alimentar com clínica após ingestão de leguminosas. Realizada anamnese e executados testes cutâneos por picada (TCP) com extractos comerciais de feijão-branco, feijão-verde, ervilha, grão-de-bico, soja e amendoim e testes cutâneos *prick-prick* (PP) às leguminosas anteriores na forma crua e cozinhada e também ao tremço e ao feijão-frade. O estudo laboratorial consistiu no doseamento de IgE específicas e na realização de estudos de *immunoblotting*. **Resultados:** A maioria dos doentes apresentava sintomatologia após ingestão a mais do que uma leguminosa (média 3), sendo o feijão o mais relatado. O grão-de-bico e o feijão (4 doentes cada) e o tremço (3) foram as primeiras leguminosas a desencadear sintomas. Sensibilização sem sintomas ocorreu, em média, para mais duas leguminosas. Foram descritas reacções anafilácticas após ingestão de feijão, soja

e tremçoço (um doente cada); crises de asma após ingestão de grão-de-bico (2 doentes) e feijão (1) e manifestações mucocutâneas: síndrome de alergia oral, urticária e/ou angioedema nos restantes doentes. Nestes constatou-se sempre positividade nos testes cutâneos PP a todas as leguminosas e na maioria dos TCP. **Conclusões:** Confirmou-se gravidade clínica da alergia a leguminosas. Quando usados isoladamente, os estudos com testes cutâneos *prick-prick* com alimentos em natureza e cozinhados parecem continuar a ser os que têm maior rentabilidade diagnóstica. No entanto, a realização de *immunoblotting* mantém um papel importante na identificação de novas proteínas alergénicas.

**Palavras-chave:** Hipersensibilidade alimentar, IgE específica, *immunoblotting*, leguminosas, testes cutâneos.

## ABSTRACT

**Background:** Foods from the legume family are used in the Mediterranean diet as a source of protein. In some cases, their ingestion triggers potentially life-threatening reactions. A high degree of immunological cross-reactivity has been described, but its clinical relevance is controversial. **Aim:** To carry out a clinical and laboratory characterisation of patients sensitised to leguminosae who had symptoms after the ingestion of at least one food from the leguminosae botanical family. **Methods:** We selected 13 consecutive patients from a food allergy outpatient clinic with allergy symptoms after the ingestion of leguminosae during the year of 2006. Case history data, skin prick tests (SPT) with commercial extracts of white bean, green bean, pea, chickpea, soya bean and peanut, and prick-to-prick (PP) tests to these legumes, both raw and boiled, and also to lupini bean and black-eyed bean were performed. Serum specific IgE and immunoblotting assays were also carried out. **Results:** Most patients had had symptoms with more than one legume (mean 3 legumes) with bean the most reported. The first culprit leguminosae reported was chickpea in 4 patients, bean in 4 patients and lupini bean in 3. Sensitisation to other legumes without clinical symptoms also occurred (mean 2 legumes). Anaphylaxis was described in 3 patients, to bean, soya and lupini bean, respectively. Asthma was connected to chickpea (2 patients) and to bean (1). One or more of the following symptoms: urticaria, angioedema and oral allergy syndrome were reported by other patients. Symptomatic patients always had positive PP tests to leguminosae and most SPT were also positive. **Conclusions:** Life-threatening reactions to leguminosae were found. PP tests used alone to raw and boiled legumes seem to be the most reliable diagnostic tests as in the case of other vegetable foods. However, immunoblotting assays are still important in the identification of new allergens.

**Key-words:** Food hypersensitivity, immunoblotting, leguminosae, skin tests, specific IgE.

## INTRODUÇÃO

**A**s leguminosas são plantas dicotiledóneas pertencentes à ordem *Fabales*. Esta ordem é constituída por três famílias: *Mimosaceae*, *Caesalpinaceae* e *Papilionaceae* ou *Fabaceae*. A família das *Fabaceae* inclui as espécies alergénicas mais importantes: *Lens culinaris* (lentilhas), *Cicer arietinum* (grão-de-bico), *Pisum sativum* (ervilha), *Arachis hypogaea* (amendoim), *Phaseolus vulgaris* (feijão), *Glycine Max* (soja) e *Lupinus albus* (tremoço)<sup>1</sup>.

Nos países mediterrânicos as leguminosas constituem a base na alimentação de proteínas de origem vegetal e são um dos constituintes mais constantes nos pratos tradicionais de culinária portuguesa. São também utilizadas em alimentos processados como aditivos alimentares pelas suas características emulsificantes<sup>2</sup>. Estes alergénios ocultos podem desencadear reacções adversas em indivíduos altamente sensibilizados a leguminosas.

Pensa-se que a diferença na incidência de alergia a leguminosas encontrada nos diferentes países esteja relacionada com os hábitos alimentares, a idade de introdução desses alimentos na dieta e o tipo de confecção. Enquanto a ingestão de soja e amendoim é mais frequente nos países anglo-saxónicos, a lentilha e o grão-de-bico são mais característicos dos países mediterrânicos<sup>3</sup>.

Apesar dos chineses e dos americanos serem grandes consumidores de amendoim, os primeiros habitualmente ingerem-no na forma frita ou cozida, enquanto os segundos na forma torrada. Este facto condiciona diferenças na prevalência de alergia a esta leguminosa entre os dois países, sendo muito superior nos EUA<sup>4</sup>.

Entre os diferentes alimentos da família das leguminosas está descrita uma elevada reactividade cruzada imunológica influenciada pelos hábitos alimentares, mas a sua relevância clínica não é consensual. Estudos efectuados na população anglo-saxónica sugerem reactividade imunológica com baixo significado clínico, contrariamente ao que sucede na população espanhola, em que o consumo de legumes é significativo<sup>5,6</sup>. Assim, a eliminação da dieta de todas as legu-

## INTRODUCTION

**L**eguminosae or *Fabaceae* are dicotyledonous plants of the *Fabales* order, which comprises three sub-families: *Mimosaceae*, *Caesalpinaceae* and *Papilionoideae* or *Faboideae*. The *Fabaceae* include the most important allergenic species: *Lens culinaris* (lentil), *Cicer arietinum* (chickpea), *Pisum sativum* (pea), *Arachis hypogaea* (peanut), *Phaseolus vulgaris* (bean), *Glycine Max* (soya bean) and *Lupinus albus* (white lupin)<sup>1</sup>.

In Mediterranean countries legumes are a vegetable protein food crop and a staple of traditional Portuguese cuisine. Thickeners by nature, they are used as additives in processed foods<sup>2</sup>. These hidden allergens can trigger adverse reactions in highly sensitised individuals.

It is believed that the different incidence rates of legume allergy found in different countries are related to eating habits, the age at which these foods are introduced into the diet and the method of cooking. Soya bean and peanut are more frequently found in the Anglo-Saxon diet, while lentil and chickpea are more typical of Mediterranean countries<sup>3</sup>. Chinese and Americans consume large quantities of peanuts, but while the former usually eat them fried or boiled, the latter eat them roasted. This influences the prevalence of allergy found to this legume in these two countries, the incidence being higher in the U.S.<sup>4</sup>.

There is a high immunological cross-reactivity seen among the different legume foods, influenced by eating habits, but with little consensus as to its clinical importance. Studies undertaken in an Anglo-Saxon population point to an immunological reactivity with low clinical significance, unlike the findings in a Spanish population, with a higher legume consumption<sup>5,6</sup>. Although the majority of patients present positive skin tests to multiple legumes, the suppression of all legumes from their diet is impractical<sup>5</sup>. Sicherer<sup>7</sup> states that an individual with a legume allergy has an approximate 5% risk of developing an adverse reaction to a second species. Some

minosas não está indicada, ainda que a maioria dos doentes apresente testes cutâneos positivos a múltiplas leguminosas<sup>5</sup>. Segundo Sicherer um indivíduo com alergia alimentar a uma leguminosa tem um risco aproximado de 5%<sup>7</sup> de aparecimento de reacção adversa a uma segunda espécie.

Alguns autores descrevem reactividade cruzada entre as diferentes leguminosas e entre leguminosas e outros vegetais, devido a semelhanças biológicas e antigénicas entre as diferentes famílias taxonómicas<sup>3,8</sup>. Num estudo realizado com o intuito de determinar a prevalência da sensibilização ao tremço, numa população de 1160 indivíduos da região Sul de Portugal, seguidos em consulta de imunoalergologia, encontrou-se uma elevada taxa de cossensibilização entre o tremço e outras leguminosas (75%) e entre o tremço e pólenes (82%)<sup>9</sup>. As leguminosas possuem múltiplos alérgenos, mas poucos estão sequenciados e bem caracterizados. Sabe-se que alguns possuem características termostáveis, induzindo até sintomas respiratórios através do vapor de cozedura<sup>2</sup>, enquanto outros são resistentes ao ácido gástrico<sup>2</sup>.

Os estudos por *immunoblotting* possuem um papel importante na identificação das proteínas alérgicas envolvidas. Proteínas de reserva das sementes, como as vicilinas, são consideradas como umas das responsáveis pela alergenidade das leguminosas. Sanchez-Monge R *et al* efectuaram um estudo em que 50% dos soros de indivíduos alérgicos a ervilha reconheceram por *immunoblotting* proteínas com peso molecular aproximado de 63kDa, 44kDa e 32kDa, que podem corresponder, respectivamente, a convicilina, vicilina e subunidades proteolíticas da vicilina. Foram encontradas também em 20% dos indivíduos proteínas com pesos moleculares correspondentes a outras subunidades proteolíticas da vicilina, como: 36kDa, 16kDa e 13kDa<sup>10</sup>. Um estudo recente encontrou que 50% dos indivíduos alérgicos a leguminosas detectavam proteínas de peso molecular de 50kDa em estudos por *immunoblotting* com extractos de lentilhas, grão-de-bico e ervilha<sup>11</sup>. Actualmente, as proteínas descritas nas diferentes leguminosas são: no feijão a PR-10 (16 a 18kDa)<sup>12</sup>; na soja Gly m<sub>1</sub> – proteínas hidrofóbicas (7kDa), Gly m<sub>2</sub> – defensina (8kDa), Gly m<sub>3</sub> – profilina (14kDa), Gly m<sub>4</sub> – PR-10 (17kDa), Gly m<sub>5</sub> – β–conglycinina (vicilina)

authors describe cross-reactivity among different legumes and between legumes and other vegetables, due to the biological and antigenic similarities shared by the different taxonomic families<sup>3,8</sup>. High rates of co-sensitisation between lupini bean and other legumes (75%) and lupini bean and pollen (82.1%) were found in a study performed to assess lupini bean sensitisation prevalence in a population of 1160 subjects from the south of Portugal, under allergology specialist care<sup>9</sup>. Legumes contain multiple allergens, but few are sequenced and well characterised. It is known that some are thermostable, inducing respiratory symptoms through cooking steam<sup>2</sup> and others are resistant to gastric acid<sup>2</sup>.

Immunoblotting assays play an important role in identifying the allergenic proteins involved. Seed storage proteins, such as vicilins, are considered to be one of the main culprits for legume allergenicity. In the Sanchez-Monge *et al.* study<sup>10</sup>, immunoblotting assays showed proteins with an approximate molecular weight of 63kDa, 44kDa and 32kDa in 50% of the sera of pea-allergic individuals, which could correspond to convicilin, vicilin and proteolytic subunits of vicilin, respectively. Additional proteolytic subunits of vicilin (36kDa, 16kDa and 13kDa) were found in 20% of the sera. A recent study detected proteins with a molecular weight of 50kDa in immunoblot inhibition assays with lentil, chickpea and pea extracts in 50% of legume-allergic individuals<sup>11</sup>. Proteins currently described in different legumes are as follows: in bean, PR-10 (16 – 18kDa)<sup>12</sup>; in soya bean, Gly m<sub>1</sub> – hydrophobic proteins (7kDa), Gly m<sub>2</sub> – defensin (8kDa), Gly m<sub>3</sub> – profilin (14kDa), Gly m<sub>4</sub> – PR-10 (17kDa), Gly m<sub>5</sub> – β–conglycinin (vicilin) (60kDa), Gly m<sub>6</sub> – glycinin (28kDa) and thiol protease (30kDa); in peanut, Ara h<sub>1</sub> – vicilin (64kDa), Ara h<sub>2</sub> – conglutin (17kDa), Ara h<sub>3</sub> and Ara h<sub>4</sub> – glycinins (37 and 60kDa), Ara h<sub>5</sub> – profilin (15kDa), Ara h<sub>6</sub> and Ara h<sub>7</sub> – conglutins (15kDa), Ara h<sub>8</sub> – PR-10 (17kDa), Ara h<sub>9</sub> – non-specific lipid-transfer protein

(60kDa); Gly m<sub>6</sub> – glicinina (28kDa) e a tiolprotease (30kDa); no amendoim a Ara h<sub>1</sub> – vicilina (64kDa), Ara h<sub>2</sub> – conglutina (17kDa), Ara h<sub>3</sub> e Ara h<sub>4</sub> – glicininas (37 e 60kDa), Ara h<sub>5</sub> – profilina (15kDa), Ara h<sub>6</sub> e Ara h<sub>7</sub> – conglutininas (15kDa), Ara h<sub>8</sub> – PR-10 (17kDa), Ara h<sub>9</sub> – LTP não específica (9,8kDa), Ara h<sub>10</sub> e Ara h<sub>11</sub> – oleosinas (14 e 16kDa) e na ervilha Pis s<sub>1</sub> – vicilina (44kDa) e Pis s<sub>2</sub> – convicilina (63kDa)<sup>13</sup>.

A prevalência de alergia a vegetais/legumes estimada numa meta-análise realizada por Zuidmeer *et al* situa-se entre 0,1 a 1,4%<sup>14</sup>. A sensibilização inferida através da realização de testes cutâneos situou-se abaixo de 1%. Quando considerado o doseamento de IgE específica para a soja, o valor de sensibilização passou a ser de 2,9%. Nas frutas e vegetais a correlação entre a percepção dos sintomas e a alergia alimentar foi superior, comparada com resultados baseados na sensibilização<sup>14</sup>.

Em Portugal escasseiam estudos que caracterizem esta alergia; no entanto, em Espanha, país com grandes semelhanças com o nosso no que diz respeito à agricultura e hábitos alimentares, encontram-se desde idades precoces casos frequentes de alergia a lentilhas e ao grão-de-bico<sup>5</sup>.

As manifestações clínicas são semelhantes entre as leguminosas e variam desde a síndrome de alergia oral, a urticária e o angioedema, sintomas digestivos, sintomas respiratórios como rinite e asma, até à anafilaxia. As mais frequentemente reportadas são a síndrome de alergia oral e a urticária<sup>3</sup>.

Pretendeu-se com este estudo fazer uma caracterização clínica e laboratorial de doentes de uma população da região centro de Portugal, sensibilizados a leguminosas e com manifestações clínicas após ingestão de pelo menos uma leguminosa.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados consecutivamente doentes seguidos na consulta de alergia alimentar durante o ano de 2006, com reacções adversas após a ingestão de pelo menos um alimento da família das leguminosas. De um total de 91 doentes observados foram seleccionados treze. O questionário clínico realizado dirigido para a suspeita de alergia

(9,8kDa), Ara h<sub>10</sub> and Ara h<sub>11</sub> – oleosins (14 and 16kDa; and in pea, Pis s<sub>1</sub> – vicilin (44kDa) and Pis s<sub>2</sub> – convicilin (63kDa)<sup>13</sup>.

The prevalence of vegetable/legume allergy estimated in a meta-analysis performed by Zuidmeer *et al.*<sup>14</sup> ranged from 0.1% to 1.4%. Sensitisation inferred from skin tests was under 1%. Serum specific IgE to soya bean put the sensitisation rate at 2.9%. The correlation between perception of symptoms and food allergy was higher for fruit and vegetables than the results based on sensitisation<sup>14</sup>. There are few Portuguese studies on this allergy. In Spain, however, a country very similar to Portugal in terms of agriculture and dietary habits, lentil and chickpea allergy cases are frequently found from early childhood onwards<sup>5</sup>. Clinical manifestations are similar across the legume spectrum and range from oral allergy syndrome, urticaria and angioedema, digestive symptoms and respiratory symptoms such as rhinitis, asthma and even anaphylaxis. The most frequently reported are oral allergy syndrome and urticaria<sup>3</sup>.

We aimed to carry out a clinical and laboratory characterisation of a legume-sensitised Portuguese patient population who had symptoms after the ingestion of at least one food from the *leguminosae* botanical family.

## MATERIAL AND METHODS

We selected 13 from a total of 91 consecutive patients, from a food allergy outpatient clinic, with allergy symptoms after legume ingestion during the year of 2006. The clinical questionnaire applied focused particularly on age at onset of first symptoms, clinical manifestations after ingestion of the legume in question, the first culprit legume involved, the presence of one or more legumes able to trigger symptoms, sensitisations to aeroallergens, particularly pollens and, finally, sensitisation to other foods.

alimentar focalizou-se, particularmente, na idade de início dos primeiros sintomas; nas manifestações clínicas após ingestão da leguminosa responsável; primeira leguminosa envolvida; presença de uma ou mais leguminosas capazes de desencadear sintomas; sensibilização a aeroalergénios, particularmente pólenes; e, finalmente, sensibilização a outros alimentos.

Foram efectuados testes cutâneos por picada com extractos comerciais (ALK-Abelló®) de: feijão-branco, feijão-verde, grão-de-bico, ervilha, soja e amendoim. Foram também realizados testes cutâneos *prick-prick* às leguminosas feijão-branco, feijão-verde, feijão-frade, grão-de-bico, ervilha, soja, tremoço e amendoim, em natureza e cozinhadas a vapor durante 10 minutos. Os testes cutâneos por picada com extractos comerciais de feijão-frade e tremoço não foram executados por não estarem disponíveis os respectivos extractos. Utilizaram-se respectivamente como controlo positivo o dihidrocloridrato de histamina (10 mg/ml) e como negativo uma solução glicero-salina. Os testes foram lidos ao fim de 15 minutos da execução e considerados positivos quando a pápula formada era 3 mm acima do controlo negativo<sup>15</sup>. O estudo complementar destes doentes consistiu também na execução de testes cutâneos por picada a aeroalergénios da bateria GA-LEN<sup>2</sup> e com extractos comerciais (ALK-Abelló®) de outras famílias de alimentos: frutos frescos, frutos secos, verduras/hortícolas<sup>16</sup>.

Efectuou-se o doseamento de IgE específica através de *immunoCAP* (Phadia®) a feijão branco, tremoço, grão-de-bico, soja, ervilha e amendoim. Realizaram-se estudos de *immunoblotting* (DPC-Amerlab® Siemens-Diagnostics) a feijão-branco, ervilha, grão-de-bico, grão de soja e amendoim. Registaram-se os pesos moleculares identificados por bandas no *immunoblotting* e compararam-se com proteínas destas leguminosas já identificadas e com potencial alergénico. Foram considerados positivos resultados de IgE específica superiores a 0,35 kU<sub>A</sub>/L no estudo por *immunoCAP* e a presença de pelo menos uma banda claramente identificada no estudo por *immunoblotting*.

We performed skin prick tests (SPT) with commercial extracts (ALK-Abelló®) to white bean, green bean, chickpea, pea, soya bean and peanut. We also performed prick-prick (PP) tests to these legumes, and to black-eyed beans and lupini bean, both raw and steam-cooked for 10 minutes. SPT to commercial extracts of black-eyed beans and lupini beans were not performed, as these extracts were not available. We used 10 mg/ml of histamine dihydrochloridate as positive control and glycerol-saline solution as negative control. Tests were read after 15 minutes and considered positive when the wheal formed was 3 mm larger than the negative control<sup>15</sup>. Patients' work-up also included SPT to GA-LEN<sup>2</sup> aeroallergens battery and to commercial extracts (ALK-Abelló®) of other food families: fruit, nuts and greens<sup>16</sup>.

Serum specific IgE using immunoCAP (Phadia®) assay to white bean, lupini bean, chickpea, soya bean, pea and peanut were performed, as were immunoblotting assays (DPC-Amerlab® Siemens-Diagnostics) to white bean, pea, chickpea, soya bean and peanut. We recorded the molecular weights identified by bands in the immunoblotting assays and compared them with the proteins of the legumes identified and with allergenic potential. Serum specific IgE results over 0.35 kU<sub>A</sub>/L in the immunoCAP study and the presence of at least one clearly identified band in the immunoblotting assays were considered positive.

## RESULTS

Table I shows the population's demographic profile, clinical characterisation related to legume ingestion and sensitisation to aeroallergens or other food groups.

The mean age of patients was 47 ± 14 years old, and 11 were female. On average, the onset of legume-ingestion symptoms was 13 years prior. Four patients

## RESULTADOS

Os dados demográficos da população, a caracterização clínica relacionada com ingestão de leguminosas e a sensibilização a aeroalergénios ou a outros grupos alimentares estão descritos no Quadro I.

reported chickpea, four reported bean (2 white, 1 kidney and 1 green) and 3 lupini bean as the first culprit legume. Only patients D<sub>3</sub> and D<sub>13</sub> reported symptoms with the steam from boiling legumes –D<sub>3</sub> to chickpea and pea and D<sub>13</sub> to chickpea and white bean. Six patients reported symptoms with ingestion of only one legume

**Quadro I.** Dados demográficos e características clínicas da população estudada

	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	D <sub>7</sub>	D <sub>8</sub>	D <sub>9</sub>	D <sub>10</sub>	D <sub>11</sub>	D <sub>12</sub>	D <sub>13</sub>
Sexo	F	M	F	F	F	M	F	F	F	F	F	F	F
Idade	61	55	32	19	54	46	40	46	55	48	33	52	73
Idade início sintomas	50	29	28	12	51	30	37	36	45	44	20	38	32
1.ª leguminosa	Fj	G	G	Fj	Fj	S	E	G	T	Fj	T	T	G
Manifestações clínicas	U	U+A	As+SAO	Anaf	U+A	Anaf	U	U+SAO	Anaf	As	SAO	A+SAO	As+RC
Manifestações com inalação vapor cozedura	N	N	S	N	N	N	N	N	N	N	N	N	S
Sintomas com outras leguminosas	N	S	S	S	S	N	N	S	N	N	S	N	S
Sensibilização aeroalergénios/ pólenes	S/S	S/N	S/S	N	N	S/S	S/N	N	S/N	N	S/N	S/S	S/S
Sensibilização outros alimentos	N	S	S	S	N	S	S	S	S	S	S	S	N

**Legenda:** D<sub>1</sub>-D<sub>13</sub>: Doentes 1 a 13; **F:** feminino; **M:** masculino; **Fj:** feijão; **E:** ervilha; **S:** soja; **A:** amendoim; **G:** grão-de-bico; **T:** tremçoço; **SAO:** síndrome de alergia oral; **U:** urticária; **A:** angioedema; **RC:** rinoconjuntivite; **As:** asma; **Anaf:** anafilaxia; **S:** sim; **N:** não.

**Table 1.** Study population demographic profile and clinical characteristics

	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	D <sub>7</sub>	D <sub>8</sub>	D <sub>9</sub>	D <sub>10</sub>	D <sub>11</sub>	D <sub>12</sub>	D <sub>13</sub>
Gender	F	M	F	F	F	M	F	F	F	F	F	F	F
Age	61	55	32	19	54	46	40	46	55	48	33	52	73
Age at symptom onset	50	29	28	12	51	30	37	36	45	44	20	38	32
1 <sup>st</sup> legume	Fj	G	G	Fj	Fj	S	E	G	T	Fj	T	T	G
Clinical manifestations	U	U+A	As+SAO	Anaf	U+A	Anaf	U	U+SAO	Anaf	As	SAO	A+SAO	As+RC
Manifestations on inhalation of steam from boiling	N	N	S	N	N	N	N	N	N	N	N	N	S
Symptoms with other legumes	N	S	S	S	S	N	N	S	N	N	S	N	S
Aeroallergen/ pollen sensitisation	S/S	S/N	S/S	N	N	S/S	S/N	N	S/N	N	S/N	S/S	S/S
Sensitisation to other foods	N	S	S	S	N	S	S	S	S	S	S	S	N

**Legend:** D<sub>1</sub>-D<sub>13</sub>: patients 1 – 13; **F:** female; **M:** male; **Fj:** bean; **E:** pea; **S:** soya bean; **A:** peanut; **G:** chickpea; **T:** lupini bean; **SAO:** oral allergy syndrome; **U:** urticaria; **A:** angioedema; **RC:** rhinoconjunctivitis; **As:** asthma; **Anaf:** anaphylaxis; **S:** yes; **N:** no

A média de idade dos doentes (11 do sexo feminino) foi de  $47 \pm 14$  anos, sendo que os sintomas relacionados com a ingestão de leguminosas começaram 13 anos antes, em média. O grão-de-bico e o feijão (branco em 2 doentes, vermelho e verde em 1 cada) foram reportados em 4 doentes cada e o tremçoço em 3 doentes como sendo a primeira leguminosa a desencadear sintomas. Apenas os doentes D<sub>3</sub> e D<sub>13</sub> referiram sintomas com o vapor de cozedura das leguminosas, o primeiro especificamente para o grão-de-bico e a ervilha e o segundo para o grão-de-bico e o feijão-branco. Seis doentes descreveram sintomas com ingestão apenas de uma leguminosa (2 para o tremçoço, 2 para o feijão – vermelho e verde, 1 para a soja e 1 para a ervilha), mas apresentavam sensibilização a outras. Apenas um doente (D<sub>7</sub>) apresentava queixas e estava sensibilizado só a uma leguminosa (ervilha). Os doentes D<sub>4</sub>, D<sub>6</sub>,

(2 to lupini bean, 2 to bean, kidney and green bean, 1 to soya bean and 1 to pea), but were sensitised to other legumes. Only one patient (D<sub>7</sub>) reported symptoms and was sensitised to one legume only (pea). Patients D<sub>4</sub>, D<sub>6</sub> and D<sub>9</sub> reported anaphylactic reactions: D<sub>4</sub> after ingestion of white bean, D<sub>6</sub> to soya bean and D<sub>9</sub> to lupini bean. Asthma attacks were triggered by ingestion of chickpea in patients D<sub>3</sub> and D<sub>13</sub> and on ingestion of kidney bean in D<sub>10</sub>. The remaining patients experienced mucocutaneous manifestations of oral allergy syndrome, urticaria and/or angioedema. Only two patients reported symptoms with peanut ingestion and always associated to other legumes whose ingestion triggered symptoms. Patient D<sub>2</sub> reported labial and oropharyngeal pruritus associated to widespread urticaria and

**Quadro 2.** Resultados dos testes cutâneos (diâmetro médio da pápula em milímetros) por picada com extracto comercial e *prick-prick* com leguminosas em natureza e cozinhadas.

	Feijão branco			Feijão frade		Tremçoço		Grão-de-bico			Soja			Ervilha			Amendoim			Feijão-verde		
	TCP	PPn	PPc	PPn	PPc	PPn	PPc	TCP	PPn	PPc	TCP	PPn	PPc	TCP	PPn	PPc	TCP	PPn	PPc	TCP	PPn	PPc
D <sub>1</sub>	4	6	4	3	3	NR	NR	5	3	4	5	0	0	4	0	0	NR	5	3	7	6	0
D <sub>2</sub>	0	4	5	4	0	6	0	3	4	4	NR	NR	5	4	4	4	5	NR	4	0	4	0
D <sub>3</sub>	5	3	6	5	5	9	7	8	10	10	4	NR	4	15	8	10	5	5	6	7	9	4
D <sub>4</sub>	6	NR	NR	NR	NR	NR	NR	10	NR	NR	5	NR	NR	4	NR	NR	6	6	NR	0	NR	NR
D <sub>5</sub>	8	10	8	0	8	15	4	9	13	14	6	0	9	9	9	10	0	0	4	NR	10	4
D <sub>6</sub>	7	11	11	10	7	4	4	6	12	6	12	6	4	5	0	0	7	8	8	NR	13	13
D <sub>7</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	25	30	0	0	0	0	0	0
D <sub>8</sub>	7	16	7	9	9	14	18	10	10	9	12	NR	11	9	13	0	6	6	5	NR	5	6
D <sub>9</sub>	5	3	7	5	5	17	10	7	8	5	4	NR	6	4	7	7	4	0	7	NR	7	10
D <sub>10</sub>	4	3	5	3	3	4	4	0	5	0	0	0	0	3	3	0	4	0	0	0	0	0
D <sub>11</sub>	4	4	5	3	7	7	5	3	15	4	NR	0	0	3	0	0	0	0	0	NR	NR	NR
D <sub>12</sub>	0	3	0	NR	NR	17	8	0	0	0	0	4	4	3	4	0	0	0	0	NR	NR	NR
D <sub>13</sub>	0	10	13	NR	NR	5	9	0	6	8	0	24	4	0	9	8	NR	5	7	NR	NR	NR

**Legenda:** D<sub>1</sub>-D<sub>13</sub>: doentes 1 a 13; **TCP:** testes cutâneos por picada; **PPn:** testes cutâneos *prick-prick* alimentos em natureza; **PPc:** testes cutâneos *prick-prick* alimentos cozinhados; **NR:** não realizado.

**Nota:** Não foram realizados TCP com extractos comerciais de feijão-frade e tremçoço por não estarem disponíveis.



D<sub>9</sub> descreveram reacções anafiláticas: D<sub>4</sub> após a ingestão de feijão-branco, D<sub>6</sub> de soja e D<sub>9</sub> de tremço. Crises de asma foram desencadeadas após ingestão de grão-de-bico nos doentes D<sub>3</sub> e D<sub>13</sub> e após ingestão de feijão-vermelho no D<sub>10</sub>. Os restantes apresentaram manifestações mucocutâneas: síndrome de alergia oral, urticária e/ou angioedema. Apenas dois doentes referiram queixas após a ingestão de amendoim e sempre associado a outras leguminosas cuja ingestão desencadeava sintomas. O D<sub>2</sub> reportava prurido labial e orofaríngeo quando ingeria amendoim, associado a urticária generalizada e angioedema palpebral, e o D<sub>13</sub> sintomas gastrointestinais (vómitos e diarreia) associados a angioedema periorcular e orofaríngeo.

Destes doentes estudados, seguidos em consulta de alergia alimentar, 61% tinham história pessoal de atopia: 7% asma, 31% asma e rinite, 7% asma e rinoconjuntivite e

palpebral angioedema on ingestion of peanut and patient D<sub>13</sub> experienced gastro-intestinal symptoms (vomiting and diarrhoea) associated to periorcular and oropharyngeal angioedema.

Sixty-one per cent of these patients had a personal history of atopy: 7% had asthma, 31% asthma and rhinitis, 7% asthma and rhinoconjunctivitis and 15% rhinoconjunctivitis. None had a family history of allergy. Sixty-nine per cent were sensitised to aeroallergens, of which 38% to grass pollen (D<sub>1</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>6</sub>, D<sub>12</sub>, D<sub>13</sub>). The majority (77%) were sensitised to at least one other food of a different food group, such as fruit, nuts or greens. The most frequently co-sensitisation found was to nuts (64%).

Table 2 shows the results of the SPT with commercial extracts and the PP to the foodstuffs described above,

**Table 2.** Results of the SPT (mean wheal diameter in mm) to commercial extract and the PP to raw and boiled foods

	White bean			Black-eyed bean		Lupini bean		Chickpea			Soya bean			Pea			Peanut			Green bean		
	TCP	PPn	PPc	PPn	PPc	PPn	PPc	TCP	PPn	PPc	TCP	PPn	PPc	TCP	PPn	PPc	TCP	PPn	PPc	TCP	PPn	PPc
D <sub>1</sub>	4	6	4	3	3	NR	NR	5	3	4	5	0	0	4	0	0	NR	5	3	7	6	0
D <sub>2</sub>	0	4	5	4	0	6	0	3	4	4	NR	NR	5	4	4	4	5	NR	4	0	4	0
D <sub>3</sub>	5	3	6	5	5	9	7	8	10	10	4	NR	4	15	8	10	5	5	6	7	9	4
D <sub>4</sub>	6	NR	NR	NR	NR	NR	NR	10	NR	NR	5	NR	NR	4	NR	NR	6	6	NR	0	NR	NR
D <sub>5</sub>	8	10	8	0	8	15	4	9	13	14	6	0	9	9	9	10	0	0	4	NR	10	4
D <sub>6</sub>	7	11	11	10	7	4	4	6	12	6	12	6	4	5	0	0	7	8	8	NR	13	13
D <sub>7</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	25	30	0	0	0	0	0	0
D <sub>8</sub>	7	16	7	9	9	14	18	10	10	9	12	NR	11	9	13	0	6	6	5	NR	5	6
D <sub>9</sub>	5	3	7	5	5	17	10	7	8	5	4	NR	6	4	7	7	4	0	7	NR	7	10
D <sub>10</sub>	4	3	5	3	3	4	4	0	5	0	0	0	0	3	3	0	4	0	0	0	0	0
D <sub>11</sub>	4	4	5	3	7	7	5	3	15	4	NR	0	0	3	0	0	0	0	0	NR	NR	NR
D <sub>12</sub>	0	3	0	NR	NR	17	8	0	0	0	0	4	4	3	4	0	0	0	0	NR	NR	NR
D <sub>13</sub>	0	10	13	NR	NR	5	9	0	6	8	0	24	4	0	9	8	NR	5	7	NR	NR	NR

**Legend:** D<sub>1</sub>-D<sub>13</sub>: patients 1 - 13; **TCP:** skin prick tests; **PPn:** prick-prick tests to raw food; **PPc:** prick-prick tests to boiled food; **NR:** not performed.

**Note:** Skin prick tests to commercial black-eyed bean and lupini bean extracts were not performed due to unavailability of these extracts.

15% rinoconjuntivite. Não havia nenhum registo de história familiar de patologia alérgica.

Estavam sensibilizados a aeroalergénios 69% dos doentes, dos quais 38% a pólenes de gramíneas ( $D_1$ ,  $D_3$ ,  $D_6$ ,  $D_{12}$ ,  $D_{13}$ ). A maioria (77%) estava sensibilizado a pelo menos outro alimento de uma família diferente, como: frutos frescos, frutos secos, verduras/hortícolas. A cossensibilização mais frequentemente encontrada foi a frutos secos (64%).

Os resultados dos testes cutâneos por picada (TCP) com extractos comerciais e *prick-prick* (PP) aos alimentos descritos, por doente, são apresentados no Quadro 2.

Considerando o número total de testes positivos, a sensibilização inferida através da realização de testes cutâneos, na população estudada, foi para o feijão-branco e para o grão-de-bico superior com os testes cutâneos *prick-prick* com o alimento em natureza cru (92% e 83%) e cozinhado (83% e 75%), comparativamente à sensibilização obtida com os testes cutâneos por picada com extracto comercial (69%). Em relação à soja e ao amendoim, a sensibilização estimada foi muito semelhante com qualquer um dos testes (64% nos TCP com extractos comerciais, 38% com a soja crua e 50% com o amendoim cru e 67% nos PP com as leguminosas anteriores cozinhadas). O valor de sensibilização obtido com o extracto comercial de ervilha (92%) em relação ao teste realizado com o alimento cru (75%) ou cozinhado (50%) foi francamente superior. No que respeita ao feijão-frade o valor de sensibilização foi igual para o teste PP realizado com o feijão cru e cozinhado (56%), mas para o tremço e para o feijão-verde a sensibilização inferida foi superior quando o teste foi realizado com o alimento cru (91% e 78%) em relação ao cozinhado (81% e 56%).

Os doentes com queixas após a ingestão de feijão-branco, feijão-frade, feijão-verde, grão-de-bico, tremço, soja, ervilha e amendoim apresentaram critérios de positividade na leitura dos TCP com extractos comerciais (quando disponíveis) e dos PP com os alimentos no estado cru e cozinhado. A excepção foi a  $D_{13}$ , que para o feijão-branco, o grão-de-bico e o amendoim apenas demonstrou positividade nos testes PP.

patient by patient. Considering the total number of positive tests, the sensitisation inferred in the study population through skin tests was higher to white bean and chickpea using PP with the raw (92% and 83%) and cooked (83% and 75%) substance than the sensitisation obtained using SPT with the commercial extract (69%). The estimated sensitisation to soya bean and peanut was similar using both tests (64% in SPT with commercial extracts, 38% with raw soya bean and 50% with raw peanut and 67% in the PP with these legumes in cooked form). The sensitisation value obtained with commercial pea extract (92%) was markedly higher than to the raw (75%) or cooked (50%) foods. Sensitisation to black-eyed bean was the same in the PP test to raw and cooked bean (56%). Inferred sensitisation to lupini bean and green bean, however, was greater using the raw (91% and 78%) than the cooked (81% and 56%) foods.

Patients with symptoms after ingestion of white bean, black-eyed bean, green bean, chickpea, lupini bean, soya bean, pea and peanut had positive SPT to commercial extracts (when available) and PP tests to raw and cooked foods. The only exception was patient  $D_{13}$ , who was positive to white bean, chickpea and peanut in PP tests only. Positive skin tests were found in the great majority of individuals studied without any suspected food allergy to specific legumes. SPT with commercial extracts showed a positive reaction varying from 33% to white bean to 100% for pea. Using raw foods we obtained positive reactions ranging between 17% to soya bean and 80% to lupini bean. Using cooked foodstuffs we obtained positive reactions ranging between 33% to pea and 67% to white bean, black-eyed bean, green bean and soya bean.

Whenever possible we performed serum specific IgE assays for white bean, lupini bean, chickpea, soya bean, pea and peanut. The majority of patients with suspected legume allergy had low or negative serum specific IgE levels. Higher levels (31.1 and 47.5  $kU_A/L$ ) were only found for soya bean. Table 3 shows the per-

**Quadro 3.** Valores de IgE específica (kUA/L) do feijão branco, grão-de-bico, ervilha, tremçoço, amendoim e soja

Doentes	Feijão branco	Grão-de-bico	Ervilha	Tremoçoço	Amendoim	Soja
D <sub>1</sub>	<0,35		<0,35			<0,35
D <sub>2</sub>	0,61		<0,35		7,4	0,51
D <sub>3</sub>	1,12		18,9		7,08	
D <sub>4</sub>			4,32			4,16
D <sub>5</sub>	6,9				3,4	8,5
D <sub>6</sub>	<0,35	<0,35	<0,35			<0,35
D <sub>7</sub>	<0,35		<0,35		5,8	<0,35
D <sub>8</sub>					<0,35	47,5
D <sub>9</sub>	<0,35	<0,35	<0,35	4,87	<0,35	<0,35
D <sub>10</sub>	<0,35	<0,35	<0,35	<0,35		
D <sub>11</sub>	<0,35	<0,35		<0,35		<0,35
D <sub>12</sub>	<0,35			0,42		
D <sub>13</sub>	13,2	7,77	5,4	1,34	4,72	31,1

**Nota:** As células a cinzento correspondem a doseamentos de IgE específica não realizados

**Table 3.** Serum specific IgE values (kUA/L) of white bean, chickpea, pea, lupini bean, peanut and soya bean

Patients	White bean	Chickpea	Pea	Lupini bean	Peanut	Soya bean
D <sub>1</sub>	<0.35		<0.35			<0.35
D <sub>2</sub>	0.61		<0.35		7.4	0.51
D <sub>3</sub>	1.12		18.9		7.08	
D <sub>4</sub>			4.32			4.16
D <sub>5</sub>	6.9				3.4	8.5
D <sub>6</sub>	<0.35	<0.35	<0.35			<0.35
D <sub>7</sub>	<0.35		<0.35		5.8	<0.35
D <sub>8</sub>					<0.35	47.5
D <sub>9</sub>	<0.35	<0.35	<0.35	4.87	<0.35	<0.35
D <sub>10</sub>	<0.35	<0.35	<0.35	<0.35		
D <sub>11</sub>	<0.35	<0.35		<0.35		<0.35
D <sub>12</sub>	<0.35			0.42		
D <sub>13</sub>	13.2	7.77	5.4	1.34	4.72	31.1

**Note:** Grey cells refer to serum specific IgE measurements not performed

Entre os indivíduos estudados sem suspeita de alergia alimentar a uma determinada leguminosa, foi encontrada positividade nos testes cutâneos numa grande maioria dos casos. Nos TCP com extractos comerciais, a percentagem de positividade variou entre 33% para o feijão-branco e 100% para a ervilha. Quando utilizados os alimentos em natureza na forma crua, encontramos positividade entre 17% para a soja e 80% para o tremoço, e com os alimentos na forma cozinhada entre 33% para a ervilha e 67% para o feijão-branco, feijão-frade, feijão-verde e soja.

Neste estudo, sempre que possível foram realizados doseamentos de IgE específica para feijão-branco, tremoço, grão-de-bico, grão de soja, ervilha e amendoim. A maioria dos indivíduos com suspeita de alergia a leguminosas apresentou baixos ou negativos valores no doseamento de IgE específica. Apenas para o grão de soja se identificaram valores mais elevados (31,1 e 47,5 kU<sub>A</sub>/L). A percentagem de positividade encontrada para as respectivas leguminosas foi a seguinte: feijão-branco – 36%; tremoço – 60%, grão-de-bico – 20%; grão de soja – 50%, ervilha – 33% e amendoim – 71% e os respectivos valores podem ser observados no Quadro 3. Os doentes com queixas de anafilaxia apresentaram valores inferiores a 4,8 kU<sub>A</sub>/L à leguminosa correspondente. Não foi por isso possível estabelecer uma correspondência entre valores de IgE específica mais elevados e aparecimento de sintomas mais graves.

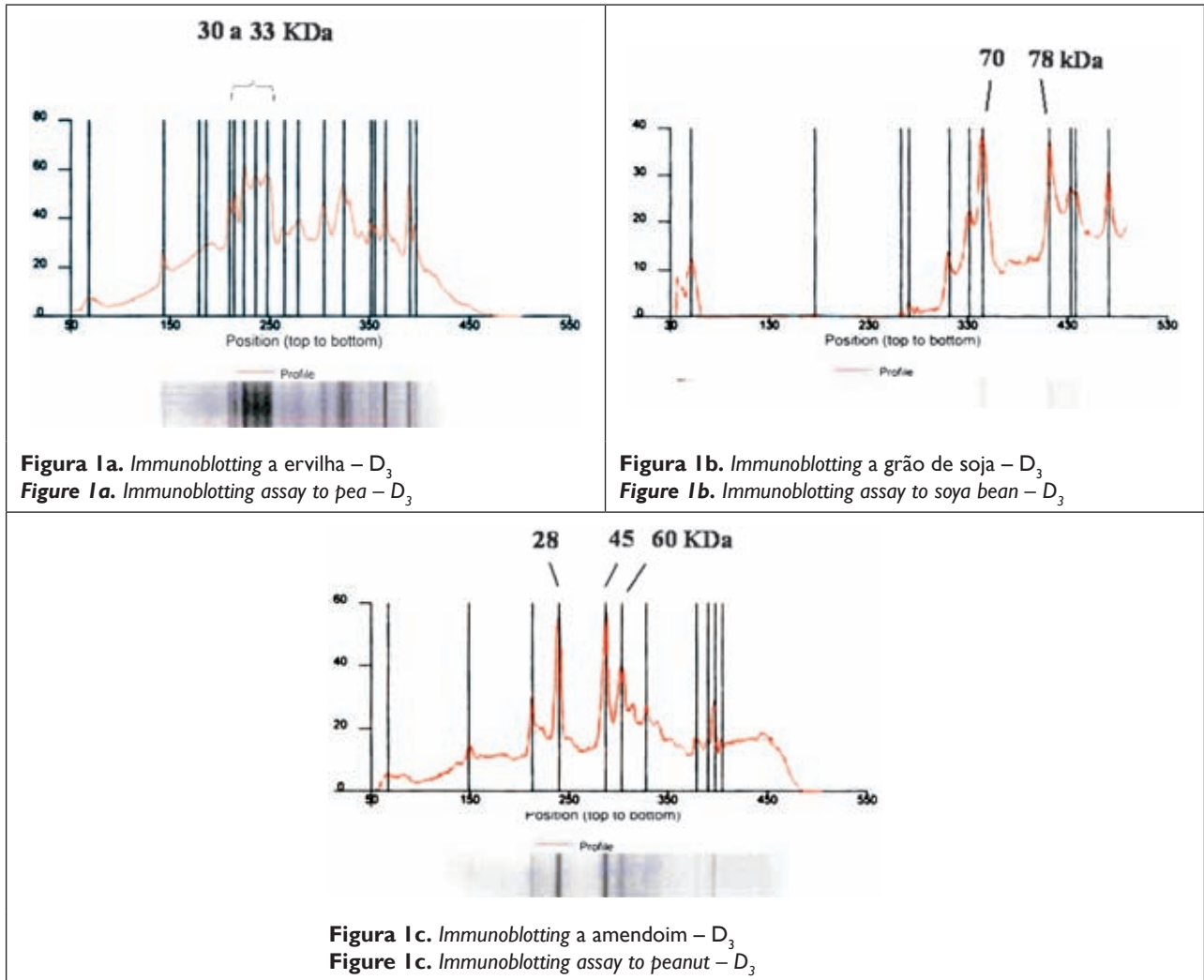
Dado que todos os indivíduos apresentaram testes cutâneos (realizados com extractos comerciais ou com o alimento em natureza) positivos às leguminosas para as quais reportavam a presença de sintomas após a ingestão, a determinação de IgE específica não mostrou grande vantagem no diagnóstico em relação à execução de testes cutâneos.

Estudos de *immunoblotting* identificaram proteínas com peso molecular semelhante (30 a 33kDa) entre as diferentes espécies de legumes. Esses pesos moleculares podem corresponder a proteínas de reserva, como as glicininas ou a subunidades proteolíticas da vicilina. No caso da ervilha foram identificadas bandas com pesos moleculares correspondentes a 41kDa (D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>), 52kDa (D<sub>5</sub>) e 60kDa (D<sub>3</sub>) (Figura 1a) com maior intensidade de ligação e que podem corresponder a

percentages found for legume positivity: white bean – 36%, lupini bean – 60%, chickpea – 20%, soya bean – 50%, pea – 33% and peanut – 71%. Patients with anaphylaxis had levels below 4.8 kU<sub>A</sub>/L to the legume in question. It was not possible to establish a relationship between higher serum specific IgE levels and the onset of more severe symptoms.

Since all patients had positive skin tests (to commercial extracts or the foods to which symptoms were reported after ingestion) measuring serum specific IgE did not show any diagnostic advantage compared to skin tests.

Immunoblotting assays identified proteins among the legume species with a similar molecular weight (30 – 33kDa). These molecular weights may correspond to storage proteins, such as glicinin or vicilin proteolytic subunits. With respect to peas, we identified, with greater binding intensity, protein bands with molecular weights of 41kDa (D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub>), 52kDa (D<sub>5</sub>) and 60kDa (D<sub>3</sub>) (Figure 1a), which could correspond to vicilin and convicilin. Bands with approximate molecular weights of 17, 23 and 30kDa were identified in patient D<sub>7</sub>, who had symptoms only on pea ingestion. In soya bean the greatest binding intensity was observed in bands with molecular weights of 28kDa (D<sub>2</sub>, D<sub>6</sub> and D<sub>7</sub>), 30kDa (D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> and D<sub>10</sub>), 45kDa (D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> and D<sub>5</sub>) and 60kDa (D<sub>3</sub> and D<sub>5</sub>) (Figure 1b). In the two patients in whom only one band was identified (D<sub>6</sub> and D<sub>7</sub>), this had a molecular weight approximate to 28kDa, which could correspond to glicinin. It is highlighted that it was D<sub>6</sub> who had an anaphylactic crisis after soya bean ingestion. Only two patients (D<sub>3</sub> and D<sub>5</sub>) had peanut-specific IgE-binding bands, with molecular weights of 37, 40, 44, 70 and 78kDa. The remaining immunoblot assays to peanut were negative (Figure 1c). Numerous IgE-binding bands, without any predominant binding pattern, were found in immunoblotting to white bean in almost all patients studied, data also found for chickpea (Figure 2). Patient D<sub>11</sub> was an exception, with no bands identified in the immunoblotting to white bean and two bands with molecular



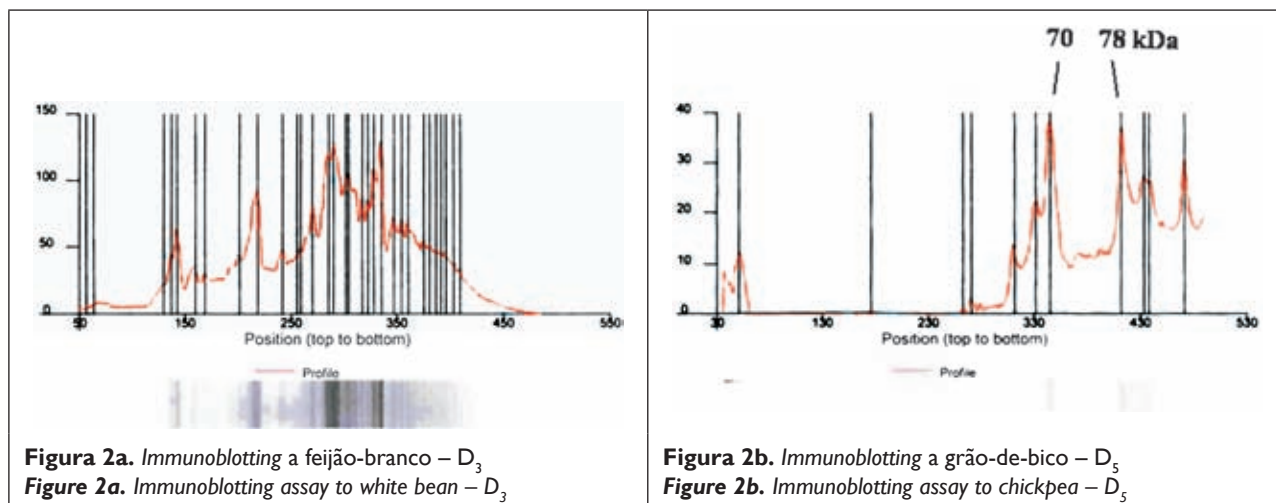
**Figura I.** Padrões de reactividade nos estudos de *immunoblotting* das leguminosas: ervilha, soja e amendoim  
**Figure I.** Reactivity patterns in the *immunoblotting* assays to pea, soya bean and peanut

vicilina e convicilina. Na doente D<sub>7</sub>, com sintomas apenas após a ingestão de ervilha, identificaram-se bandas com peso molecular aproximado de 17, 23 e 30kDa. Na soja foi identificada maior intensidade de ligação a bandas com peso molecular correspondente a 28kDa (D<sub>2</sub>, D<sub>6</sub> e D<sub>7</sub>), 30kDa (D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>10</sub>), 45kDa (D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>5</sub>) e 60kDa (D<sub>3</sub> e D<sub>5</sub>) (Figura Ib). Nos dois doentes em que foi só identificada uma banda (D<sub>6</sub> e D<sub>7</sub>), esta apresentou um peso molecular aproximado de 28kDa, podendo corresponder à glicinina. É de salientar o facto de ter sido

weights approximate to 26kDa – 35 kDa identified in immunoblotting to chickpea.

## DISCUSSION

Legume allergy has been the subject of study in Spain over the past decade. Since Portugal shares many similarities with Spain, in our clinical practice we fre-



**Figura 2.** Padrões de reactividade nos estudos de *Immunoblotting* das leguminosas: feijão branco e grão-de-bico. Numerosas bandas identificadas, padrão sem predomínio de ligação  
**Figure 2.** Reactivity patterns in the immunoblotting assays to white bean and chickpea. Several bands were identified, without any predominant binding pattern.

o D<sub>6</sub> a ter uma crise de anafilaxia com a ingestão de soja. Apenas em dois doentes (D<sub>3</sub> e D<sub>5</sub>) foram identificadas bandas de ligação a IgE específica para o amendoim, com pesos moleculares correspondentes a 37, 40, 44, 70 e 78kDa. Os restantes estudos de *immunoblotting* para o amendoim foram negativos (Figura 1c). Numerosas bandas de ligação a IgE específica, sem qualquer padrão predominante, foram encontradas no *immunoblotting* a feijão-branco em quase todos os doentes estudados, dados também encontrados no grão-de-bico (Figura 2). A doente D<sub>11</sub> constituiu uma excepção, não se identificando nenhuma banda no *immunoblotting* a feijão-branco e identificando-se duas bandas com peso molecular aproximado de 26kDa e 35 kDa no *immunoblotting* a grão-de-bico.

## DISCUSSÃO

Em Espanha a alergia a leguminosas tem merecido grande interesse ao longo da última década. Na nossa prática clínica, dadas as semelhanças entre os dois países, habitualmente recorremos aos trabalhos já realizados em Espanha<sup>2,3,5,11</sup>. No

quently use data from Spanish studies<sup>2,3,5,11</sup>. In order to better understand the reality in Portugal, we carried out a clinical and laboratory characterisation of patients from the central region of Portugal, sensitised to *leguminosae* and who presented symptoms after the ingestion of at least one food from the *leguminosae* botanical family.

The majority of small children with symptoms before the age of 3 years-old acquire tolerance if they are placed on eviction diets, similar to other food allergies such as cow's milk proteins<sup>5</sup>. Consequently, this type of allergy will be less frequently seen in adulthood. On the other hand, there is a greater likelihood of its persistence throughout life if it appears later in life.

We found some differences between our characterisation of a population of legume-sensitised adult patients from the Portuguese central region and previous studies<sup>5,9</sup>. The fact that these were patients from a food allergy outpatient clinic, and legume allergy is normally a long-lasting condition, could explain the significant number of patients seen over a year. Females predomi-

sentido de conhecer melhor a realidade portuguesa, os autores fizeram a caracterização, do ponto de vista clínico e laboratorial, de uma população do Centro do país com sintomas após a ingestão de pelo menos uma leguminosa.

Tal como para outros alimentos, por exemplo as proteínas de leite-vaca, a maioria das crianças pequenas com aparecimento de alergia a leguminosas antes dos 3 anos adquire tolerância se fizer uma evicção eficaz<sup>5</sup>. Assim, este tipo de alergia será menos frequente em idade adulta, mas com maior probabilidade de se manter ao longo da vida se surgir numa faixa etária mais tardia.

Ao caracterizar uma população de adultos com alergia a leguminosas numa região do Centro de Portugal, deparamo-nos com algumas diferenças relativamente a outros estudos já efectuados<sup>5,9</sup>. O facto de estes doentes serem seguidos numa consulta diferenciada de alergia alimentar e de alergia a leguminosas ser uma condição que habitualmente perdura ao longo do tempo pode explicar o número representativo de doentes observados durante um ano. Ao contrário do que acontece em crianças, em que a prevalência de alergia a leguminosas é mais frequente no sexo masculino<sup>5</sup>, na população estudada foi superior no sexo feminino. As manifestações mucocutâneas, como a síndrome de alergia oral, a urticária e/ ou angioedema, foram igualmente as mais reportadas. No entanto, casos com maior gravidade, em que a ingestão de leguminosas condicionou o aparecimento de uma crise de asma ou anafilaxia, foram também encontrados. A possibilidade de desencadear uma reacção potencialmente fatal parece ser real para qualquer leguminosa. Inicialmente, a preocupação dos países anglo-saxónicos estava focada apenas no amendoim<sup>17</sup>, mas ao longo do tempo foram sendo descritos casos de anafilaxia com o tremço<sup>18</sup>, feijão<sup>19</sup>, grão-de-bico<sup>20</sup> e lentilha<sup>21</sup>. Neste estudo foram desencadeantes de anafilaxia a ingestão de tremço, de soja e de feijão branco. Curiosamente, e tal como acontece com reacções graves desencadeadas pela administração de anti-inflamatórios não esteróides, no presente estudo dois dos três doentes com crises de anafilaxia apresentavam apenas uma leguminosa responsável por desencadear sintomas<sup>22</sup>. O feijão e o grão-

nated in our sample, unlike what happens in children, where legume allergy is more frequent in males<sup>5</sup>. Mucocutaneous manifestations, such as oral allergy syndrome, urticaria and/or angioedema, were the most frequently reported. More severe cases, in which legume ingestion triggered asthma or anaphylaxis crises, were also found.

Any legume seems capable of triggering a potentially fatal reaction. Initially, Anglo-Saxon countries focussed their attention only on peanuts<sup>17</sup> but, over time, cases of anaphylaxis caused by lupini bean<sup>18</sup>, bean<sup>19</sup>, chickpea<sup>20</sup> and lentil<sup>21</sup> have been reported. In our study, lupini bean, soya bean and white bean ingestion triggered anaphylaxis. Interestingly, and similarly to cases of severe reactions triggered by the administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), we found that two of the three patients with anaphylaxis crises reported only one legume responsible for triggering symptoms<sup>22</sup>. Bean and chickpea, followed by lupini bean, were the more usual culprits. These, along with pea, were the only legumes whose steam from boiling induced symptoms in two patients studied.

Hypersensitivity to multiple foods that share homologous proteins is an increasing problem in today's clinical practice. The clinician has to determine the likelihood of reaction to a phylogenetically similar food, or even to one with no taxonomic relationship, and also to draw up a restrictive diet plan. As confirmed allergy to at least one legume increases the likelihood of multiple allergies<sup>7</sup>, in the presence of bean or chickpea allergy in our sample we would recommend eviction of the other legumes, due to the high prevalence of allergy to both. In terms of the other legumes studied, and given the fact that frequent multiple sensitivity is also very common, this measure is not so clear<sup>8</sup>. The high percentage of positive skin tests to both commercial extracts and the food itself favours this possibility. The double-blind oral food challenge test is still the gold standard diagnostic test for food allergy<sup>23</sup>. However,

-de-bico, seguidos do tremçoço, foram as leguminosas mais vezes encontradas como causadoras de sintomas. Foram também, juntamente com a ervilha, as únicas a provocar sintomas com o vapor de cozedura em dois dos doentes estudados.

A prevalência de reacções de hipersensibilidade a múltiplos alimentos que partilham proteínas homólogas tem vindo a ser um problema cada vez mais frequente nos dias de hoje. O clínico depara-se com o problema da determinação da possibilidade de reacção a um alimento filogeneticamente semelhante ou mesmo sem relação taxonómica e com a dificuldade da elaboração de um plano de restrição alimentar.

Como a alergia confirmada a pelo menos uma leguminosa aumenta a probabilidade de aparecimento de alergia múltipla<sup>7</sup>, no caso da população estudada, na presença de alergia a feijão ou a grão-de-bico, recomendaríamos a evicção da outra leguminosa, dada a maior prevalência de alergia a estas duas leguminosas. No que diz respeito às outras leguminosas estudadas, e dado que a sensibilização múltipla é também muito frequente, essa medida deixa de ser clara<sup>8</sup>. A elevada percentagem de positividade nos testes cutâneos, quer com extractos comerciais, quer com o alimento em natureza, é a favor desta possibilidade. A prova de provocação oral duplamente cega continua a ser o teste de referência para o diagnóstico de alergia alimentar<sup>23</sup>. No entanto, alimentos menos prováveis de causar reacções de alergia alimentar podem ser testados em regime de provocação oral aberta ou provocação oral com ocultação simples<sup>24</sup>. A realização da prova de provocação oral valorizaria os nossos resultados, permitindo correlacionar sensibilização com alergia. Os doentes observados neste estudo, exceptuando as leguminosas para as quais reportavam queixas após ingestão, referiam consumir livremente na dieta algumas leguminosas. Nesses casos, a realização de prova de provocação oral não é necessária para confirmar a presença de tolerância. A maioria dos indivíduos alérgicos ao amendoim tolera a ingestão das outras leguminosas, estando esta alergia mais frequentemente associada à alergia a frutos secos, pelo facto de possuírem proteínas de reserva comuns<sup>25</sup>. Na população estudada, o facto de a maior

foods less likely to trigger allergic reactions may be tested in open or single-blind oral challenge tests<sup>24</sup>. Performing an oral challenge test would add more power to our results, allowing us to correlate sensitisation with allergy. The patients we studied reported that they freely ate legumes, with the exception of the one to which they were allergic, making oral challenge tests unnecessary to confirm tolerance. The majority of peanut-allergic patients tolerate ingestion of other legumes; with their allergy more frequently associated to nut allergy, as they have common seed storage proteins<sup>25</sup>. Our population presented the greatest co-sensitisation to nuts (64%), confirming this fact.

It is known that in selected patients with symptoms following ingestion of at least one legume, sensitisation values are much higher than those estimated for the population at large<sup>14</sup>. Lentil, chickpea and pea allergy were responsible for a greater probability of cross-reactivity in a Spanish population<sup>11</sup>. Immunoblotting assays identified proteins with similar molecular weights, approximately between 30 and 33kDa, among the 5 species of legumes studied, leading us to wonder on the possibility of cross-reactivity between them. We would have to perform further immunoblot inhibition assays, however, before we could confirm which proteins are the cause of this cross-reactivity in our sample. In addition to proteins with molecular weights compatible with storage proteins (glicinins and vicilins), bands with molecular weights that could correspond to proteolytic subunits of vicilin, such as 36kDa, 16kDa and 13kDa have been identified in the patients studied and in several legumes<sup>10</sup>. This suggests that digestion products of storage proteins could also be responsible for triggering legume allergy.

## CONCLUSIONS

Legume allergy should be approached carefully as any legume can trigger severe and potentially fatal reactions.



percentagem de cossensibilização encontrada ser a frutos secos (64%) vai de encontro a essa informação.

É sabido que em doentes seleccionados, com sintomas após a ingestão de pelo menos uma leguminosa, os valores de sensibilização a leguminosas são muito superiores aos estimados na população em geral<sup>14</sup>. Na população espanhola, a alergia à lentilha, ao grão-de-bico e à ervilha foram responsáveis por uma maior probabilidade de reactividade cruzada<sup>11</sup>. A identificação, em estudos de *immunoblotting*, de proteínas com peso molecular semelhante e aproximado entre 30 a 33kDa entre as cinco espécies de leguminosas estudadas, faz-nos pensar na possibilidade de existirem fenómenos de reactividade cruzada entre elas. No entanto, para podermos confirmar as proteínas responsáveis por essa reactividade cruzada na nossa população teriam que ser realizados futuramente estudos de inibição. Foram identificadas nos doentes estudados por *immunoblotting* e em várias leguminosas, para além das bandas com pesos moleculares compatíveis com proteínas de reserva (glicinas e vicilinas), bandas com pesos moleculares que podem corresponder a subunidades proteolíticas da vicilina, como: 36kDa, 16kDa e 13kDa<sup>10</sup>. Este facto sugere que os produtos da digestão das proteínas de reserva possam também ter responsabilidade na presença de alergia às leguminosas.

## CONCLUSÕES

A alergia a leguminosas deve ser abordada com cuidado, devido à possibilidade de qualquer leguminosa poder desencadear reacções graves e potencialmente fatais. Na população estudada, o feijão-branco, o grão-de-bico e o tremço foram as leguminosas encontradas com maior importância clínica. Habitualmente, os doentes estão polissensibilizados a várias leguminosas e a outros alérgenos. Na população estudada, a presença de sensibilização múltipla foi também frequente.

Quando os doentes apresentam clínica sugestiva de alergia às leguminosas feijão-verde, soja e ervilha, os resultados dos testes cutâneos *prick-prick* foram sobreponíveis aos encontrados para os testes cutâneos por picada com os extrac-

In our population, white bean, chickpea and lupini bean were the main culprit legumes. Patients are normally polysensitized to several legumes and other allergens. We also found frequent multiple sensitizations.

Patients whose clinical picture suggested green bean, soya bean and pea allergy had overlapping PP test results to SPT with the corresponding commercial extracts. The diagnostic sensitivity of the PP tests to white bean, chickpea and peanut was greater than that of SPT with the commercial extracts.

The results of the different tests allow the identification of sensitized individuals whose clinical significance could be determined only by performing oral challenge tests. Immunoblotting assays continue to play an important part in clarifying the allergenic proteins involved.

**Potential conflicts of interest disclosure:** None declared.

tos comerciais correspondentes. Em relação à realização de testes *prick-prick* a feijão-branco, grão-de-bico e amendoim a rentabilidade diagnóstica foi superior comparativamente à dos testes cutâneos por picada com os extractos comerciais.

A conjugação dos resultados dos diferentes testes cutâneos permite também identificar indivíduos sensibilizados cujo significado clínico só poderá ser determinado após realização de prova de provocação oral.

A realização de estudos de *immunoblotting* mantém um papel importante na clarificação das proteínas alergénicas envolvidas.

**Declaração de potenciais conflitos de interesse:** Nenhum declarado.

## REFERÊNCIAS / REFERENCES

1. Rocha F. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas Direcção-Geral de Protecção das Culturas (DGPC). Nomes vulgares de plantas existentes em Portugal. Edição especial de 1996 da Direcção-Geral de Protecção das Culturas (DGPC). ISSN – 0870 – 9327. Lisboa: DGPC; 1996
2. Martínez SIM, Ibáñez SMD, Fernández-Caldas E. Hypersensitivity to members of the botanical order Fabales (legumes). *J Invest Allergol Clin Immunol* 2000; 10: 187-99.
3. Pereira MJ, Belver MT, Pascual CY, Martín Esteban M. The allergenic significance of legumes. *Allergol Immunopathol* 2002; 30 (6): 346-53.
4. Beyer K, Morrow E, Li XM, Bardina L, Bannon G, Burks AW, et al. Effects of cooking methods on peanut allergenicity. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 1077-81.
5. Ibanez MD, Martinez M, Sanchez JJ, Fernández-Caldas E. Legume cross-reactivity. *Allergol Immunopathol* 2003; 31 (3): 151-61.
6. Broadbent J, Taylor S, Sampson HA. Cross-reactivity in the legume botanical family in children with food hypersensitivity II. Laboratory correlates. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 701-9.
7. Sicherer SH. Clinical implications of cross-reactive food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 881-90.
8. Bernhisel-Broadbent J, Sampson HA. Cross-allergenicity in the legume botanical family in children with food hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83: 435-40.
9. Reis AM, Fernandes NP, Marques SL, Paes MJ, Sousa S, Carvalho F, et al. Lupin sensitisation in a population of 1,160 subjects. *Allergol et Immunopathol* 2007; 35(4): 162-3.
10. Sanchez-Monge R, Lopez-Torrejón G, Pascual CY, Varela J, Martín-Esteban M, Salcedo G. Vicilin and convicilin are potential major allergens from pea. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1747-53.
11. Martínez San Ireneo M, Ibáñez MD, Fernández-Caldas E, Carnés J. In vitro and in vivo cross-reactivity studies of legume allergy in a mediterranean population. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 147(3): 222-30.
12. Walter MH, Liu JW, Wünn J, Hess D. Bean ribonuclease-like pathogenesis-related protein genes (Ypr10) display complex patterns of developmental, dark-induced and exogenous-stimulus-dependent expression. *Eur J Biochem* 1996; 239: 281-93.
13. Allergen Nomenclature (Homepage on the Internet) International Union of Immunological Societies/ Allergen Nomenclature Sub-committee and the World Health Organisation 1986 (update 2008 August 19; cited 2008 August 30). Available from <http://www.allergen.org>.
14. Zuidmeer L, Goldhahn K, Rona RJ, Gislason D, Madsen C, Summers C, et al. The prevalence of plant food allergies: a systemic review. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121 (5): 1210-18.
15. Bernstein IL, Li JT, Bernstein DI, Hamilton R, Spector SL, Tan R, et al. Allergy diagnostic testing: An updated practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008; 100 (Suppl 3): S1- S142.
16. Heinzerling L, Frew AJ, Bindslev-Jensen C, Bonini S, Bousquet J, Bresciani M, et al. Standard skin prick testing and sensitization to inhalant allergens across Europe—a survey from the GALEN network. *Allergy* 2005; 60(10): 1287-300.
17. Sicherer SH, Muñoz-Furlong A, Burks AW, Sampson HA. Prevalence of peanut and tree nut allergy in US determined by a random digit dial telephone survey. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 559-62.

Correspondência / Correspondence to:

Luísa Geraldês

Serviço de Imunoalergologia – Hospitais da Universidade de Coimbra

Praceta Mota Pinto

3000-075 Coimbra, Portugal

Email: [luisageraldes@hotmail.com](mailto:luisageraldes@hotmail.com).

18. Matheu V, de Barrio M, Sierra Z, Garcia-Bara MT, Tornero P, Baeza ML. Lupine-induced anaphylaxis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 83: 406-8.
19. Zacharisen MC, Kurup V. Anaphylaxis to beans. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 556-7.
20. Niphadkar PV, Patil SP, Bapat MM. Chickpea-induced anaphylaxis. *Allergy* 1997; 52: 115-6.
21. Kalogeromitros D, Armenaka M, Galatas Y, Capellou O, Katsarou A. Anaphylaxis induced by lentils. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996; 77: 480-2.
22. Berasategui M, Gómez M, Sánchez M, Macías J, Robaina J, Garcia M, Labairu T, Mayorga C, Rodilla E, Rodríguez N, Enriquez J, Jaén M. Alergia a medicamentos. Serie Monográfica. Espanha: Sanidad ediciones; 2005.
23. Sampson HA. Food allergy. Part 2: diagnosis and management. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 981-99.
24. Sampson HA. Food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: S540-7.
25. Carrapatoso I. Grupos de alimentos com maior reactividade cruzada. *Rev Port Imunoalergologia* 2004; 12 (2): 103-13.