

Alergia a perceves no contexto da síndrome ácaros-crustáceos-moluscos-baratas

Barnacle allergy in the context of the mites-crustaceans-molluscs-cockroaches syndrome

Rev Port Imunoalergologia 2005; 13 (2): 187-193

Susana Marinho¹, Ângela Gaspar¹, Mário Morais Almeida¹, Idoia Postigo², Jorge Guisantes², Jorge Martínez^{2,3}, José Rosado Pinto¹

¹ Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Dona Estefânia, Lisboa, Portugal

² Departamento de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia, Faculdade de Farmácia, Universidade do País Basco, Vitoria, Espanha

³ Sweden Diagnostics Espanha SL, Laboratorio de Aplicaciones, Barcelona, Espanha

RESUMO

Introdução: A tropomiosina dos invertebrados é o pan-alergénio que une crustáceos, moluscos, aracnídeos, insectos e parasitas, encontrando-se significativa homologia de sequência entre as proteínas dos vários grupos. Os perceves são um tipo de crustáceo particularmente apreciado e consumido no nosso país; no entanto, a alergia a este crustáceo é uma situação bastante rara da qual só existe um trabalho publicado na literatura. **Caso clínico:** Apresentamos o caso de uma criança do sexo masculino, de 9 anos de idade, com asma brônquica, rinoconjuntivite alérgica e eczema atópico, sensibilizada a ácaros e baratas. Aos 7 anos, 10 minutos após a primeira ingestão de perceves, refere síndrome de alergia oral, angioedema periorbitário e rinoconjuntivite. Aos 8 anos, ocorreram 4 episódios semelhantes após ingestão de caracol, camarão, lula e choco (referindo ingestão prévia destes alimentos sem queixas). Aos 9 anos, refere episódio de urticária da face e angioedema periorbitário com inalação de vapores de cozedura de

camarão. Foram realizados testes cutâneos por *prick* que se revelaram positivos para perceves, camarão, caracol, lula, choco, polvo e amêijoia em natureza, e para gamba, caranguejo e mexilhão com extractos comerciais. Os doseamentos de IgE específica sérica revelaram-se positivos para camarão, caracol, lula, polvo e amêijoia, bem como para perceves e tropomiosina recombinante. Foi efectuado *SDS-PAGE immunoblotting* com extracto de perceves que revelou várias fracções alergénicas com grande variação de pesos moleculares (19-88 kDa); foi ainda efectuado estudo de inibição com *D. pteronyssinus*, que inibiu várias fracções fixadoras de IgE no extracto de perceves. **Discussão:** Apresenta-se um caso raro de uma criança, com quadro de alergia respiratória associada a sensibilização a ácaros e baratas, com alergia alimentar a crustáceos – incluindo a perceves – e moluscos gastrópodes, bivalves e cefalópodes. Foram caracterizados os alergénios implicados na alergia a perceves e demonstrada a presença da tropomiosina como alergénio implicado, bem como a reactividade cruzada entre estes crustáceos e os ácaros.

Palavras-chave: alergia alimentar, reactividade cruzada, crustáceos, perceves, moluscos, ácaros.

ABSTRACT

Background: *Invertebrate tropomyosin is the pan-allergen uniting crustaceans, molluscs, arachnids, insects and parasites, and there is a significant sequence homology among the proteins of each of these groups of invertebrates. Barnacles are seafood particularly appreciated and consumed in Portugal, but barnacle allergy is a rare condition of which there is only one reference in the indexed literature.* **Clinical Case:** *We present the case of a 9-year-old male, with asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema, sensitised to mites and cockroaches. At 7 years of age, he has an episode of oral allergy syndrome, periorbital angioedema and rhinoconjunctivitis, 10 minutes after his first ingestion of barnacles; he had 4 similar subsequent episodes after the ingestion of snail, shrimp, squid and cuttlefish when he was 8 years old (prior ingestion without any symptoms), and at age 9 years he had an episode of facial urticaria and periorbital angioedema related to the inhalation of shrimp cooking vapours. The skin prick tests performed were positive to barnacle, shrimp, snail, squid, cuttlefish, octopus, and clam (prick to prick skin test) and prawn, crab and mussel (commercial extracts). Specific serum IgE quantification was positive to shrimp, snail, squid, octopus and clam, as well as to barnacle and recombinant tropomyosin. SDS-PAGE immunoblotting to barnacle revealed several allergenic fractions with a wide variation in molecular masses (19-88 kDa); the inhibition-immunoblotting assay with *D. pteronyssinus* inhibited several IgE-binding fractions in the barnacle extract.* **Discussion:** *We present an unusual case of a child with respiratory allergy associated to the sensitisation to mites and cockroaches, with food allergy to crustaceans - including barnacles - and molluscs (gastropods, bivalves and cephalopods). The allergens implicated in the allergy to barnacles were characterized and we also demonstrated the presence of tropomyosin as an important implicated allergen, as well as the cross-reactivity between these crustaceans and mites.*

Key-words: *food allergy, cross-reactivity, crustaceans, barnacles, molluscs, mites.*

INTRODUÇÃO

Os crustáceos são reconhecidos como uma causa comum de alergia alimentar, particularmente em idade adulta, sendo esta uma situação de frequência crescente e um importante problema de saúde (também relacionado com a popularidade e consumo crescentes deste tipo de mariscos).^{1,2} Os perceves são um tipo de crustáceo particularmente apreciado e consumido no nosso país, bem como em Espanha, França e na América do Sul; no entanto, a alergia a este crustáceo é uma situação bastante rara, da qual só existe uma referência publicada na literatura indexada.³ Os alergénios moleculares implicados e possíveis fenómenos de reactividade cruzada, nomeadamente com ácaros, não foram ainda identificados.

A tropomiosina dos invertebrados é o pan-alergénio que une crustáceos, moluscos, aracnídeos, insectos e parasitas, encontrando-se significativa homologia de sequência entre as proteínas dos vários grupos.⁴⁻⁹ A existência de fenómenos de reactividade cruzada entre ácaros e crustáceos tem sido documentada por diversos autores, bem como entre ácaros e moluscos gastrópodes, particularmente caracol, com claras implicações clínicas.¹⁰ No que diz respeito às interacções entre ácaros e moluscos bivalves, e particularmente entre ácaros e moluscos cefalópodes, embora haja alguns casos descritos, não estão tão bem definidas.

O crescente consumo de marisco e o subsequente risco aumentado de alergia tornam importante a elucidação das bases moleculares da alergia ao marisco através da identificação dos alergénios implicados ao nível molecular.

Os autores apresentam um caso raro de alergia alimentar IgE-mediada a crustáceos (incluindo perceves) e a moluscos (incluindo as três classes: gastrópodes, bivalves e cefalópodes) numa criança sensibilizada a ácaros e baratas.

CASO CLÍNICO

Criança do sexo masculino, com 9 anos de idade e de raça caucasiana, com antecedentes familiares alérgicos (mãe com asma e alergia ao látex; irmão com asma e alergia à penicilina), com história de asma brônquica, rinoconjuntivite alérgica e eczema atópico, sensibilizada a ácaros (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* e *Blomia tropicalis*) e baratas (*Blattella germanica* e *Periplaneta americana*).

Aos 7 anos de idade, 10 minutos após a primeira ingestão de perceves, refere quadro de prurido orofaríngeo, angioedema periorbitário e rinoconjuntivite. Posteriormente, ocorreram 4 episódios de características semelhantes após ingestão de caracol, camarão, lula e choco, aos 8 anos de idade, referindo ingestão prévia destes alimentos sem queixas. Aos 9 anos de idade refere episódio de urticária da face e angioedema periorbitário na sequência da inalação de vapores de cozedura de camarão. Nega queixas relacionadas com a ingestão de outros crustáceos ou bivalves; nunca ingeriu polvo.

Encontra-se em evicção de crustáceos e moluscos (gastrópodes, bivalves e cefalópodes) desde os 8 anos de idade. Nunca fez imunoterapia específica para nenhum dos aeroalergénios a que se encontra sensibilizado.

Na consulta de Imunoalergologia foram efectuados testes cutâneos por *prick* que foram positivos para perceves, camarão, caracol, lula, choco, polvo e amêijoas em natureza; e para gamba, caranguejo e mexilhão com extractos comerciais (Quadro 1).

Uma vez que nunca houve referência a queixas associadas a bivalves (que ingeria previamente sem problemas), tendo-se mantido em evicção dos mesmos após os episódios associados à ingestão de outros moluscos, foi proposta prova de provocação com amêijoas, que foi recusada (também com base no facto de se tratar de um alimento não indispensável na dieta).

Foram preparados extractos de perceves cru e cozinhado para a realização dos estudos *in vitro*: determinação de IgE específica através do método UniCAP®

System, *immunoblotting* e estudo de inibição com *D. pteronyssinus*.

Os doseamentos de IgE específica sérica revelaram-se positivos para perceves (extracto de perceves cru e cozinhado) e tropomiosina recombinante (Quadro 1), bem como para ácaros do pó (*D. pteronyssinus*, *D. farinae*), baratas (*B. germanica*, *P. americana*), camarão, caracol, lula, polvo e amêijoia.

Foi efectuado estudo de *immunoblotting* para perceves (fase sólida) para analisar os componentes alergénicos

implicados na sensibilização a este crustáceo (Fig. 1 e Quadro 2). Este estudo revelou várias fracções alergénicas com grande variação de pesos moleculares (19 a 88 kDa), sendo os resultados muito similares comparando o extracto de perceves cru com o cozinhado. Salienta-se uma banda de 37 kDa, identificada em ambos os extractos, que poderá corresponder à tropomiosina.

Com vista ao estudo de possível reactividade cruzada entre perceves e ácaros, foi também efectuado um estudo de *immunoblotting*-inibição com extracto de

Quadro 1. Resultados dos testes cutâneos (TC) por *prick* e dos doseamentos de IgE específica sérica

Alergénios	TC por <i>prick</i> (diâmetro médio da pápula em mm)	IgE específica sérica (kU/l)
<i>D. pteronyssinus</i>	5	>100
<i>D. farinae</i>	3,5	>100
<i>B. tropicalis</i>	6,5	nd
<i>B. germanica</i>	4	37,3
<i>P. americana</i>	3,5	11,2
Perceves cru/	9,5	0,82
Perceves cozinhado	9,5	3,65
(PP/ extracto preparado para slgE)		
Tropomiosina recombinante	nd	86,0
Camarão (PP)	7	-
(EC)	nd	85,2
Caracol (PP)	8,5	-
(EC)	nd	20,0
Amêijoia (PP)	7	-
(EC)	1,5	>100
Lula (PP)	9	-
(EC)	nd	6,41
Polvo (PP)	9	-
(EC)	nd	38,6
Choco (PP)	6	-

EC = extracto comercial; PP = teste cutâneo *prick to prick*; nd = não determinado.

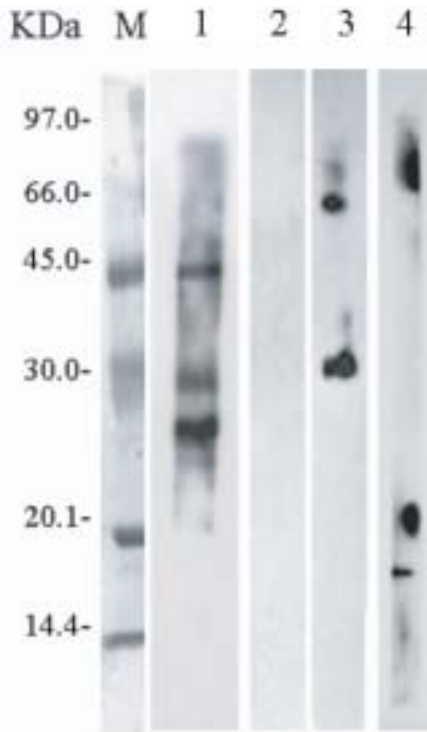


Figura 1. IgE *immunoblotting* para perceves e IgE-*immunoblotting*-inibição usando extracto de perceves cru na fase sólida e extracto de *D. pteronyssinus* como inibidor. M: Marcador de peso molecular. Linha 1: *immunoblotting* para perceves (extracto cru); Linha 2: controlo de *immunoblotting*-inibição - soro pré-incubado com extracto de perceves; Linha 3: *immunoblotting*-inibição - soro pré-incubado com extracto de *D. pteronyssinus*; Linha 4: *immunoblotting* para *D. pteronyssinus* (fase sólida).

perceves, no qual o soro do doente foi pré-incubado com extracto de *D. pteronyssinus*, procedendo-se posteriormente ao *immunoblotting* com extracto de perceves na fase sólida. Foram inibidas várias fracções fixadoras de IgE no extracto de perceves, entre 19 e 74 kDa, incluindo a banda de 37 kDa, permanecendo duas bandas, de 30 e 60 kDa, que não foram inibidas (Quadro 2 e Fig. 1).

Quadro 2. Pesos moleculares (kDa) das fracções antigénicas reconhecidas nos estudos de *immunoblotting* e *immunoblotting*-inibição

<i>Immunoblotting</i> para perceves		<i>Immunoblotting</i> -inibição (com <i>Der pteronyssinus</i>)
Perceves crus	Perceves cozinhados	Perceves crus
	87,9	
74	63,4	
59	60	60
56		
49	50,2	
44	45,3	
40,3		
36,8	37	
	34,3	
	32,5	
30	30,5	30
	27,6	
25	25,6	
23,5	24	
22	23	
19	20	

DISCUSSÃO

Embora as reacções alérgicas IgE-mediadas a crustáceos sejam frequentes, quadros associados de alergia a moluscos gastrópodes, bivalves e cefalópodes são situações pouco comuns, particularmente em idade pediátrica.

No caso particular dos perceves, apesar de muito apreciados em Portugal, bem como noutros países da Europa mediterrânea, apenas um trabalho os aponta como agentes implicados em quadros de alergia³, o que está provavel-

mente relacionado com o seu consumo limitado.

No caso clínico apresentado, foi confirmada a existência de alergia IgE-mediada a perceves, quer por testes *in vivo* – testes cutâneos positivos para perceves em natureza, quer por testes *in vitro* – presença de IgE específica para perceves identificada por UniCAP® e *immunoblotting*.

É de salientar a sensibilização a ácaros observada nesta criança, tal como descrito na maioria dos casos de alergia a crustáceos reportados na literatura, o que nos levou a investigar a presença de fenómenos de reactividade cruzada entre perceves e *D. pteronyssinus*, tendo demonstrado a presença de epitopos fixadores de IgE comuns e confirmando a existência de reactividade cruzada entre estes invertebrados.

Verificámos tratar-se de um caso em que há inibição do extracto de perceves pelo extracto de *D. pteronyssinus*, salientando-se a inibição de uma banda de 37 kDa, que poderá corresponder à tropomiosina. Confirmou-se ainda a existência de IgE específica para tropomiosina recombinante (86 kU/l).

A alergia a crustáceos tem sido estudada exaustivamente e existem inúmeros trabalhos apontando a tropomiosina como o alérgeno *major* envolvido na reactividade a várias espécies desta classe. Esta molécula, com um peso molecular de 36-37 kDa, pertence a uma família de proteínas com estrutura altamente conservada e com múltiplas isoformas, encontrada em células musculares e não musculares, sendo ubiqüitária no reino animal. Devido ao seu alto grau de conservação e significativa homologia de sequência entre os invertebrados, a tropomiosina é apontada como o pan-alérgeno homólogo implicado nas reacções de reactividade cruzada IgE-mediada clinicamente importantes entre várias espécies de invertebrados, desde os crustáceos (camarão, lagosta, caranguejo) a moluscos (caracol, lula, amêijoia), aracnídeos (ácaros), insectos (baratas) e mesmo nemátodos.⁴⁻⁹

Recentemente, um novo alérgeno de 39,9 kDa, do camarão *Penaeus monodon* (Pen m 2), foi identificado uti-

lizando soros de doentes com alergia a este crustáceo. Esta proteína revelou grande semelhança com a arginina-quinase dos crustáceos e foi identificada como um novo alérgeno implicado na reactividade cruzada entre esta classe de invertebrados.¹¹ No doente apresentado, não se observou nenhuma banda no estudo de *immunoblotting* com extracto de perceves com peso molecular similar.

Nos estudos *in vitro* efectuados neste caso, verificou-se a presença de duas bandas proteicas de 30 e 60 kDa no estudo de *immunoblotting* com extracto de perceves, que não foram inibidas pelo extracto de *D. pteronyssinus*, e que poderão corresponder a alérgenos específicos de perceves. Uma proteína de peso molecular rondando os 60 kDa foi também identificada no estudo de Moreno Escobosa *et al.*³

Embora uma ligação entre imunoterapia específica para ácaros e o aparecimento de alergia alimentar a crustáceos e moluscos tenha sido reportada,¹² é de salientar que a criança em causa nunca foi submetida a esta terapêutica.

Analisando o caso apresentado, parece-nos plausível assumir que fenómenos de reactividade cruzada com ácaros estejam implicados no que diz respeito à alergia a perceves, dado que os sintomas ocorreram aquando da primeira ingestão e foi confirmada a inibição *in vitro* de múltiplas fracções alérgicas pelo extracto de *D. pteronyssinus*.

No que se refere à alergia a moluscos, é lícito colocar a mesma hipótese, embora possamos também estar em presença de co-sensibilização. Mais estudos, utilizando uma maior variedade de extractos de crustáceos e moluscos, serão necessários para esclarecer esta situação.

Contacto:

Susana Marinho
Serviço de Imunoalergologia
Hospital de Dona Estefânia
Rua Jacinta Marto
1169-045 Lisboa
E-mail: hde.imunoalergo@mail.telepac.pt

BIBLIOGRAFIA

1. Musmand JJ, Daul CB, Lehrer SB. Crustacea allergy. *Clin Exp Allergy* 1993; 23:722-32.
2. Sicherer SH, Munoz-Furlong A, Sampson HA. Prevalence of seafood allergy in the United States determined by a random telephone survey. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:159-65.
3. Moreno Escobosa MC, Alonso LE, Sanchez AA, et al. Barnacle hypersensitivity. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2002; 30:100-3.
4. Reese G, Ayuso R, Carle T, Lehrer SB. IgE-binding epitopes of shrimp tropomyosin, the major allergen Pen a 1. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 118:300-1.
5. Reese G, Ayuso R, Lehrer SB. Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 119:247-58.
6. Ayuso R, Reese G, Leong-Kee S, Plante M, Lehrer SB. Molecular basis of arthropod cross-reactivity: IgE-binding cross-reactive epitopes of shrimp, house dust mite and cockroach tropomyosins. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129:38-48.
7. Fernandes J, Reshef A, Patton L, Ayuso R, Reese G, Lehrer SB. Immunoglobulin E antibody reactivity to the major shrimp allergen, tropomyosin, in unexposed Orthodox Jews. *Clin Exp Allergy* 2003; 33:956-61.
8. Lehrer SB, Ayuso R, Reese G. Seafood allergy and allergens: a review. *Mar Biotechnol (NY)* 2003; 5:339-48.
9. Ferreira F, Hawranek T, Gruber P, Wopfner N, Mari A. Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allergy* 2004; 59:243-67.
10. van Ree R, Antonicelli L, Akkerdaas JH, et al. Asthma after consumption of snails in house-dust-mite-allergic patients: a case of IgE cross-reactivity. *Allergy* 1996; 51:387-93.
11. Yu CJ, Lin YF, Chiang BL, Chow LP. Proteomics and immunological analysis of a novel shrimp allergen, Pen m 2. *J Immunol* 2003; 170:445-53.
12. van Ree R, Antonicelli L, Akkerdaas JH, Garritani MS, Aalberse RC, Bonifazi F. Possible induction of food allergy during mite immunotherapy. *Allergy* 1996; 51:108-13.