



Alergia a alfa-gal e anafilaxia tardia a carne vermelha: esta síndrome existe no Brasil?

Alpha-gal allergy and delayed anaphylaxis to red meat: does this syndrome exist in Brazil?

L. Karla Arruda, MD, PhD¹; Janaina Lima Melo, MD, PhD¹

A identificação de uma síndrome caracterizada por urticária, angioedema, sintomas gastrointestinais e/ou anafilaxia de ocorrência tardia, após 3 a 6 horas da ingestão de carne vermelha ou vísceras de mamíferos não primatas (bovinos, suínos, caprinos e outros), e de sua associação com resposta IgE ao carboidrato galactose- α -1,3-galactose (alfa-gal) e exposição a picadas de carapato, é uma das descobertas recentes mais fascinantes em alergia. Deve-se ao brilhantismo e trabalho incessante do Prof. Thomas Platts-Mills e de seu grupo, na University of Virginia, Charlottesville, VA, USA¹⁻⁴.

Tudo começou em 2007, quando surgiram casos de reações graves, e em alguns casos fatais, de hipersensibilidade imediata ao anticorpo monoclonal cetuximab, que é específico para o *epidermal growth factor receptor* (EGFR) e usado para o tratamento de câncer colorretal metastático. As reações ao cetuximab se desenvolviam rapidamente, e o pico dos sintomas ocorria em geral em 20 minutos após ou durante a primeira infusão do anticorpo. Curiosamente, estas reações ocorriam apenas em um grupo de estados da região do Sudeste dos Estados Unidos. Nesta época, o grupo do Prof. Platts-Mills foi envolvido na investigação da resposta IgE ao cetuximab, e o trabalho resultou no desenvolvimento de uma nova versão do imunoensaio fluoroenzimático, o ImmunoCAP, para medida de IgE para cetuximab, empregando a streptavidina. Neste formato do ImmunoCAP, a streptavidina é ligada à fase sólida, provendo a matrix para ligação do alérgeno biotinilado, neste caso a molécula de cetuximab. De forma interessante, os resultados mostraram que pacientes que apresentaram reações alérgicas imediatas à primeira infusão de cetuximab tinham IgE para esta molécula detectável no soro mesmo antes do início do tratamento. A questão que permanecia era: qual o epítipo que estava sendo reconhecido pela IgE na molécula de cetuximab? Investigações subsequentes revelaram que este epítipo era o carboidrato alfa-gal, que estava presente na porção Fab do anticorpo cetuximab, e que o soro pré-tratamento dos pacientes também continha IgE para alfa-gal. Estes estudos foram possíveis devido ao desenvolvimento pelo grupo do Prof. Platts-Mills do ImmunoCAP para medida de IgE específica para alfa-gal, com a mesma estratégia usando a streptavidina ligada à fase sólida, e neste caso, a tireoglobulina bovina biotinilada, que é altamente rica no epítipo alfa-gal. A forte ligação streptavidina-biotina mantém os epítipos alfa-gal ligados à matriz sólida do ImmunoCAP, permitindo a

¹ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, FMRP-USP, Ribeirão Preto, SP.

Correspondência para:
L. Karla Arruda
karla@fmrp.usp.br

apresentação da alfa-gal a anticorpos IgE do soro de pacientes com suspeita de alergia a este carboidrato. Este tipo especial de streptavidina-ImmunoCAP está disponível comercialmente para medida de IgE específica para alfa-gal^{1,2}.

A síntese da alfa-gal requer o gene que codifica a alfa-1,3-galactosiltransferase. Em humanos e primatas não humanos, este gene não é funcional, portanto estas espécies não produzem alfa-gal, o que torna possível que estes animais inicialmente façam uma resposta IgG e IgE a este oligossacarídeo. De importância para o desenvolvimento de biológicos, e em particular de anticorpos monoclonais (mAbs), é a observação de que linhagens de células murinas como NS0 e Sp2/0 podem sintetizar galactose com uma ligação de padrão alfa-1,3, de maneira que alfa-gal está presente nas moléculas dos mAbs produzidos. Sp2/0 foi a linhagem de célula murina utilizada para a produção de cetuximab, de forma que reações a este mAb têm elevada probabilidade de ocorrer em indivíduos que têm IgE para alfa-gal³.

No mesmo período em que estavam ocorrendo reações ao cetuximab, foram descritos nos Estados Unidos pacientes que apresentavam uma nova síndrome, de sintomas alérgicos particularmente urticária, angioedema, manifestações gastrointestinais e/ou anafilaxia, ocorrendo 3 a 6 horas após ingestão de carne vermelha ou vísceras de mamíferos não primatas. Novamente as pesquisas do grupo do Prof. Platts-Mills elucidaram que esta síndrome, descrita também inicialmente em estados do Sudeste dos Estados Unidos, era causada pelo desenvolvimento de resposta IgE a alfa-gal, e que a origem desta sensibilização eram picadas de carrapatos, cuja saliva contém o epítipo alfa-gal. Dissecando a epidemiologia, foi revelado que os casos de anafilaxia tardia a carne vermelha mapeavam com a distribuição do carrapato *Amblyomma americanum* no Sudeste dos Estados Unidos, onde são frequentes parasitas de veados. De forma interessante, nos últimos anos tem havido intensas ações para a restauração de espécies de veado nesta região dos Estados Unidos, com aumento crescente da população destes animais, o que poderia estar associado ao surgimento ou aumento da prevalência da anafilaxia tardia a carne vermelha por alergia a alfa-gal nos últimos 10 anos¹⁻⁴.

Estudos subsequentes sugerem que picadas de carrapatos ou de suas larvas são a causa de resposta IgE a alfa-gal na Europa (França, Alemanha, Suécia), Ásia (Japão) e Austrália, além dos Estados Unidos, onde carrapatos da espécie *A. americanus* são os agentes mais frequentes. Estes anticorpos são também associados à anafilaxia tardia a carne vermelha ou vísceras de animais que carregam o epítipo alfa-gal. O epítipo alfa-gal foi recentemente identificado no trato gastrointestinal do carrapato europeu *Ixodes ricinus*, e este achado se correlacionou com a alergia a carne vermelha na Suécia⁴.

Pacientes com IgE a alfa-gal relatam tipicamente sintomas que começam após 3-5 horas após a ingestão de carne vermelha. De forma semelhante, em testes de provocação oral com carne de porco, urticária e outros sintomas foram tardios, pelo menos 2 horas após a ingestão. Isto é bem diferente das reações ao cetuximab, que se desenvolvem rapidamente, com pico em 20 minutos após a administração inicial da droga. De forma interessante, este padrão de resposta rápida foi encontrado em resposta *in vitro* em basófilos, após ativação com glicoproteínas, como cetuximab e tireoglobulina bovina, que pode ser detectada em 25 minutos. Respostas em testes cutâneos com cetuximab, extrato de carne, linguiça de porco e tireoglobulina bovina são também rápidas. Portanto, a resposta tardia após a ingestão de carne não reflete uma resposta tardia ou inabilidade de mastócitos e basófilos de responderem a essas glicoproteínas. A explicação provável é que o oligossacarídeo alfa-gal é absorvido do intestino numa forma em que entra de forma lenta na circulação, particularmente quando está presente em glicolípídeos (incluindo quilomicrons). Na Europa (e também no Brasil) é comum as pessoas comerem uma maior seleção de carnes de mamíferos, incluindo não apenas cavalo, cabra e coelho, mas também órgãos como fígado, coração, rim e intestinos. De forma interessante, dois estudos independentes relataram que reações à ingestão de rim de porco foram mais graves e de instalação mais rápida, em cerca de 2 horas. Além disso há relatos anedóticos tanto dos Estados Unidos como da Europa que beber álcool ao mesmo tempo da ingestão de carne vermelha pode aumentar a probabilidade de reação¹.

Os primeiros casos de alergia a alfa-gal na América Central foram descritos por Wickner e Commins em 2014⁵. Os autores relataram quatro casos de anafilaxia tardia a carne vermelha em um *cluster* de biólogos de campo trabalhando próximo ao Canal do Panamá, onde é frequente a ocorrência de picadas de carrapatos. Os pacientes relataram história de urticária, alergia alimentar e anafilaxia, incluindo desconforto respiratório grave com necessidade de tratamento em Serviço de Emergência após picadas de carrapatos. Os níveis de IgE para alfa-gal nestes pacientes variaram de 6,31 a 174 IU/mL, medidos por ImmunoCAP, e IgE total de 34 a 261 IU/mL (média geométrica 94,2 UI/mL). Segundo os autores, nas áreas aquáticas e de florestas ao redor do canal estima-se que haja 15 a 20 espécies de carrapatos, sendo que as picadas em humanos são predominantemente pela espécie *Amblyomma cajennense*⁵.

No Brasil, indivíduos são frequentemente expostos à espécie de carrapato *Amblyomma sculptum* (popularmente denominado carrapato-estrela, carrapato-do-cavalo, rodoleiro, micuim ou carrapato-vermelhinho), que

recentemente foi classificada como uma das espécies do complexo *Amblyomma cajennense*. *A. sculptum* é espécie amplamente distribuída no Centro e Sul do Brasil, Paraguai e Norte da Argentina, e a principal espécie a que homens e cães estão frequentemente expostos nestas áreas. Hospedeiros frequentes para *A. sculptum* são também os equinos, capivaras e antas, causando prejuízos aos criadores de equídeos. O estilo de vida rural, comum no Brasil, eleva o risco de exposição a carrapatos, tornando os humanos hospedeiros acidentais para diferentes espécies.

Araujo e cols. realizaram recentemente elegante estudo, utilizando camundongo *knockout* para alfa-1, 3-galactosiltransferase, a enzima necessária para a produção de alfa-gal⁶. Previamente desenvolvidos e usados para estudos na área de xenotransplantes, estes camundongos são de especial interesse para estudos da imunogenicidade a carboidratos. Altos níveis de anticorpos anti-alfa-gal podem ser induzidos pela imunização com este carboidrato, desta forma mimetizando a situação em humanos, que naturalmente não produzem a enzima alfa-1, 3-galactosiltransferase e não expressam o epítipo alfa-gal. Os autores descrevem o uso deste modelo experimental para investigar a produção de anticorpos anti-alfa-gal usando três estratégias: injeção de saliva de carrapatos *A. sculptum*; exposição natural dos camundongos à saliva de *A. sculptum*, com colocação de dois carrapatos/camundongo, por período de 9 dias, permitindo a exposição por picadas naturais dos carrapatos; e por injeção de partículas *virus-like* derivadas do bacteriófago Q β (Q β -VLPs) conjugadas ao epítipo alfa-gal. Estas estratégias de imunização resultaram em uma robusta resposta de anticorpos IgG e também IgE anti-alfa-gal nos camundongos. Além disso, os resultados revelaram a presença de epítopos alfa-gal na saliva do carrapato *A. sculptum*, associados a proteínas de 200 e 45 kDa, provavelmente os carreadores principais do epítipo alfa-gal na saliva desses carrapatos⁶.

Os resultados do estudo de Araujo e cols. sugerem que, no Brasil, indivíduos frequentemente expostos ao *A. sculptum* poderiam reagir com produção de IgE contra a saliva do carrapato, como tem sido relatado para outras espécies, e fornecem evidência para a conexão entre alergia a carne vermelha e picadas de carrapatos em nosso meio. É possível que de forma semelhante ao *A. americanum*, picadas de *A. sculptum* poderiam induzir a produção de níveis elevados de IgE para alfa-gal e desenvolvimento da síndrome de anafilaxia tardia a carne vermelha (Figura 1). De fato, um caso de alergia a alfa-gal no Brasil foi recentemente descrito e apresentado no *4th Food Allergy and Anaphylaxis Meeting FAAM 2016*, em Roma, Itália, por Cocco e cols.⁷. Os autores descrevem o caso de um paciente de 55 anos, fazendeiro em Rondônia, sem história prévia de alergia, que apresentava

urticária com presença de pápulas pruriginosas diárias há 5 anos. Os sintomas apareciam principalmente ao final da tarde, e eram fortemente associados à ingestão de carne vermelha, incluindo carne de vaca, porco e carneiro, durante o almoço. Ele descrevia múltiplas lesões de picadas de carrapatos, associadas ao seu trabalho na fazenda com animais. IgE total foi elevada, com nível de 888 UI/mL. Além disso, anticorpos IgE elevados foram encontrados para: carne bovina 38,8 kU/L; carne de porco 28,6 kU/L; leite de vaca 9,7 kU/L; albumina bovina sérica 1,51 kU/L; e alfa-gal 70,7 kU/L. Após a orientação de dieta de restrição de todas as carnes, seus sintomas desapareceram. Este caso demonstra a presença de urticária de aparecimento tardio, após várias horas da ingestão de carne vermelha, com sensibilização a alfa-gal, história de frequentes picadas de carrapato, e resolução dos sintomas após dieta de exclusão de carnes. O paciente não havia sido exposto a cetuximab. Os autores destacam que pacientes com características clínicas como as descritas neste caso devem ser investigados para alergia a alfa-gal em nosso meio.

Embora a descrição inicial da alergia a alfa-gal em 2009 tenha sido limitada à carne vermelha, este epítipo alfa-gal tem sido identificado em um número expandido de produtos, medicações e alimentos, sendo descrito ou não nos rótulos destes produtos. De fato, reações a carnes de vaca, porco, carneiro, cabra, bisão, coelho, e de outras fontes de carne de mamíferos não primatas têm sido descritas em pacientes que desenvolvem alergia a alfa-gal em muitos lugares do mundo. Em recente publicação, Commins descreve que alguns pontos importantes merecem destaque adicional⁸. Leite de vaca e derivados podem ter contribuição importante para o número de reações alérgicas em muitos pacientes. Sintomas associados a leite e derivados são frequentemente relatados como gastrointestinais, e de forma semelhante às reações com carne vermelha, se desenvolvem de forma tardia, após mais de duas horas da ingestão. A experiência clínica tem mostrado que sorvete à base de leite de vaca é o desencadeante mais frequente de reações alérgicas, após a carne vermelha. Esses pacientes, com sintomas limitados a queixas no trato gastrointestinal, têm sido identificados de forma crescente. O quadro clínico se caracteriza pelo desenvolvimento de dor abdominal tipo cólica, intensa, acompanhada de episódio de diarreia, que parecem não estar relacionados a consumo de alimento. Na ausência de urticária, prurido cutâneo, angioedema ou hipotensão, é difícil de se suspeitar de uma etiologia alérgica. Dessa forma, muitos pacientes com histórias semelhantes à descrita acima, são submetidos a colonoscopia, endoscopia, ou colecistectomia, quando a exclusão de carne vermelha e leite e derivados poderia ter sido suficiente para controlar os sintomas. Um outro ponto importante a

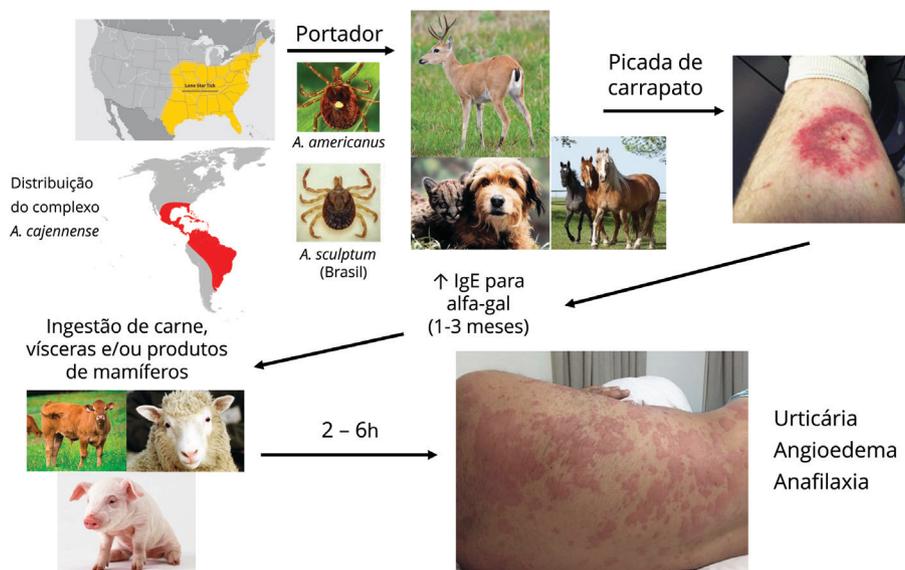


Figura 1 - Resumo da sensibilização a alfa-gal levando a sintomas clínicos de alergia a carne vermelha. A região sudeste dos Estados Unidos é a região onde a maioria dos casos de reações a carne vermelha têm sido relatados. Esta região se sobrepõe com a distribuição do carrapato Lone Star (*Amblyomma americanus*). A hipótese atual é que as pessoas são picadas pelo carrapato Lone Star, carreado por veados em áreas rurais e eventualmente urbanas. Após um certo período de tempo, desenvolvem-se anticorpos IgE anti-alfa-gal. Uma vez que os níveis de IgE anti-alfa-gal atinjam níveis suficientes, a ingestão de carne vermelha pode desencadear reações. Poucos pacientes com reações tardias a ingestão de carne vermelha e sensibilização a alfa-gal foram relatados no Panamá e no Brasil. Na América do Sul, é possível que carrapatos do complexo *Amblyomma cajennense*, que parasitam equinos, cães e eventualmente seres humanos, poderiam constituir o gatilho para sensibilização a alfa-gal e desenvolvimento de sintomas clínicos de alergia a carne, vísceras e produtos de mamíferos não primatas. Adaptado de Steinke e cols.¹

destacar é que várias vacinas de uso comum contêm quantidades conhecidas de gelatina, que é tipicamente derivada de mamíferos. As concentrações mais altas de gelatina têm sido relatadas para MMR e para vacina de vírus vivo atenuado herpes zoster (Zostavax®), sendo que a vacina Zostavax® tem maior impacto no paciente com alergia a alfa-gal. Relatos de casos de reações imediatas a vacina de herpes zoster em pacientes com alergia a alfa-gal têm sido descritos, e constituem razão para a recomendação de retardar ou mesmo contraindicar o uso rotineiro desta vacina em pacientes com IgE para alfa-gal⁸.

Neste número do BJA, Ferreira e cols. fazem uma revisão detalhada dos aspectos epidemiológicos, clínicos e imunológicos da alergia a alfa-gal⁹. Os autores destacam o fato de que os pacientes com anticorpos IgE para alfa-gal podem não apresentar reações em

todas as ingestões de carne de mamíferos, e que alguns pacientes adultos com esta forma de alergia têm sido capazes de tolerar a carne de mamíferos novamente, depois de evitar picadas adicionais de carrapatos durante 1 a 2 anos. Quando a hipersensibilidade a alfa-gal está presente, carne vermelha de todos os mamíferos não primatas deve ser evitada. É importante considerar que, na história natural da alergia a alfa-gal, a resposta de anticorpos IgE parece diminuir ao longo do tempo, levando à menor frequência de reações, ou reações inconsistentes. Um outro aspecto que os autores destacam é a presença do epítipo alfa-gal no leite de mamíferos, de forma que em pacientes com idade superior a 5 anos, que têm uma alergia ao leite de início recente, anticorpos IgE para alfa-gal devem ser considerados como um diagnóstico alternativo a alergia às proteínas do leite⁹.

Em resumo, podemos afirmar que a síndrome de alergia a alfa-gal, clinicamente caracterizada pelo desenvolvimento de urticária, angioedema, sintomas gastrointestinais, e/ou anafilaxia, que pode ser grave, necessitando tratamento em Serviço de Emergência, com sintomas aparecendo entre 3 a 6 horas após a ingestão de carne vermelha (bovina, suína, de caprinos e outros mamíferos) ou de vísceras destes animais, deve ser considerada entre pacientes brasileiros. Esta condição clínica tem por causa o desenvolvimento de resposta IgE ao carboidrato alfa-gal, presente na carne e vísceras de mamíferos não primatas, e há forte evidência de que a sensibilização inicial é induzida por picada de carrapatos das espécies *Amblyomma americanus* (Estados Unidos), *Ixodes ricinus* (Europa), *Ambliomma cajennense* (Panamá) e outras espécies de carrapatos, incluindo possivelmente *Amblyomma sculptum*, espécie pertencente ao complexo *Ambliomma cajennense*, comum no Brasil. Estudo realizado

no Brasil demonstrou a presença do epítipo alfa-gal na saliva de carrapatos da espécie *A. sculptum*, mais frequentemente associada a picadas de carrapatos em caninos e humanos no Brasil e outros países da América do Sul, e revelou em modelo experimental em camundongos *knockout* para alfa-1,3-galactosil-transferase que a saliva deste carrapato induziu uma resposta robusta e consistente de anticorpos IgG e IgE para alfa-gal. Estudos prospectivos em humanos vivendo em áreas e/ou realizando ocupações de maior exposição a carrapatos serão necessários para demonstrar de maneira definitiva a conexão entre picadas de carrapatos, desenvolvimento de resposta IgE a alfa-gal e de anafilaxia tardia a carne vermelha em nosso meio. A Figura 2 resume os principais aspectos para a suspeita clínica de alergia a alfa-gal. Para casos suspeitos, a dosagem de IgE para alfa-gal por método ImmunoCAP está disponível no Brasil (Laboratório Hermes Pardini, fonte: Internet).

Alergia a alfa-gal: quando suspeitar

- Paciente adulto ou criança, com história de urticária, angioedema, sintomas gastrointestinais e/ou anafilaxia, incluindo casos graves com necessidade de tratamento em Serviço de Emergência, 3 a 6 horas após a ingestão de carne vermelha ou vísceras de mamíferos não primatas.
- Sintomas gastrointestinais de início tardio incluindo dor abdominal intensa, tipo cólica, acompanhada de episódio de diarreia, após ingestão de leite de vaca e derivados (sorvete à base de leite de vaca é a mais frequente forma de ingestão relatada).
- Relato de ingestão prévia de carne ou produtos de mamíferos não primatas, em geral por longo tempo, sem reações.
- História de picadas frequentes de carrapatos, particularmente em indivíduos vivendo em área rural e/ou com ocupações em que haja maior exposição a carrapatos.
- Reações imediatas a cetuximab ou a vacinas contendo gelatina de origem bovina (MMR, Zostavax).
- Testes cutâneos de puntura (*prick tests*) com extratos comerciais de carnes negativos ou fracamente positivos. Testes intradérmicos com extratos comerciais e *prick-to-prick* com carnes em geral positivos.
- Presença de anticorpos IgE para alfa-gal por ImmunoCAP.

Figura 2 - Principais aspectos para a suspeita clínica de alergia a alfa-gal

REFERÊNCIAS

1. Steinke JW, Platts-Mills TA, Commins SP. The alpha-gal story: lessons learned from connecting the dots. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(3):589-96.
2. Platts-Mills TA, Schuyler AJ, Hoyt AE, Commins SP. Delayed Anaphylaxis Involving IgE to Galactose-alpha-1,3-galactose. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015;15(4):12.
3. Commins SP, Jerath MR, Cox K, Erickson LD, Platts-Mills T. Delayed anaphylaxis to alpha-gal, an oligosaccharide in mammalian meat. *Allergol Int*. 2016;65(1):16-20.
4. Platts-Mills TA, Schuyler AJ, Tripathi A, Commins SP. Anaphylaxis to the carbohydrate side chain alpha-gal. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015;35(2):247-60.

5. Wickner PG and Commins SP. The first 4 Central American cases of delayed meat allergy with Galactose-Alpha-1,3-Galactose positivity clustered among field biologists in Panama. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(2):AB212.
6. Araujo RN, Franco PF, Rodrigues H, Santos LC, McKay CS, Sanhueza CA, et al. *Amblyomma sculptum* tick saliva: α -Gal identification, antibody response and possible association with red meat allergy in Brazil. *Int J Parasitol*. 2016;46(3):213-20.
7. Commins SP. Invited commentary. Alpha-gal allergy: tip of the iceberg to a pivotal immune response. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2016;16(9):61.
8. CoccoRR, EnsinaLF, ArandaCS, SoléD. Galactose- α -1,3-galactose (alpha gal) allergy without anaphylaxis: a case report in Brazil. Presented at the 4th Food Allergy and Anaphylaxis Meeting FAAM 2016, Rome, Italy. Abstract PP159. Available at www.eaaci-faam.org.
9. Ferreira MD, Piaia Neto L, Ribeiro RG. Alergia a alfa-gal: uma revisão sistemática. *Braz J Allergy Immunol* 2015;3(6):241-50.