



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DE  
**COIMBRA**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA-TRABALHO FINAL

SARA FLORES REGALO

***SINDROME DE ALFA-GAL***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE IMUNOLOGIA CLÍNICA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROF. DOUTOR CELSO PEREIRA<sup>1</sup>  
DR<sup>a</sup> ISABEL CARRAPATOSO<sup>2</sup>

NOVEMBRO/2021



SARA FLORES REGALO <sup>1</sup>

*Trabalho realizado sob a orientação de:*

PROF. DOUTOR CELSO PEREIRA<sup>2</sup>

Dr.<sup>a</sup> ISABEL CARRAPATOSO<sup>3</sup>

1-Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

2-Professor Auxiliar Convidado- Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

3- Assistente Graduada. Imunoalergologia- Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra



# Índice

<i>Índice</i> .....	4
<i>Resumo</i> .....	5
<i>Palavras-Chave</i> .....	6
<i>Síndrome alfa-gal</i> .....	6
<i>Alfa-gal</i> .....	6
<i>Galactose-alfa-1,3-galactose</i> .....	6
<i>Carne</i> .....	6
<i>Carraça</i> .....	6
<i>Abstract</i> .....	7
<i>Keywords</i> .....	8
<i>Figuras e tabelas</i> .....	9
<i>Lista de Abreviaturas</i> .....	11
<i>Introdução</i> .....	13
<i>Materiais e Métodos</i> .....	17
Métodos de Pesquisa.....	18
Critérios de Inclusão e exclusão .....	18
<i>Resultados e Discussão</i> .....	21
Epidemiologia da SAG: um fenómeno Global .....	21
Molécula de $\alpha$ -gal.....	23
Anticorpos anti $\alpha$ -gal .....	25
Fisiopatologia .....	25
A importância do anticorpo IgE na alergia alimentar.....	25
O processo de sensibilização no hospedeiro .....	27
Papel do metabolismo lipídico .....	33
Causas da SAG.....	34
Fatores de risco .....	36
Apresentação clínica.....	38
Critérios de diagnóstico.....	39
Gestão da SAG .....	41
Tratamento médico .....	42
Implicações da SAG.....	43
Vacinas e gelatina.....	43
Heparina e agentes hemostáticos .....	43
Enzimas Pancreáticas e hormonas tiroideias.....	44
Aterosclerose .....	44
Doença inflamatória intestinal .....	46
Válvulas cardíacas biológicas .....	46
Anticorpos e venenos .....	47
Doença de Lyme Sero-negativa .....	47
Há alguma vantagem no desenvolvimento de anticorpos anti- $\alpha$ -gal ?.....	48

<i>Conclusão</i> .....	51
<i>Agradecimentos</i> .....	53
<i>Bibliografia</i> .....	54

## Resumo

A síndrome alfa-gal representa uma nova entidade clínica em expansão identificada há cerca de 10 anos, pelo que subsistem enormes dificuldades no âmbito clínico, nomeadamente o subdiagnóstico e um necessário enquadramento clinico-terapêutico. Os primeiros relatos resultaram de episódios de reações anafiláticas à quimioterapia com um novo fármaco, o *cetuximab*, identificando-se, à posteriori, moléculas IgE contra o oligossacarídeo  $\alpha$ -1,3-galactose ( $\alpha$ -gal). Percebeu-se posteriormente que estas reações ocorriam predominantemente em zonas endémicas de *Amblyomma Americanum* uma espécie de carraça, cujas picadas induziam sensibilização alérgica mediada por IgE para esta molécula. A posterior ingestão de carnes vermelhas ou de alimentos com carnes processadas viria a desenvolver, nestes doentes sensibilizados, clínica de urticária, anafilaxia, ou sintomas gastrointestinais, três a seis horas após ingestão destes alimentos. De facto,  $\alpha$ -gal, é um oligossacarídeo constitucional nas fibras musculares de inúmeros mamíferos, mas inexistente em humanos e primatas superiores, pelo que existe sempre necessidade de intervenção de um vetor (carraça) que torna possível a sensibilização alérgica nos doentes.

Tratando-se de uma síndrome rara, mas com crescente número de relatos e publicação de novos casos, é importante elencar os aspetos mais atuais desta forma clínica emergente possibilitando um diagnóstico mais célere. Para o efeito, foi realizada uma revisão da literatura, utilizando 93 artigos obtidos através de pesquisa da *PubMed* e *Sciencedirect*, e 2 artigos da Revista Portuguesa de Imunoalergologia, com o propósito de reunir de forma sucinta os diversos aspetos clínicos, atendendo aos dados epidemiológicos, aos mecanismos fisiopatogénicos de sensibilização, ao espectro clínico das diferentes formas de manifestações clínicas, aos critérios de diagnóstico, à gestão do doente após diagnóstico, bem como ao tratamento da sintomatologia. Foram também explorados possíveis fatores de risco e cofatores como atopia, grupo sanguíneo, álcool, exercício físico, anti-inflamatórios não esteroides e stress. O microbioma do indivíduo e o da carraça também parecem ter um papel de relevo nesta síndrome.

Atualmente existem várias espécies de carraças que levam à sensibilização à molécula de  $\alpha$ -gal, sendo o fator major de proteção para esta síndrome a evicção de exposição das mesmas. Não existe tratamento para a doença e após sua identificação a melhor forma de prevenção da sintomatologia é o não consumo de carne vermelha, sendo que por vezes é também necessária a evicção de outros derivados como laticínios e caldos. Sabe-se também que deve haver cautela nestes doentes quando submetidos a terapêuticas com medicações ou componentes que possam conter derivados de mamíferos, tais como grandes doses de

heparina, substituição valvular com próteses biológicas, bem como determinadas vacinas, gelatinas, *cetuximab*, enzimas pancreáticas e hormonas tiroideias.

## **Palavras-Chave**

Síndrome alfa-gal

Alfa-gal

Galactose-alfa-1,3-galactose

Carne

Carraça



## Abstract

*Alpha-gal syndrome represents a new expanding clinical entity identified about 10 years ago, which is why enormous difficulties remain in the clinical sphere, namely the underdiagnosis and a necessary clinical-therapeutic framework. The first reports came from episodes of anaphylactic reactions to chemotherapy with a new drug, cetuximab, later identifying IgE molecules against the oligosaccharide  $\alpha$ -1,3-galactose ( $\alpha$ -gal). It was later noticed that these reactions occurred predominantly in endemic areas of *Amblyomma Americanum*, a species of tick, whose bites induced IgE-mediated allergic sensitization to these molecules. The subsequent ingestion of red meat or foods with processed meats would develop, in these sensitized patients, urticaria, anaphylaxis, or gastrointestinal symptoms, three to six hours after the ingestion of these foods. In fact,  $\alpha$ -gal is a constitutional oligosaccharide in the muscle fibers of many mammals, but it is non-existent in humans and higher primates, so there is always the need of the intervention of a vector (tick) that makes the allergic sensitization possible in patients.*

*As this is a rare syndrome, but with a growing number of reports and publication of new cases, it is important to list the most current aspects of this emerging clinical syndrome, enabling a faster diagnosis. For this purpose, a literature review was carried out, using 93 articles obtained through the search of PubMed and Sciencedirect, and 2 articles from the Portuguese Immunoallergy Society Oficial Revue the purpose of succinctly bringing together the various clinical aspects, considering the epidemiological data, the physiopathogenic mechanisms of sensitization, the clinical spectrum of different forms of clinical manifestations, diagnostic criteria, management of the patient after diagnosis, as well as the treatment of symptoms. Possible risk factors and cofactors such as atopy, blood group, alcohol, physical exercise, non-steroidal anti-inflammatory drugs and stress were also explored. The microbiome of the individual and the tick also seem to play an important role in this syndrome.*

*Currently, there are several species of ticks that lead to the sensitization to the  $\alpha$ -gal molecule, the major protective factor for this syndrome being the avoidance of exposure. There is no treatment for the disease and after its identification, the best way to prevent the symptoms is not to consume red meat, and sometimes it is also necessary to avoid other derivatives such as dairy products and broths. It is also known that caution should be cared out in these patients when undergoing therapy with medications or components that may contain mammalian derivatives, such as large doses of heparin, valve replacement with biological prostheses, as well as certain vaccines, gelatins, cetuximab, pancreatic enzymes and thyroid hormones.*

## **Keywords**

*Alpha-gal syndrome*

*Alpha-gal*

*Galactose-alpha-1,3-galactose*

*Tick*

*Meat*

## Figuras e tabelas

Figura 1- Estrutura do <i>Cetuximab</i> (A) e da molécula $\alpha$ -gal (B).....	14
Figura 2- Figuras de carraças associadas a SAG.....	24
Figura 3-Modelo do mecanismo de sensibilização $\alpha$ -gal após picada de carraça .....	29
Figura 4-Causas e fatores de risco ligados ao hospedeiro e carraça passíveis de estarem associados à SAG.....	35
Figura 5- Modelo fisiopatológico proposto para explicar a relação entre a sensibilização por IgE a $\alpha$ -gal e formação das placas de aterosclerose .....	45
Figura 6- Veículos indutores de reação alérgica em doentes com SAG por via oral ou parentérica.....	48
Tabela 1- Critérios de Inclusão e Exclusão .....	19
Tabela 2-Carraças implicadas na SAG nas diferentes partes do mundo.....	22



## Lista de Abreviaturas

$\alpha$ -gal - Galactose- $\alpha$ -1,3-galactose  
 $\alpha$ 1,3GT-  $\alpha$ -1,3-galactosiltransferase  
*Amblyomma Americanum*- *A. Americanum*  
CDF- Células dendríticas foliculares  
FAB- fragmento de ligação do antigénio  
Fc- Fragmento cristalizável  
GT KO-  $\alpha$ -1,3GT-*knockout*  
HDL- Lipoproteínas de alta densidade  
*IFN- $\gamma$* - Interferão gama  
Ig- Imunoglobulina  
IL- Interleucina  
LDL- Lipoproteínas de baixa densidade  
MeSH- *Medical subject headings*  
MYD88- Gene de diferenciação mielóide de resposta primária 88  
PGE2- Prostaglandina E2  
SAG- Síndrome alfa-gal  
Tfh- T *helper* foliculares  
TGF-  $\beta$ - Fator de transformação de crescimento  $\beta$   
Th0- T *helper* 0  
Th1- T *helper* 1  
Th2- T *helper* 2  
TLR- *Toll-Like receptor*  
TNF-  $\alpha$ - Fator de necrose tumoral  $\alpha$   
TSLP- Linfopietina estromal tímica



## Introdução

Ao longo dos últimos dois decénios, tem-se verificado um exponencial progresso científico, nas mais diversas áreas científicas, não sendo naturalmente a Alergologia e a Imunologia Clínica uma exceção. Tal progresso torna ainda mais vital a importância dos artigos de revisão como um aliado do clínico para uma permanente atualização e sistematização do conhecimento científico.

Na Imunoalergologia, as alergias alimentares são uma realidade muito atual com a qual os clínicos se deparam constantemente, sendo uma causa importante de reações de extrema gravidade. No plano conceptual, qualquer tipo de alimento pode ser responsável de reação alérgica, apesar das mais comuns incluírem as proteínas do leite de vaca, proteínas do ovo, peixe, crustáceos, frutos frescos e secos, entre outras.(1) Mais recentemente têm sido documentadas formas emergentes no espectro da alergia alimentar, nomeadamente a Síndrome alfa-gal (SAG), identificada há cerca de 10 anos com conhecimento e registo.(2) Unicamente nos Estados Unidos, o número de casos reportados aumentou de 12 para 34 000, desde a sua identificação até ao ano de 2019.(3) Esta síndrome caracteriza-se por sintomas alérgicos que resultam das respostas de hipersensibilidade imunomediadas a galactose- $\alpha$ -1,3-galactose ( $\alpha$ -gal). Pode ser subdividida em dois fenótipos distintos: a hipersensibilidade que surge após uso de derivados farmacêuticos que tenham na sua constituição  $\alpha$ -gal, ou as reações alérgicas tardias que ocorrem após ingestão oral de carnes vermelhas, a título de exemplo carne de vaca, porco, ovelha e até mesmo búfalo.(4–7) Esta alergia induzida pela picada de carraça foi já reportada em 70 países, demonstrando assim a crescente globalidade desta síndrome.(1)

As primeiras descrições da SAG surgiram no Sudeste dos Estados Unidos, em 2006, com relatos de episódios de reações anafiláticas à quimioterapia, num ensaio clínico, com um novo fármaco para o tratamento do cancro avançado colorretal (estadio IV), cabeça e pescoço, o *cetuximab*. Este anticorpo monoclonal inibe o recetor epidérmico do fator de crescimento -EGFR, tendo sido identificadas, à posteriori, moléculas de Imunoglobulina E (IgE) contra o oligossacarídeo  $\alpha$ -gal nestes doentes. (1,8,9). O *cetuximab* é um fármaco com altas concentrações de epítomos de  $\alpha$ -gal no fragmento de ligação do antigénio (FAB) da cadeia pesada desta molécula (Figura 1).(10) Percebeu-se mais tarde que estas reações ocorriam predominantemente em zonas endémicas de um ectoparasita (carraça), a *Amblyomma Americanum* (*A. Americanum*) cujas picadas induziam sensibilização alérgica mediada por IgE para esta molécula.(1,11–13)

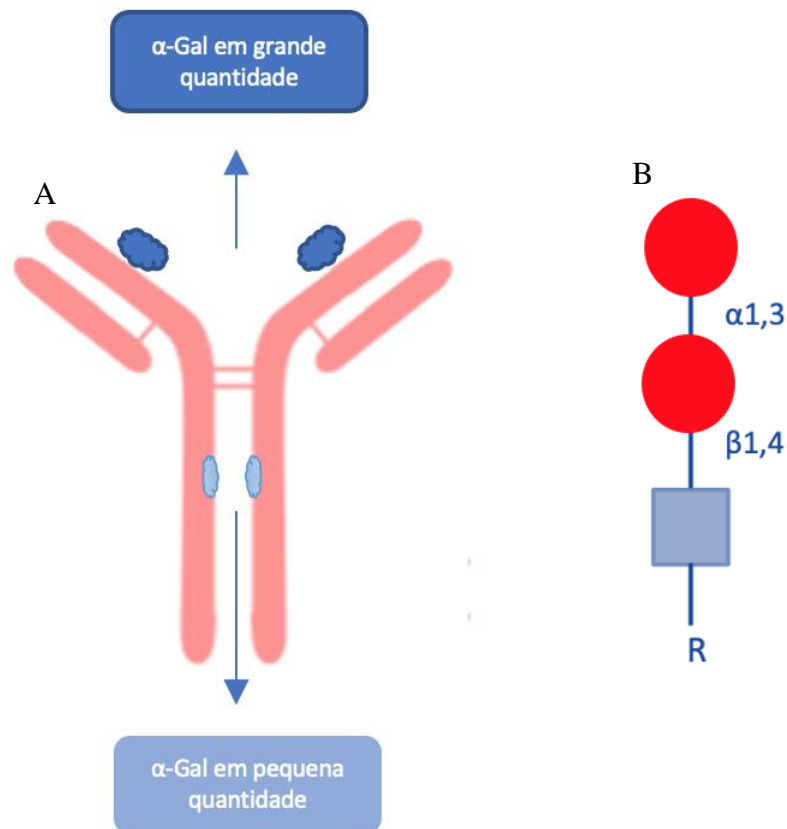


Figura 1- Estrutura do Cetuximab(A) e da molécula  $\alpha$ -gal (B).(14)

A posterior ingestão de carnes vermelhas ou de alimentos com carnes processadas viria a desenvolver, nestes doentes sensibilizados, clínica de urticária, anafilaxia, ou sintomas gastrointestinais, 3 a 6 horas após ingestão destes alimentos. (1,13,15) Esta relação entre a picada de carraça e a SAG foi estabelecida primordialmente na Austrália, uma zona endémica de diferentes tipos de carraças, ainda que não tenha sido logo estabelecida a relação com a  $\alpha$ -gal. A Austrália é dos países com maior percentagem de casos de SAG, estimando-se que a prevalência seja de 1 em cada 550 habitantes de zonas endémicas de carraças. Os casos de SAG na Austrália coincidem com a área endémica da carraça *Ixodes holocyclus*, tendo sido mais recentemente identificada uma nova carraça associada a SAG, a *Ixodes australiensis*.(1,16–18)

As carraças são ectoparasitas totalmente dependentes da hematofagia para sobreviverem, tornando-as assim em potenciais vetores de vírus, bactérias e protozoários. Existem inúmeras doenças que têm na sua etiologia a picada de uma carraça, dada a sua facilidade na transmissão de diferentes tipos de microrganismos, através da introdução da sua saliva com agentes patogénicos no hospedeiro, enquanto se alimentam do sangue do



mesmo. Apenas nos Estados Unidos, segundo o Centro de controle de doenças e infeções, 77% das doenças transmitidas por vetores entre 2004 e 2016, tem na sua génese a picada de diferentes tipos de carraça, enaltecendo assim a importância destes ectoparasitas como causa de diferentes patologias. São exemplos: Encefalite induzida pela carraça, Encefalite causada pelo vírus *Powassan*, a Febre da carraça do Colorado, a Febre hemorrágica de Omsk, Doença de *Lyme*, Febre maculosa das montanhas rochosas, Anaplasmosose e Tularemia. Todas estas doenças têm impacto aos mais diversos níveis, desde logo na perda da qualidade de vida dos indivíduos afetados, até às implicações económicas, relacionadas não só com os custos diretos com tratamentos, mas também com custos relacionados com absentismo laboral. Em países como os Estados Unidos, o investimento monetário ultrapassa os milhões só com a doença de *Lyme*, a entidade mais prevalente provocada pela picada de carraça no hemisfério norte.(1)

Ao contrário da maioria dos antígenos proteicos,  $\alpha$ -gal é o único antígeno proteico que não sofre desnaturação sob ação de temperaturas elevadas, estando associado a reações alérgicas fatais. Trata-se de um oligossacarídeo com um peso molecular de cerca de 37kDa, sendo uma proteína constitucional das fibras musculares de inúmeros mamíferos. Estando ausente em Humanos e primatas superiores, existe sempre a necessidade de intervenção de um vetor (ectoparasita) para induzir a sensibilização alérgica nos doentes. A ausência de  $\alpha$ -gal nos humanos e primatas superiores deve-se ao processo evolutivo das espécies, por mutação *frameshift* do gene *GGTA1* que codifica a molécula  $\alpha$ -1,3-galactosiltransferase ( $\alpha$ 1,3GT). Esta enzima é responsável pela formação de  $\alpha$ -gal, através da transferência de um resíduo de galactose com uma ligação  $\alpha$ -1,3 para a lactosamina terminal em glicoproteínas e glicolípidos. Os vertebrados não mamíferos não expressam, em regra, este oligossacarídeo. Encontra-se ainda  $\alpha$ -gal em protozoários, bactérias, fungos e algas vermelhas. Pensa-se que evolutivamente o gene *GGTA1* não teria qualquer tipo de função e assim a espécie humana deixou de expressar epítomos  $\alpha$  gal.(1,19–21)

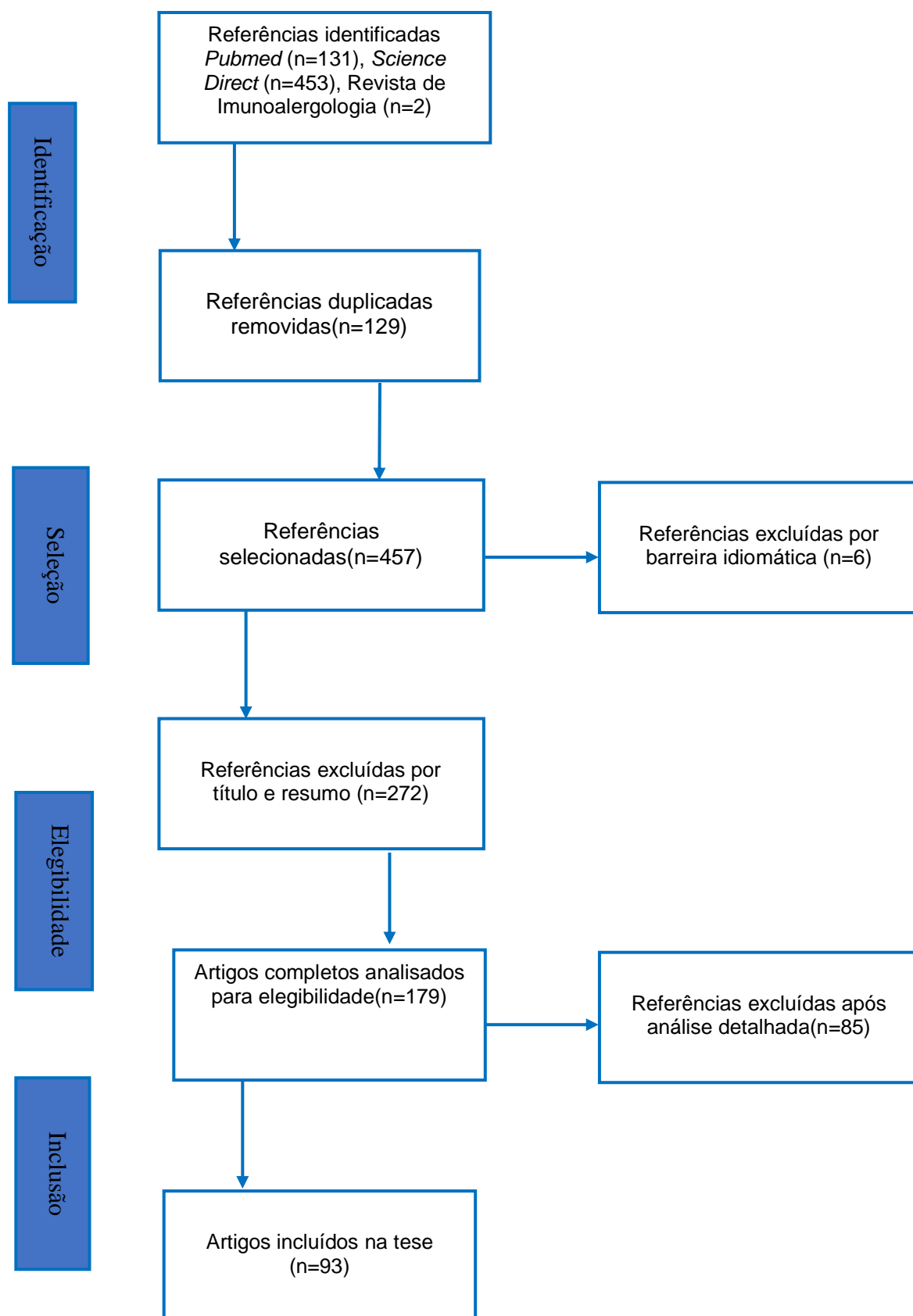
A síndrome  $\alpha$ -gal é a única reação alérgica mediada por IgE contra  $\alpha$ -gal em humanos. Tipicamente as reações alérgicas alimentares são classificadas em reações mediadas por IgE ou mediadas por células. Nas reações mediadas por IgE os sintomas surgem rapidamente, em menos de 30 minutos, após exposição ao antígeno. Em oposição, a SAG pode surgir imediatamente ou tardiamente com uma janela temporal de 2-10 horas após a exposição ao antígeno, ocorrendo tipicamente 3-6 h após o contacto com  $\alpha$ -gal. Esta disparidade temporal tem por base o tipo de antígeno, a sua origem e natureza. Vários estudos têm procurado estudar os mecanismos subjacentes às reações alérgicas tardias ao consumo de carne vermelhas, uma vez que essa é uma das grandes razões para o subdiagnóstico desta síndrome ou diagnósticos muito tardios, podendo mesmo levar a mortes que poderiam ser evitadas se mais diagnósticos fossem feitos atempadamente. Vários

estudos têm indicado que o atraso no início dos sintomas pode estar relacionado com a gordura presente na carne.(3,22–25)

Concomitantemente aos dados supracitados é crucial referir que contrariamente a outras doenças bacterianas ou virais que podem ser prevenidas por vacinação ou antibioterapia não existe à data desta revisão qualquer tratamento para prevenir ou curar a SAG, realçando assim a necessidade urgente de se perceber quais os mecanismos assentes nesta patologia para possibilitar a sua prevenção, diagnóstico precoce e eventualmente com o acumular de conhecimento científico, uma potencial cura, o propósito major da medicina.(4)

Este trabalho tem como objetivo apresentar uma revisão da literatura atendendo aos dados epidemiológicos, aos mecanismos fisiopatogénicos de sensibilização, ao espectro clínico das diferentes formas de manifestações clínicas, aos critérios de diagnóstico, nomeadamente a caracterização molecular e provas de provocação específica e ao conveniente enquadramento destes doentes. Naturalmente, serão descritos os fatores de risco e potenciais comorbilidades que possam influenciar a expressão desta síndrome. Ao longo do trabalho são revistas, ainda, potenciais aplicações clínicas futuras decorrentes da investigação nesta temática.(1)

## Materiais e Métodos



## Métodos de Pesquisa

A pesquisas de artigos utilizou como base de dados, *Pubmed e ScienceDirect*, através da interseção das palavras-chave, *Tick, Meat e Alpha-gal*, todas elas de acordo com a codificação *medical subject headings* (MeSH). Em pesquisa suplementar foram encontrados dois artigos (um artigo de revisão e um estudo caso) na Revista portuguesa de Imunoalergologia que não se encontravam disponíveis na pesquisa das plataformas supracitadas, tendo sido decidida a sua inclusão dada a relevância dos mesmos para uma melhor caracterização da epidemiologia em Portugal.

Inicialmente foi realizada uma avaliação inicial pelo título e resumo dos artigos em que os que não preenchessem os critérios de inclusão, eram excluídos, sendo que após essa primeira seleção, todos os artigos que não eram imediatamente incluídos ou excluídos foram à posteriori submetidos a uma análise rigorosa para decisão. Por fim, alguns dos estudos, ainda que cumprindo todos os critérios de elegibilidade e estando enquadrados na valência clínica de imunoalergologia foram, após análise detalhada, excluídos, por falta de relevo para a temática.

## Critérios de Inclusão e exclusão

Dada a variabilidade nos desenhos de estudo e resultados encontrados ao longo desta pesquisa, não foi realizada uma meta-análise, mas sim um artigo de revisão descritivo e narrativo dos resultados dos diversos artigos. Foram incluídos artigos de pesquisa originais bem como de revisão e estudos de caso dentro da mesma temática. Os critérios de inclusão prenderam-se com: data de publicação entre 1 de Maio de 2009 e 31 de agosto de 2021, nos idiomas inglês ou português. Foram excluídos 4 estudos em que apenas era possível obter para leitura o *abstract*. Também foram rejeitados estudos que apresentavam diversas limitações na apresentação dos resultados, como incongruências na metodologia de estudo. Por fim, alguns dos estudos mesmo cumprindo todos os critérios de elegibilidade foram excluídos, pois apresentavam escasso relevo para a temática.

Tabela 1- Critérios de Inclusão e Exclusão

<b>Critérios de Inclusão</b>	<b>Critérios de Exclusão</b>
Artigo publicado entre 01-05-2009 e 31-08-2021;	Disponibilidade parcial do artigo (apenas <i>abstract</i> disponível);
Conter palavras-chave: <i>alpha-gal syndrome</i> , <i>alpha-gal</i> OR <i>galactose-alpha-1,3-galactose</i> , <i>tick</i> e <i>meat</i>	Ausência de inclusão de palavras-chave ou inclusão parcial destas;
Estudo publicado em inglês ou português;	Barreira linguística n=6, 3 estudos em alemão, 2 em mandarim e 1 em neerlandês;
Estudos publicados na área de Imunoalergologia em Revistas de relevo de língua portuguesa	Estudos referentes a Imunoalergologia cujo conteúdo se manifestou como não relevante para a temática;



## Resultados e Discussão

### Epidemiologia da SAG: um fenómeno Global

O número de casos reportados de SAG tem vindo aumentar globalmente (Tabela 2), com ênfase nas regiões costeiras do sudoeste e leste dos Estados Unidos, o que coincide com a expansão e distribuição da *Amblyomma Americanum*. (1,26) Em áreas endémicas de carraças o nível de sensibilização pode ser de 15-35 %, determinando que 1-8% destes indivíduos desenvolvem SAG, uma vez que sensibilização não significa diretamente SAG.(27) Num decénio o número de casos aumentou abruptamente, sendo que nos Estados unidos, aquando da identificação desta nova síndrome, apenas 12 casos foram oficialmente reportados. Contudo, em 2019 já tinham sido confirmados 34 000 casos. Em 2020, as bases de dados dos Estados Unidos tinham já identificado nas zonas endémicas 3 % da população com SAG, excluindo naturalmente casos não diagnosticados.

No Japão e Coreia do Sul vários estudos apontam para outra carraça como causadora desta Síndrome, a *Haemaphysalis longicornis*, após terem encontrado  $\alpha$ -gal nas glândulas salivares desta carraça. *Amblyomma testudinarum* foi também relacionada como causadora de SAG no Japão.(10,28) Na Suécia, Suíça, Itália, Noruega, e Alemanha, foram identificados vestígios de  $\alpha$ -gal no tubo digestivo de uma carraça, a *Ixodes ricinus*, levantando a suspeita desta ser a causadora da alergia a carne vermelha neste países. Foram comparados os epítomos de  $\alpha$ -gal presentes na carraça *Amblyomma americanum* com os encontrados na *Ixodes ricinus* e apesar dos epítomos das carraças terem semelhanças, têm também características distintas. (1,10,16,17,23,25,29–33) Esta síndrome tem vindo a tornar-se cada vez mais global, e até em vários países africanos foram encontrados anticorpos IgE específicos para  $\alpha$ -gal apesar de apenas 2 casos de alergia a carne vermelha terem sido reportados. (1,34,35) Foram reportados também casos em diversos países como Portugal, Espanha, França, Áustria, Reino Unido e Turquia. (1,26,29,35–43) No Brasil, no estudo desenvolvido por Araujo *et al.* a saliva de *Amblyomma sculptum*, espécie pertencente a *Amblyomma cajennense complex* inoculada em ratinhos  $\alpha$ -1,3GT-*knockout* (GT KO) veio a determinar a produção de IgE específica para alfa-gal.(44) Os mesmos resultados foram obtidos por Choudhary *et al.* Porém, neste trabalho experimental procedeu-se a prova de provocação oral nos ratinhos previamente sensibilizados, demonstrando-se que nestes ratinhos a ingestão de gordura de porco provoca reações mais tardias quando comparado com rim de porco, que sendo rico em glicoproteínas, leva a reações mais imediatas.(45)

Na América Central também foram identificados casos de  $\alpha$ -gal que parecem estar associados a espécies pertencentes a *Amblyomma cajennense complex*. Na Costa Rica e Panamá, a espécie que foi associada a casos de SAG foi a *Amblyomma cajennense*.(1,10)

Outras espécies foram identificadas na América Central e do Sul pertencentes ao género *Ixodes*, não se tendo contudo conseguido ainda estabelecer uma ligação direta aos casos de SAG.(1)

No sul de África, um estudo coorte levado a cabo por Tatenda Murangi *et. al.* procurou a relação da SAG com um helminta, a *Ascaris lumbricoides*. Percebeu-se primeiramente que estas expressavam maiores quantidade de  $\alpha$ -gal do que as carraças endémicas da região, sendo que os doentes apresentam níveis mais elevados de IgE para  $\alpha$ -gal e IgE contra *Amblyomma lumbricoides* comparativamente a controlos saudáveis. Admitiu-se a possibilidade de que este helminta possa levar também à sensibilização de  $\alpha$ -gal em humanos.(46)

É importante realçar que têm sido reportados casos tanto em adultos como em crianças, sem nenhuma preferência por sexo ou idade.(2,39,47,48)

Tabela 2-Carraças implicadas na SAG nas diferentes partes do mundo (10)

País	Carraça
<b>Estados Unidos</b>	<i>Amblyomma Americanum</i>
<b>Austrália</b>	<i>Ixodes holocylus</i> <i>Ixodes australiensis</i>
<b>Japão</b>	<i>Haemaphysalis longicornis</i> <i>Amblyomma testudinarium</i>
<b>Coreia</b>	<i>Haemaphysalis longicornis</i>
<b>Costa Rica</b>	<i>Amblyomma cajennense</i>
<b>Panamá</b>	<i>Amblyomma cajennense</i>
<b>Brasil</b>	<i>Amblyomma sculptum</i>
<b>Suíça</b>	<i>Ixodes ricinus</i>
<b>Suécia</b>	<i>Ixodes ricinus</i>
<b>Noruega</b>	<i>Ixodes ricinus</i>
<b>Espanha</b>	<i>Rhipicephalus bursa</i>
<b>Alemanha</b>	<i>Ixodes ricinus</i>
<b>Itália</b>	<i>Ixodes ricinus</i>



## Molécula de $\alpha$ -gal

Atualmente, o conhecimento científico sustenta que os fragmentos de  $\alpha$ -gal não se encontram somente em glicoproteínas, mas também em glicolípidos (49). Não estão totalmente definidos os processos pelos quais as carrças apresentam  $\alpha$ -gal ao hospedeiro e induzem neste uma resposta imunitária. Admite-se que os antígenos de  $\alpha$ -gal sejam restos de glicoproteínas ou glicolípidos de mamíferos dos quais as carrças se tenham alimentado(1,41) ou mesmo vestígios de DNA de vírus, protozoários ou bactérias que tenham infetado a carrça. Contudo, a evidência científica aponta com mais robustez para que esta molécula tenha produção endógena.(1,4) São evidências nesse sentido o facto de que a primeira vez que foi reportada a existência de  $\alpha$ -gal foi precisamente no tubo digestivo de uma carrça tendo hoje em dia já sido detetados epítomos  $\alpha$ -gal em ovários, glândulas salivares, saliva e intestino de várias espécies associadas à alergia à carne vermelha.(4) Adicionalmente sabe-se que proteínas presentes na saliva ou glândulas salivares e intestino da carrça reagem com soro dos pacientes com SAG e com os anticorpos anti  $\alpha$ -gal. Mateos-Hernández *et al.* levaram a cabo um estudo em 2017 que demonstrou a existência de proteínas de carrça com epítomos  $\alpha$ -gal em células de *Rhipicephalus microplus* BME / CTVM23 e em glândulas salivares de *Hyalomma marginatum*.

Apostovolic *et al.* em 2020 identificaram diversas proteínas com epítomos de  $\alpha$ -gal pertencentes à carrça *Ixodes ricinus*, tal como, vitelogeninas, actina, serpina  $\alpha$  - macroglobulina, lectina e proteínas de transporte.

Ainda se encontra por determinar a forma pela qual *A. americanum* desencadeia o desenvolvimento de IgE específica contra  $\alpha$ -gal em humanos, se seria devido à presença de  $\alpha$ -gal na saliva da carrça ou se por outro lado, as moléculas de IgE sofrem um processo de *class switching* em consequência de uma resposta anti  $\alpha$ -gal após alimentação do ectoparasita. Na tentativa de esclarecimento da origem de  $\alpha$ -gal, Crispell *et al.* realizaram um estudo em que provaram através de técnicas como espectrometria de massa e *western blot*, que existem antígenos de  $\alpha$ -gal nas espécies *A. americanum* e *Ixodes scapularis* mas não em *Amblyomma Maculatum*. Adicionalmente demonstraram que esta expressão dos antígenos de  $\alpha$ -gal na saliva e glândulas salivares é maior quando as carrças *A. americanum* estão parcialmente alimentadas com sangue de hospedeiro. Para esta investigação foram utilizados mamíferos que expressam  $\alpha$ -gal como hospedeiros. Adicionalmente para provar que molécula não era originária do hospedeiro utilizaram também uma membrana de silicone que continha sangue humano, ou seja, sem expressão de  $\alpha$ -gal. No mesmo grupo de investigação, provaram também que os anticorpos  $\alpha$ -gal se ligam aos epítomos  $\alpha$ -galactosil presentes nas glândulas salivares de *A. americanum* (1,50–52)

Um artigo de 2018, revelou a importância de 3 galactosiltransferases na síntese de  $\alpha$ -

gal, através do estudo do genoma de *Ixodes scapularis*. Com o uso de expressão heteróloga de genes e *knockdown* neste parasita, foram identificados 3 genes importantes na síntese de  $\alpha$ -gal, *b4galt7*, *a4galt-1* e *a4galt-2*, que quando ausentes impediam a alimentação da carraça. Ficou, contudo, por esclarecer se as proteínas glicosiladas por estas enzimas podiam levar o hospedeiro à produção de anticorpos anti  $\alpha$ -gal. Concomitantemente houve um aumento dos níveis de  $\alpha$ -gal em resposta à infecção por *Anaplasmas phagocytophilum*, bactéria transmitida pela carraça, sugerindo que esta infecção também contribuiu para a elevação dos níveis de  $\alpha$ -gal.(10)

Em 2021, um artigo de Ranjan Ramasamy *et al.*, levantou a questão da existência de mais enzimas na produção da  $\alpha$ -gal, para além das galactosiltransferases. Estas proteínas com atividade enzimática foram identificadas em 2 vetores de mosquitos, *Anopheles gambiae* e *Ae. Aegypti*, sendo homólogas às 3 proteínas com atividade  $\alpha$ 1,3 GT da carraça *Ixodes scapularis*, mas não similares às presentes dos mamíferos. Assim, estas enzimas emergem como potenciais produtoras de  $\alpha$ -gal, sendo contudo necessária investigação adicional para atestar esse mecanismo patogénico.(53)

Apesar da forte evidência que indicia que  $\alpha$ -gal tem origem nas carraças, não se podem descartar outras hipóteses que indicam outras eventuais fontes alternativas, nomeadamente bactérias transmitidas por estes ectoparasitas como *Anaplasma phagocytophilum* e *Borrelia burgdorferi*, que também expressam  $\alpha$ -gal e deste modo podem aumentar esse teor aquando da picada do ectoparasita no homem.(1,4,10)



Figura 2- Figuras de carraças associadas a SAG.

*Amblyomma Americanum*. Imagem obtida no sítio da internet <https://stock.adobe.com/ie/> (acesso livre sem copyright, a 07/11/2021)

*Ixodes Scapularis*. Imagem obtida no sítio da internet <https://pixabay.com/> (acesso livre sem copyright, a 07/11/2021)

## Anticorpos anti $\alpha$ -gal

Atualmente sabe-se que todos os humanos saudáveis produzem anticorpos IgM e IgG, subsequentes à rejeição aguda de xenoenxertos derivados de porco, uma vez que o maior alvo dos anticorpos humanos contra o porco, são os epitopos  $\alpha$ -gal.(4,19)

Os anticorpos IgG anti- $\alpha$ -gal encontram-se no soro humano numa quantidade aproximada de 30–100-mg/ml. Quando medidos os níveis em recém-nascidos estes apresentam valores bem inferiores aos níveis médios em adultos uma vez que estes permanecem em valores residuais até aos 6 meses de idade, aumentando à *posteriori* ao longo de 2 a 4 anos até atingirem níveis similares aos adultos. Permanece ainda desconhecida a causa e a origem dos antígenos que permitem a elevação destes anticorpos. Uma das razões mais fortemente apontadas está relacionada com a presença de bactérias como *Escherichia*, *Klebsiella*, e *Salmonella* no nosso microbioma intestinal que expressam  $\alpha$ -gal. Assim, a produção destes anticorpos pode permitir o controlo da proliferação microbiana no microbioma intestinal.(1)

Um estudo experimental com cães revelou curiosamente que também estes desenvolvem anticorpos  $\alpha$ -gal quando são expostos a picadas de carraças. Estes resultados são surpreendentes uma vez que os cães expressam naturalmente a molécula de  $\alpha$ -gal. A principal hipótese explicativa para este fenómeno, prende-se com o facto de a molécula de  $\alpha$ -gal juntamente com componentes da saliva, alterem a resposta imune canina, levando-os a desenvolver autoanticorpos. Paralelamente, os anticorpos caninos não reagem com a molécula de  $\alpha$ -gal naturalmente presente nos caninos, isto possivelmente devido a mecanismo de tolerância imunológica similar ao que ocorre em pessoas com o antígeno do tipo B no grupo sanguíneo.(55)

## Fisiopatologia

### A importância do anticorpo IgE na alergia alimentar

No Homem, as células dendríticas constituem um dos elos mais robustos entre o sistema imune inato e o adaptativo. De facto, diferentes recetores *Toll-Like* (*TLR*) são também fundamentais no início da resposta imune adaptativa, através da apresentação do antígeno às células T e ainda auxílio na diferenciação das T *helper* 2 (Th2).(4,10) Estas células parecem ser cruciais na ativação de IgE uma vez que quando na ausência de fatores de transcrição, como *SAT6* ou *GATA3*, determinantes na resposta das células Th2, ocorre uma diminuição dos valores de IgE. Adicionalmente, na ausência de interleucina-4 (IL-4), citocina importante para a diferenciação dos linfócitos T *helper* 0 (Th0) em Th2, verifica-se novamente uma redução de IgE. Estudos mais recentes mostraram também que os linfócitos T *helper*

foliculares (Tfh), produtores de IL-4, preponderantes nos centros germinativos em órgãos linfóides secundários, são necessários para a produção de IgE. Paralelamente, um subtipo raro das células Tfh, foi identificado como produtor de IL-13 sendo concomitantemente indutor de IgE de alta afinidade para alérgenos. (4,30)

A semivida da IgE no soro humano é de apenas 2-3 dias. Contudo, o desenvolvimento de IgE específica para um alérgeno e a sua consequente capacidade para originar alergias alimentares tem o potencial de permanecer durante toda a vida. Para tal é necessária a existência de linfócitos B de memória específicos para o alérgeno, que se estabelecem no momento da sensibilização, levando à produção de IgE, aquando da reexposição ao alérgeno. Estas células são raramente encontradas possivelmente dada a sua localização, quer em doadores saudáveis, atópicos ou mesmo doadores com alergias alimentares, dificultando o seu estudo.

Para melhor compreensão das vias de diferenciação nos linfócitos B até à produção de IgE, um grupo de investigação marcou a molécula de IgE em ratinhos, tendo os autores formulado duas propostas possíveis para esta via de diferenciação. A primeira especula que as células plasmáticas produtoras de IgE advêm da IgE presente nos linfócitos B dos centros germinativos e da IgE das células B de memória que por sua vez derivam diretamente das IgM presentes nas células B *naive*. A segunda hipótese possível é a de que a IgE presente nas células plasmáticas se desenvolve indiretamente por *switch* entre o isótopo das IgG1 presentes nas células B dos centros germinativos com a IgE das células B de memória após a exposição ao antígeno. No entanto, IgE presentes nas células B independentes de centros germinativos também foram observados por mecanismos ainda não compreendidos, reforçando a necessidade de investigação adicional para uma adequada compreensão dos processos de diferenciação das células plasmáticas produtoras de IgE. (4) Há contudo estudos que defendem apenas uma das vias de produção, sugerindo alguns que este reservatório de células IgE se localize em linfócitos B de memória de um isótopo distinto de IgE, como por exemplo IgM ou IgG, ocorrendo a mudança de classe indireta de isótopo em centros germinativos. Tanto em pessoas saudáveis como indivíduos alérgicos, esta mudança indireta de isótopo para IgE parece ser mais prevalente, quando comparada com a troca direta de IgE. (4,56,57) De facto, alguns estudos procederam à análise das sequências dos locais de *switch*, confirmando que algumas linhagens das células são comuns em linfócitos B IgG1 e IgE. Contudo, nem todos os autores são concordantes, uma vez que investigações em pacientes com alergias a ácaros e ao fungo *alternaria alternata* sugerem que a IgE deriva apenas diretamente de IgM. Estas incongruências têm-se revelado de difícil resolução, tanto pela baixa frequência de IgE em circulação, como pela impossibilidade de assistir ao fenómeno de *class switching in vivo*. (4) De modo similar ao estudo supracitado em humanos, em estudos experimentais com ratinhos avaliaram os fragmentos Sy1 dentro das regiões de

troca  $S\mu-S\epsilon$ . A frequência destas regiões de troca  $S\mu-S\epsilon$  contendo fragmentos  $Sy1$  aumentou com a imunização repetida, assim como afinidade dos anticorpos IgE para os antígenos. Estes resultados sugerem assim que foi necessária a troca indireta para a produção de células B contendo IgE. Contudo, estes resultados contrariam um estudo prévio em que ratinhos com defeito em realizar *switching* para IgG1 não apresentaram nenhum déficit na resposta IgE na infecção contra helmintas. É importante referir que há falhas neste último estudo que podem explicar a incongruência, nomeadamente a não aferição da afinidade dos anticorpos IgE bem como a falta de caracterização adicional das IgE produzidas.(4)

As células plasmáticas produtoras de IgE de longa duração são também um ponto crucial da fisiopatologia da doença. Estas permanecem em nichos presentes geralmente na medula óssea, secretando continuamente anticorpos IgG que permanecem durante anos, e de um modo geral segundo diversos artigos, geram-se contra alérgenos alimentares distintos. Adicionalmente, verificou-se também que estas células plasmáticas produtoras de IgE de longa duração resistiram ao tratamento com ciclofosfamida, demonstrando assim que já não faziam parte do ciclo celular. As IgE derivadas das células plasmáticas de longa duração foram usadas com sucesso para provocar anafilaxia em ratinhos, num estudo realizado em 2020, contudo nem todos os artigos similares reportaram o mesmo efeito, muito possivelmente porque se utilizaram diferentes modificações genéticas de IgE e vias distintas de sensibilização.(4)

Do ponto de vista clínico, são várias as evidências de que as células plasmáticas produtoras de IgE de longa duração existem em indivíduos com alergias, uma vez que níveis de IgE contra alérgenos são encontrados cronicamente em doentes com atopia, mesmo quando não estão expostos a este. Concomitantemente vários autores descrevem a transferência de alergia de amendoim, de dador para recetor, aquando de doação de medula óssea, colocando-se a hipótese de a medula óssea de pessoas alérgicas conter células plasmáticas produtoras de IgE de longa duração específicas para o alérgeno. Sabe-se ainda que em pessoas atópicas ocorre depleção, mediada por anticorpos monoclonais, de linfócitos B contendo IgE, mas esta redução não atinge níveis basais, corroborando assim o que anteriormente se descreveu relativamente à existência das células plasmáticas produtoras de IgE de longa duração. Recentemente estas mesmas células foram identificadas em 3 pacientes doadores de medula com alergia a gatos, tendo sido também identificados níveis detetáveis de IgE total e específica para esse alérgeno.(1,4)

## **O processo de sensibilização no hospedeiro**

O processo de sensibilização do hospedeiro após a picada da carraça é um processo complexo e não cabalmente esclarecido. Efetivamente dezenas de estudos experimentais em

ratinhos foram realizados para melhor compreensão deste mecanismo, uma vez que eticamente não é aceitável expor os humanos a picadas de carraças. (1,4)

Jessica L. Chandrasekhar *et al.* levaram a cabo um estudo em que usaram um ratinho *knockout* para o gene  $\alpha$ -1,3-galactosiltransferase e um ratinho selvagem da mesma estirpe. Realizaram repetidas exposições a antígenos de proteínas da *A. Americanum* e injeção de tiroglobulina bovina (contém  $\alpha$ -gal) para se perceber a diferença no comportamento das duas populações de ratinhos. A estirpe selvagem produz epítopos  $\alpha$ -gal e por essa razão não desenvolvem anticorpos contra  $\alpha$ -gal, contrariamente aos ratinhos *GT KO* que produzem anticorpos uma vez que não têm epítopos  $\alpha$ -gal. Após a exposição aos antígenos de carraça, ambos os ratinhos desenvolveram IgE específicos contra proteínas da *A. Americanum*, contudo apenas os ratinhos *GT KO* produziram IgE específico para  $\alpha$ -gal. Paralelamente, as reações cutâneas locais e as respostas de hipersensibilidade foram mais acentuadas nos ratinhos *GT KO*. Estas vias de sensibilização resultaram da exposição cutânea à carraça uma vez que outras vias de exposição não determinaram elevação de IgE. (4,58) Concluiu-se ainda que as exposições a antígenos da carraça estimularam células Tfh e linfócitos B dos centros germinativos de nódulos linfáticos adjacentes à pele. A produção de IgE necessita dos linfócitos Cd4+ uma vez que em ratinhos com redução destes linfócitos, o nível de IgE total e específicos para  $\alpha$ -gal reduziram (modelo proposto na Figura 3). Resultados similares foram obtidos noutro grupo de investigação aquando da injeção de saliva de *Amblyomma sculptum*.(4) No mesmo estudo de Jessica L. Chandrasekhar *et al.*, vários antígenos de proteínas de carraça auxiliaram na produção de IgE, sugerindo que para além da exposição ao antígeno, outros mecanismos são requeridos no processo de sensibilização. Para melhor compreensão de outras moléculas envolvidas, analisaram-se antígenos da *A. Americanum*, sendo que se detetaram ligandos para *TLR2*, *TLR4*, *TLR5* e em menor quantidade para *TLR9*. Todos estes recetores eram sinalizados por uma proteína codificada pelo gene de diferenciação mielóide de resposta primária 88 (*MYD88*). Percebeu-se que a expressão desta proteína era essencial para a resposta IgE aquando da exposição ao antígeno da carraça, uma vez que na sua ausência, a produção total e específica de IgE diminuiu. Adicionalmente, nas células em que ocorre alteração da classe para IgG1, *MyD88* é eliminado nos linfócitos B e ocorre depleção dos níveis de IgE. Em suma, os dados mencionados sustentam a ideia de que os linfócitos B específicos para um alérgeno são estimulados através da via de sinalização dependente de *MYD88*, em centros germinativos, para a produção de IgE, após troca indireta de classe de IgG1 para IgE em linfócitos B.(4,40) Paralelamente à elevação de IgE contra  $\alpha$ -gal, também foram encontrados níveis elevados de IgG1 em doentes com SAG, comparativamente a pessoas saudáveis, corroborando os resultados obtidos em modelos experimentais. (10,30)

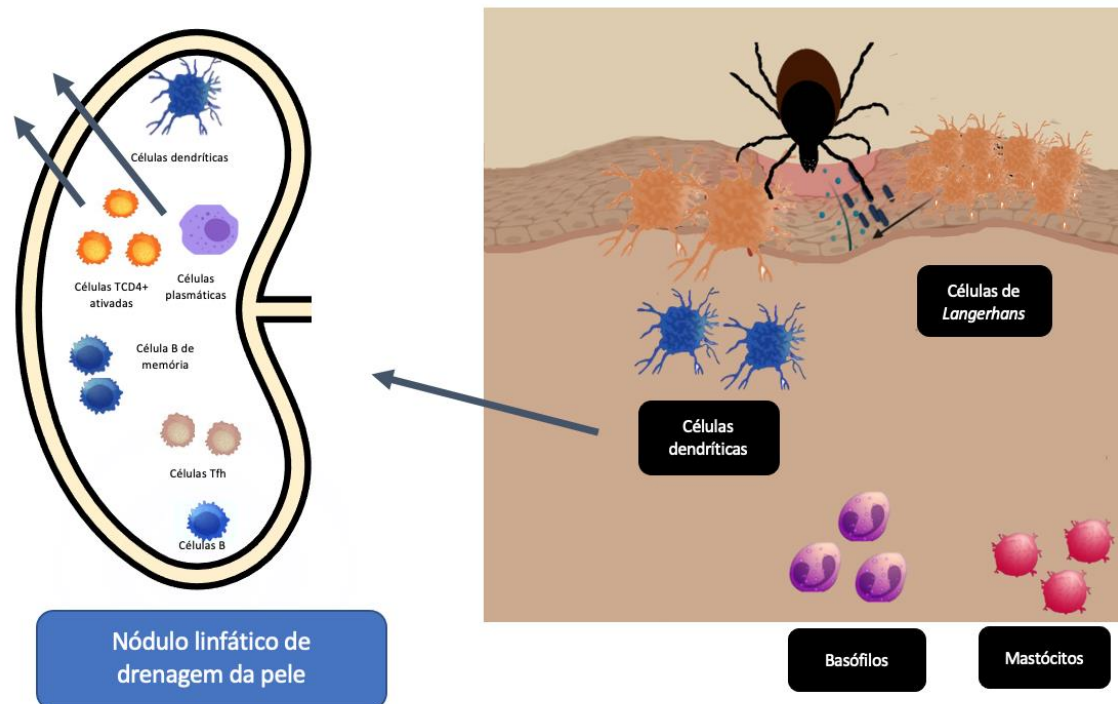


Figura 3-Modelo do mecanismo de sensibilização  $\alpha$ -gal após picada de carraça

As Células apresentadoras de antígenos, como as células de Langerhans e as células dendríticas respondem a antígenos secretados pelas carraças tais como, glicoproteínas e glicolípídeos contendo  $\alpha$ -gal. Após a exposição ao antígeno, as células apresentadoras de antígenos processam o antígeno, migram para os gânglios linfáticos de drenagem da pele iniciando-se assim o processo de sensibilização ao antígeno. Durante este processo, as células T naive são preparadas através da apresentação dos antígenos  $\alpha$ -gal pelas células apresentadoras de antígenos. Conseqüentemente os linfócitos T CD4<sup>+</sup> ativados vão para a pele. As células T helper de memória produzidas pelas Tfh para células B específicas de  $\alpha$ -gal leva a respostas do centro germinativo, bem como seleção de linfócitos B através do reconhecimento de antígenos retidos por células dendríticas foliculares (CDF) e ainda desenvolvimento de linfócitos B de memória e células plasmáticas. Posteriormente os linfócitos B selecionados migram para o local da picada da carraça na pele para estimular a resposta alérgica, apresentando os antígenos aos linfócitos T, libertando citocinas pró-inflamatórias e secretando anticorpos IgE anti  $\alpha$ -gal que desencadeiam ativação de mastócitos, basófilos e a resposta alérgica.(1)

Imagens obtidas pelo autor ou no sítio da internet <https://pixabay.com/>(acesso livre sem copyright, a 09/11/2021)

Como a sinalização por *TLR2*, *TLR4* e *TLR9* parecem ter efeitos modeladores no sistema imunitário, os autores consideram possível que estes recetores da *A. Americanum* ativem moléculas que irão exercer efeitos adversos no hospedeiro, promovendo inflamação

cutânea no local da picada da carraça. Este evento pode assim ajudar na ativação de linfócitos B específicos para  $\alpha$ -gal pré-existentes e conduzir à sensibilização de antígenos da carraça. Apesar de ainda não se poder considerar esta ilação como totalmente comprovada, estes estudos parecem sustentar este mecanismo. Esta hipótese também é sustentada pelo facto de vários alérgenos já conhecidos terem ligandos *TLR* e ativarem sinalização *MyD88*. Paralelamente há indícios de que recetores da família de IL-1 utilizam também sinalizações por intermédio de *MyD88*, sendo por isso também importante incluir estes recetores em investigações futuras para se avaliar a sua contribuição na sensibilização alérgica.(4,40)

Cretin *et al.* desenvolveram um estudo em que os ratinhos *GT KO* tratados com anticorpos anti-CD40L, os quais inibem a maturação dos linfócitos B dependentes dos linfócitos T e o processo *de class switching*. Nestes ratinhos a produção de IgE específica para  $\alpha$ -gal não ocorreu sustentando o contributo fulcral das células T na SAG. (20)

Em 2020, um grupo de investigadores incidiu a investigação experimental com outro modelo *Danio rerio* (peixe-zebra), que tal como os humanos não expressa  $\alpha$ -gal e produz igualmente IgM específico para  $\alpha$ -gal. Comprovaram que reações alérgicas ao consumo da carne vermelha só aconteciam nos peixe-zebra previamente expostos à saliva de carraça, envolvendo *TLR* nos linfócitos *T helper 1* (Th1) e Th2. Este estudo suportou assim os mecanismos já conhecidos envolvidos na SAG e perspetivando novas vias de investigação para outros potenciais mecanismos. (59,60)

No epitélio, quer células epiteliais quer as células imunes inatas têm a capacidade de induzir a produção de citocinas, como linfopoiétina estromal tímica (*TSLP*), IL-33, IL-25, que favorecem a resposta das células Th2. (1,61,62) Após a picada da carraça, o evento que aparenta ser fundamental para o desenvolvimento de SAG é a modulação de linfócitos Th1 para Th2. Pensa-se que este evento seja induzido pela saliva da carraça, uma vez que na presença de linfócitos Th1 as proteínas inoculadas pelas carraças seriam delimitadas por citocinas induzidas por estas células. Assim na presença de saliva de carraça, tanto as células T CD4+ humanas como as de ratinho libertam citocinas de linfócitos Th2, como IL-4 e IL-13, e redução do interferão gama (*IFN- $\gamma$* ), citocina libertada por Th1.(1,4,19) Aquando da disrupção do epitélio da pele do hospedeiro, há a necessidade de cicatrização, na qual há participação ativa dos macrófagos M2 que levam a uma supressão da inflamação através do aumento de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 ou *TGF- $\beta$*  (fator de transformação de crescimento  $\beta$ ), diminuindo assim também resposta dos linfócitos Th1. Adicionalmente há uma ação inibitória sobre citocinas pró inflamatórias, tais como IL-1, ativadas por moléculas salivares, acentuando assim a ação de Macrófagos M2 que conseqüentemente frenam atividade Th1 e iniciam atividade Th2 no sistema imunitário do hospedeiro.(1,10) Concomitantemente outros conteúdos salivares são libertados, como prostaglandinas E2 (*PGE2*), esfingomielinase e inibidores de proteases de cisteína.(1,57,62) Estas moléculas



parecem ter também influência nas células TCD4+, levando-as a atuar sobre as células apresentadoras de antígeno de modo a criar um ambiente de citocinas favorável ao aumento das células Th2, suprimindo em simultâneo a diferenciação Th1. Paralelamente, as mesmas moléculas, com especial ênfase na *PGE2*, podem atuar diretamente nos linfócitos B, levando-os a potenciar o efeito de *class switching*, aumentando a produção de IgE pelos linfócitos B. Estes factos são alicerçados em investigações em ratinhos que mostraram que há um aumento da produção de IgE quando são colocados sob ação de uma *PGE2*. (1,4,40,53,57) Em ratinhos também se verificou que aquando da picada de carraça há um aumento de *TGF-β* e gradual incremento de IL-10, IL-4, bem como aumento da resposta Th2. Por fim, há ainda a referir que durante a alimentação da carraça há expressão diferencial de moléculas salivares com o propósito de reduzir citocinas pro-inflamatórias, como IL-1, IL-2 ou *TNF-α* (fator de necrose tumoral α) e produção de mediadores anti-inflamatórios.(1) Adicionalmente, também foi referido em artigos anteriores, que as carraças durante a sua alimentação mudam o padrão de glicosilação. (4,52)

Todos os eventos supracitados levam à manutenção de uma resposta preponderante em células Th2, contribuindo assim para se estabelecer a SAG. Contudo é importante referir que respostas Th1 e Th2 não polarizadas ou mistas também foram observadas aquando da picada de carraça. Estas diferenças podem ser explicadas pelas diferentes espécies envolvidas, bem como pelo diferente microbioma, ou ainda variações na própria alimentação dos ectoparasitas. As estruturas linfoides terciárias têm também um papel de relevo nesta alergia muito peculiar. É neste local que ocorrem as interações entre as células B e T da pele, quando há inflamação crónica. Quando estas estruturas são maduras formam centros germinativos, facilitando a função dos linfócitos B, favorecendo um ambiente inflamatório local, havendo um incremento na produção de anticorpos patogénicos e ativação das células T.(4)

Um estudo realizado em Viena com *Toxocara canis*, agente responsável pela toxoplasmose em cães, sugeriu que este pode induzir supressão da resposta IgE contra α-gal, através da regulação da resposta Th2, porém serão necessários estudos adicionais para corroborarem estes resultados. (63)

De um modo geral, após a picada da carraça no hospedeiro pelo hipóstomo, há uma disrupção da barreira epitelial e inicia-se a resposta hemostática, ou seja, começa o processo de coagulação sanguínea, agregação plaquetar e posterior vasoconstrição. Para tal há ativação dos queratócitos, de células endoteliais, e leucócitos locais. Estes determinam a libertação de péptidos antimicrobianos, citocinas pró inflamatórias e citocinas como o *TNF-α*, IL-1 e IL-8 que por sua vez recrutam inúmeras células inflamatórias nomeadamente neutrófilos. Em paralelo, há ativação das células B e T, o que leva a um incremento da resposta inflamatória através da libertação de mais citocinas e produção de anticorpos contra

a carraça, que por sua vez leva a sensibilização dos basófilos e mastócitos bem como à ativação do sistema do complemento.(1,30,49) Sabe-se que os mastócitos têm um papel importante na inflamação crónica em alergias e na imunidade protetora contra parasitas.(10,49,61) Na resposta imune contra a carraça, foi demonstrado que estes são recrutados para a pele no local de uma segunda picada, libertando fatores que atuam no sentido de limitar os eventos subsequentes à picada da carraça. Relativamente aos basófilos, estes são granulócitos que expressam tal como os mastócitos, recetores de alta afinidade para IgE, FcεRI, que após ativação desgranulam e libertam histamina assim como outros mediadores. Estão também por isso naturalmente implicados na SAG, sendo que IgG1 parece ter um papel na resposta destes. Estudos sugeriram que os basófilos são capazes de atuar como células apresentadoras de antigénios, com produção de IL-4, possibilitando a indução de respostas Th2 e promoverem o desenvolvimento de alergia alimentar mediada por IgE.(10,30)

Num estudo realizado em modelos animais, nomeadamente ratinhos, recetores de *CCR6* foram expressos por linfócitos B, após picada de carraça. Esta expressão em linfócitos B da pele, estava também presente nos gânglios linfáticos e nas placas de *Peyer* do intestino. A expressão de *CCR6* nos linfócitos B está associada à migração destes para as placas de *Peyer* e consequente ativação por antigénios intestinais, bem como migração destes linfócitos B dos gânglios de drenagem da pele para a pele. Estes dados sugerem assim que os linfócitos B expressando *CCR6* específicos para os antigénios da carraça, maturam nos gânglios de drenagem antes da migração para a pele ou intestino, onde vão contactar com a α-gal e vir a secretar IgE. Esta premissa está a ser alvo de estudos uma vez que se houver sucesso em interromper a inflamação da pele, a produção de IgE específica para α-gal pode consequentemente ser impedida, e assim diminuir a incidência de alergia à carne vermelha.(4) Num estudo distinto realizado na Universidade de Virgínia, percebeu-se que os pacientes com SAG apresentavam número elevado de 4 tipos de linfócitos B quando comparados com pacientes sem SAG. Todo o conjunto de células apresentava altos níveis de expressão de *CCR6* e quando estimuladas *in vitro* para a produção de anticorpos, ocorreu *class switching* com produção de IgE específico para α-gal, apenas no grupo de células de pacientes com SAG. Este grupo de linfócitos B, pode expressar células de memória deficientes em CD27, recetor este fundamental à diferenciação em células produtoras de IgE. (1,5)

A IgE total e específica para α-gal tem um aumento progressivo ao longo do tempo em pacientes com SAG logo após a ingestão de carne vermelha, como se comprovou num estudo que mediu a IgE sérica num individuo com SAG ao 5º, 14º e 35º dia após a refeição com derivados de mamíferos. Estas ilações indicam-nos que IgE específica para α-gal é rapidamente induzida após a picada da carraça, sugerindo uma ligação entre a exposição cutânea e respetivos sinais inflamatórios, com ativação de linfócitos B específicos para α-gal

pré-existentes em doentes com SAG. Com base nestas conclusões, é possível que exista um grupo de linfócitos B associados à pele do hospedeiro no local da picada que seja determinante na SAG, através da produção de IgE. Considera-se, pois, determinante que novas linhas de investigação venham a centrar-se em células B locais, eventualmente vetores nucleares na SAG.(4)

A carraça necessita de um mecanismo que mantenha a alimentação continua e ininterrupta no hospedeiro. Assim, é fundamental que evite a ativação do sistema imunitário do hospedeiro e sabe-se que para tal secreta um complexo de moléculas como vasodilatadores, inibidores da agregação plaquetar, moléculas que inibem a cascata de coagulação sanguínea, com o propósito de reduzirem a dor e comichão no hospedeiro. (1) Sabe-se, por exemplo, que a *Rhipicephalus appendiculatis* previne a inflamação do hospedeiro ao prejudicar a secreção e função de certos mediadores como a histamina. (4) Adicionalmente, os ectoparasitas envolvidos nesta alergia alimentar libertam moléculas que tem como objetivo a redução da libertação de moléculas pró inflamatórias como TNF-  $\alpha$ , IL-12 bem como moléculas anti- inflamatórias como IL-10 e TGF-  $\beta$ .(1) *Rhipicephalus sanguineus* contém moléculas na saliva que inibe a migração das células dendríticas para dentro e fora da pele reduzindo assim a apresentação dos antígenos às células T nos gânglios linfáticos. Em paralelo, a saliva da *Ixodes ricinus*, carraça predominante em ambiente montanhoso, tem na sua composição proteínas da classe das lipocalinas que inibem a resposta inflamatória do hospedeiro no local da picada, através da diminuição da atividade e número de neutrófilos. Percebeu-se também que ratinhos que tinham sido picados por *Ixodes scapularis*, tinham no local da picada um aumento da expressão de moléculas anti-inflamatórias, como IL-10, *SOCS1*, *SOCS3* e *FOXP3*. Contudo, após 12 horas, há aumento da resposta inflamatória com aumento da transcrição de *L1 $\beta$* , IL-6, *CCL2*, *CCL*, que facilitam assim o recrutamento de neutrófilos, desgranulação de mastócitos e necrose muscular no local da picada. É, contudo, importante referir que dentro das espécies mencionadas, apenas *Ixodes ricinus* está intrinsecamente associada a alergia a carne vermelha.(4,30,40)

### **Papel do metabolismo lipídico**

O aparecimento tardio de sintomas na SAG poderá estar relacionado com as partículas de  $\alpha$ -gal ligadas a glicolípidos. Como se sabe, duas horas após a ingestão de lípidos estes circulam na forma de quilomicrons, sendo posteriormente convertidos em lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL). Estas moléculas têm a grande particularidade de conseguirem atravessar tanto a pele como a parede dos vasos sanguíneos podendo assim ativar os mastócitos em ambos os locais, havendo também um

atraso no aparecimento dos glicolípidos associados a  $\alpha$ -gal, devido ao metabolismo natural dos lípidos. A hipótese de que o aparecimento tardio de sintomas se relaciona com as partículas de  $\alpha$ -gal inseridas em glicolípidos, é apoiada não só pelo facto de carnes com menos lípidos como carne de veado darem origem a menos sintomatologia, como também pelo facto de os basófilos terem recetores para LDL e HDL bem como nas implicações da SAG na aterosclerose. (9,13,16,22,61,64–66) Todo o processo de digestão, absorção, transporte e posterior apresentação ao sistema imunitário da carne, bem como alterações ao metabolismo lipídico, podem alterar ainda o *timing* de aparecimento dos sintomas da SAG.(1)

## Causas da SAG

Apenas uma pequena porção de carraças é capaz de induzir SAG considerando-se existirem fatores intrínsecos e extrínsecos inerentes aos ectoparasitas patogénicos. Alguns dos principais fatores intrínsecos são o microbioma, o status da maquinaria de glicosilação e todo o seu comportamento alimentar. Uma carraça ao alimentar-se, secreta no hospedeiro saliva que contém diversos antigénios. No processo de alimentação é inegável que há um trauma na pele do hospedeiro determinando disbiose da pele e facilitando ao mesmo tempo a incorporação do microbioma da própria carraça. Muitas são as lacunas do papel exato e mecanismos do microbioma da carraça no SAG, no entanto é sabido que algumas das bactérias que integram o microbioma da carraça têm na sua constituição  $\alpha$ 1,3GT, enzima crucial na síntese de  $\alpha$ -gal. Alguns dos exemplos destas bactérias são da família *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* como é o caso da *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Rizobiaceae* e *Caulobacteriaceae*. Deste modo, vários estudos sugerem que a presença deste microbioma é importante para a presença de  $\alpha$ -gal nas carraças, tornando-se indubitavelmente uma área de investigação futura, podendo a sequenciação do genoma e transcriptoma da carraça vir a permitir uma melhor compreensão deste fator presumivelmente importante no processo de sensibilização no hospedeiro.(1,4) Em contrapartida, os fatores extrínsecos são a distribuição geográfica e a própria interação com o predador. Sem dúvida que o conhecimento da distribuição geográfica das carraças pode ser benéfico para avaliar o risco de desenvolver SAG em cada local, sendo que todos os estudos nesta área devem ter em atenção que a distribuição das carraças é versátil e sempre influenciada por fatores ambientais.(1)

Foi levada a cabo investigação para se perceber o motivo de algumas espécies de carraças terem na sua saliva o epitopo  $\alpha$ -gal enquanto outras não. Uma das causas que se pensa estar subjacente a esta diferença, assenta no diferente equipamento de glicosilação de cada carraça, tendo sido encontradas diferenças no perfil de N-glicina, entre uma espécie que está implícita no SAG, *A. americanum*, em comparação a uma espécie sem comprovação de

indução de SAG, *Amblyomma maculatum*. No mesmo artigo, demonstrou-se que a capacidade das carrças de diferentes espécies induzirem sensibilização é distinta.(1)

Para o estudo das causas e fatores de risco da SAG é sem dúvida crucial olhar para outras doenças induzidas por carrças. Vários autores descreveram que a doença de *Lyme* estava associada a um diferente comportamento de uma carrça, consoante latitude e local em que se encontravam, e isso influenciava diretamente o aparecimento ou não da doença. (1) Do mesmo modo, várias publicações mostraram como é que o ambiente das carrças pode afetar SAG. Wilson *et al.* descreveram que há uma relação negativa entre os casos de SAG e a população total de formiga do fogo, predadora da *A. americanum*, demonstrando que alterações no ecossistema podem afetar o número de casos de SAG. (67) Sabe-se também que a expansão da *A. Americanum* para novas áreas geográficas pode estar associada ao aumento de casos em regiões previamente sem casos reportados. Esta expansão pensa-se que está associada a um aumento e expansão na população de veados decorrente de alterações climáticas(1,4), em que as carrças passariam a ter condições para sobreviver a situações adversas mais facilmente através da manipulação da expressão de moléculas moduladoras de *stress*. (1) Sabe-se também que a distribuição das carrças está intimamente relacionada com a vegetação, o clima e a sustentabilidade do habitat. (10) Em relação à temperatura ambiental, estudos demonstram que as carrças *A. Americanum* em temperaturas mais baixas sobrevivem, mas não é o local de eleição para reprodução das mesmas, contudo com o aumento médio da temperatura estas podem passar a deslocar-se para o norte dos Estados Unidos e não ficarem apenas pelo Sudeste, Centro e Oeste, a zona atualmente considerada endémica. (68)

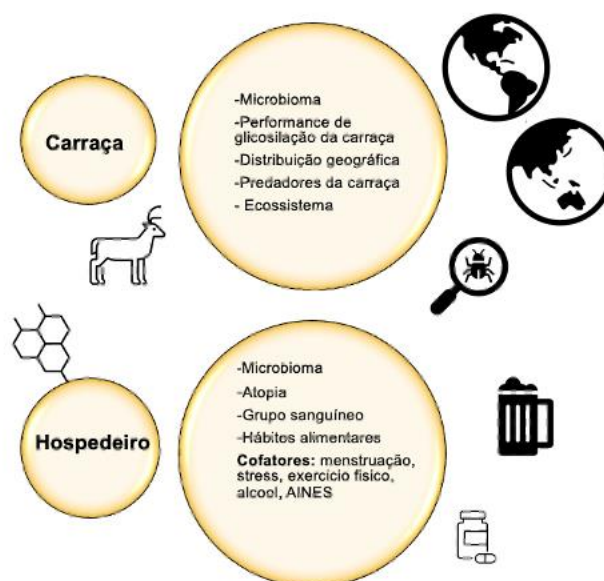


Figura 4-Causas e fatores de risco ligados ao hospedeiro e carrça passíveis de estarem associados à SAG.(1)

## Fatores de risco

Naturalmente não são conhecidos todos os fatores e condições que permitam a possibilidade de evolução clínica para SAG, contudo está bem estabelecido que o fator major de risco para o estabelecimento desta síndrome é a exposição contínua a carraças. No entanto, existem indivíduos com níveis elevados de IgE para  $\alpha$ -gal, que não desenvolvem a síndrome, tornando-se então evidente a necessidade de maior investigação para a identificação de outros fatores de risco.(16)

Dos parâmetros que têm sido apontados como diferenciadores na apresentação clínica entre indivíduos, temos primeiramente fatores genéticos como atopia e grupo sanguíneo. Relativamente ao grupo sanguíneo os dados são controversos, sendo que em 2010 um estudo apontou o grupo sanguíneo B ou AB como sendo protetor de SAG, estando relacionado com o facto do antigénio do grupo sanguíneo B ou AB partilhar diversas semelhanças estruturais com a molécula de  $\alpha$ -gal. (19,51) Um estudo ainda mais atual, publicado em 2018, corroborou que os indivíduos portadores do grupo sanguíneo tipo B ou AB, porque expressam antigénio B, apesar de desenvolverem reações de sensibilização a  $\alpha$ -Gal, a gravidade dos sintomas, o grau de sensibilização e a probabilidade de desenvolver clínica é consideravelmente menor. Isto acontece porque os indivíduos com antigénio B produzem níveis mais baixos de IgE específica para  $\alpha$ -Gal, com respostas Th2 menos eficientes. (4,35,57,69) Contudo em 2013, na Suécia, estudaram-se 39 indivíduos com SAG, e foram os doentes com grupo sanguíneo B os mais afetados pois apenas 2 dos doentes não pertenciam a este tipo sanguíneo. (1,70) Apesar de tudo, estes dados na sua globalidade parecem conferir aos indivíduos dos grupos sanguíneos B/AB um papel protetor uma vez que na grande maioria os estudos apontam para este facto, ainda que mais investigação com amostras mais alargadas serão fundamentais para se definir com exatidão qual o papel dos grupos sanguíneos tipo B/AB.(8)

Outro fator importante a considerar na SAG é a predisposição genética relacionada com a atopia. Pessoas com atopia desenvolvem com mais frequência hipersensibilidade tipo 1, com produção excessiva de IgE contra alérgenos comuns, como ácaros e alguns alimentos.(71) Com base neste facto vários estudos tentaram perceber a relação da atopia com SAG. Em 2014, Gonzalez-Quintela *et al.* levaram a cabo uma investigação demonstrando um aumento nos níveis de IgE anti  $\alpha$ -gal em indivíduos atópicos, mas que concomitantemente coabitavam com gatos. A possível explicação dos autores prendia-se com o facto do epítipo  $\alpha$ -gal estar presente em IgA de gato e no próprio pelo, bem como em IgM circulante. De facto, indivíduos atópicos são obviamente mais suscetíveis a sensibilização a alérgenos e, portanto, poderia ser este o mecanismo pela qual doentes expostos a gatos aumentavam a sua predisposição para SAG. No entanto, pode também existir aqui um fator confusional

relacionado com os parasitas presentes em gatos, visto que estes parecem estar associados também ao aumento dos níveis de IgE para  $\alpha$ -gal.(72) Por outro lado um estudo de 2012 não encontrou qualquer relação entre SAG e atopia, tendo este facto sido confirmado por um artigo em 2019 que reafirmou que SAG não está relacionado com atopia, pois esta síndrome desenvolve-se maioritariamente em indivíduos não atópicos.(10,22,25,73) Assim, em conjunto estes dados, reforçam mais uma vez a necessidade da realização de estudos epidemiológicos com amostras alargadas, tanto mais que as doenças alérgicas estão em forte incremento em todas as sociedades.(1,72)

Uma área que tem sido amplamente alvo de investigação é o microbioma, sendo que várias publicações sustentam que a presença de distintas estirpes na barreira cutânea é crucial para a proteção contra reações alérgicas e prevenção de doença. Deste modo todos os potenciais fatores que determinam disbiose devem ser claramente equacionados.

A disbiose está claramente associada a alergia alimentar. Tal ligação atualmente ainda não se encontra devidamente compreendida, existindo, contudo, duas hipóteses. A primeira afirma que este facto se deve ao incremento de diferentes populações bacterianas como consequência do desequilíbrio do microbioma facilitando a sensibilização a alérgenos alimentares. A segunda hipótese prende-se com o facto de haver uma objetiva perda de tolerância aos próprios alérgenos pela produção acrescida de ácidos gordos de cadeia livre.

O crescente aumento de casos da SAG tem-se verificado em países com maior número de casos de alergias a alimentos. Este facto parece ser explicado com base na hipótese da higiene que assenta no facto de a exposição a alérgenos ou a microrganismos presentes no ambiente em estadios iniciais da nossa vida reduzem o risco de alergias no futuro. Assim várias publicações sustentam que esta hipótese está ligada ao desenvolvimento de alergias alimentares especialmente em crianças com atopia, expondo assim uma eventual diferença entre as restantes alergias alimentares e o SAG, pois como descrito previamente, não aparenta existir relação entre atopia e SAG. Por isso mais uma vez não é possível refutar ou concordar com a hipótese da higiene mas sim realçar a absoluta necessidade de novas linhas de investigação que permitam um esclarecimento cabal destes dados aparentemente divergentes e contraditórios.(1)

Um estudo levado a cabo por Fischer *et al.* em 2016 teve como objetivo analisar as reações anafiláticas tardias em pacientes que comiam carnes de porco, veado, ovelha e vaca. As frequências das reações tardias eram efetivamente variáveis dependendo da carne ingerida, sendo que a carne de vaca tinha a maior frequência de taxa de reação anafilática tardia, 53%, a carne de porco 47%, e em menor proporção, a carne de ovelha com 9.1% e a de veado 7.3%. Uma das razões apontadas para tal variação assenta na quantidade de epítopo de  $\alpha$ -gal e de lípidos. Adicionalmente contribui a composição bioquímica da carne, o seu processamento, bem como a sua ingestão e absorção.(1,13) Não se pode também

atualmente excluir cofatores que diversos estudos tem apontados como importantes , como o álcool, anti-inflamatórios não esteroides, exercício físico, *stress* e mesmo a menstruação, que parecem estar relacionados com a evolução do quadro clínico de  $\alpha$ -gal, através da provável facilitação da entrada da molécula, incremento da absorção intestinal e da circulação sanguínea de  $\alpha$ -gal.(10,22,27,74)

## Apresentação clínica

Há uma enorme variabilidade de expressão clínica nesta síndrome, desde angioedema, urticária, prurido, náuseas, taquicardia, taquipneia, vômitos, dor ou desconforto abdominal até situações mais graves como anafilaxia. A urticária é o sintoma mais reportado pelos doentes sendo em regra precedida de prurido orofaríngeo e edema dos lábios e mucosas orais. Em regra, os sintomas surgem 3-6 horas após o consumo da carne.(1,4,10,16,29,30,75) Contudo podem ser mais rápidos quando são ingeridas maiores doses de carne ou a ingestão se dá de forma cumulativa, especialmente vísceras como rim de porco, que parecem ter na sua constituição maior quantidade de  $\alpha$ -gal.(76,77) Concomitantemente, indivíduos com IgE específica para  $\alpha$ -gal, podem também desenvolver a mesma sintomatologia após exposição a medicamentos e dispositivos médicos derivados de células ou tecidos de mamíferos com resíduos  $\alpha$ -gal, como por exemplo, válvulas cardíacas, enzimas pancreáticas e expansores de plasma baseados em gelatina, sendo por norma estas reações mais rápidas do que as que resultam da ingestão alimentar de derivados de mamíferos.(4,27)

Apesar da diversidade de sintomas, 85 % dos doentes apresentam um quadro clínico com as seguintes características: (a) início de SAG na idade adulta após anos de consumo de carne vermelha sem qualquer intercorrência; (b) reações que se iniciam 3 a 8 horas após consumo de carne de mamíferos não primatas (ou laticínios, gelatina ou outros derivados de mamíferos) (c) sintomas desde urticária local, prurido, angioedema, anafilaxia; (d) IgE para  $\alpha$ -gal positivo (>0.1 IU/mL); (e) doentes com preponderância em sintomas gastrointestinais como diarreia, cólicas, náuseas, diarreia, azia e vômitos;(27,51) (f) melhoria dos sintomas quando realizam uma dieta de evicção de carne; (g) história pessoal de reações locais a picadas de ectoparasitas, muitas vezes descritas como diferentes das anteriores, e de maior gravidade. É importante realçar que apesar destes sintomas serem comuns na maioria dos doentes, há doentes em que a apresentação clínica é distinta. A título de exemplo, existem aqueles que referem início de sintomas antes das 3 horas após o contacto, bem como indivíduos que não relatam qualquer história prévia de picada de carraça.(27)

Aproximadamente 3 % dos doentes referem sintomas consistentes com síndrome de ativação de mastócitos, tendo muito possivelmente como causa as substâncias libertadoras



de mastócitos, presentes na saliva da carraça ou o incremento dos valores de IgE total, aumentando conseqüentemente a reatividade mastocitária. Adicionalmente, o aparecimento durante 3 semanas de células plasmáticas libertadoras de IgE pode explicar a clínica de urticária e os sintomas de ativação mastocitária. (27,35)

Um estudo retrospectivo, realizado com centenas de doentes seguidos em consulta de gastroenterologia, mostrou que em 32.3 % (359) ocorria um quadro clínico de dor abdominal inexplicada, diarreia, náuseas, ou vômitos na presença de IgE específica para  $\alpha$ -gal positivo. Do universo de 122 doentes (237 foram excluídos por não terem dados de seguimento), 82 % melhoraram com uma dieta sem derivados de mamíferos.(15)

A implicação desta variabilidade de sintomas, especialmente os gastrointestinais, faz com que o diagnóstico não seja imediato e que existam casos de doentes com SAG não diagnosticado atempadamente, que tenham sido submetidos a exames como colonoscopia, endoscopia e cirurgias exploratórias com remoção de vesícula biliar ou apêndice e até mesmo pancreatetectomias parciais. Trata-se, assim de uma situação que não só causa um enorme impacto na qualidade de vida dos utentes, como um incremento de gastos económicos evitáveis em saúde.(75,78)

## Critérios de diagnóstico

Não obstante que em doentes com SAG se encontre uma enorme variabilidade de valores de IgE contra  $\alpha$ -gal, sabe-se que esta síndrome está associada a concentrações elevadas destas IgE específicas relativamente aos níveis totais de IgE. Vários estudos demonstram também uma probabilidade de 95 % de existir alergia à carne vermelha quando o nível de IgE específica para  $\alpha$ -gal é superior a 5,5 kU / L e a razão entre o nível de IgE específica para  $\alpha$ -gal e valor de IgE total é de 2,12 %.(79,80)

Os níveis sanguíneos de IgE para  $\alpha$ -gal vão tendencialmente diminuindo à medida que os doentes evitam a exposição recorrente a carraças.(62,81) Contudo tal redução não é linear nem estável, muito menos equiparável entre diferentes pacientes, sendo ainda equivalente tanto em crianças como adultos.(6,9,35,39,49,73,82,83) É importante referir também que os níveis de IgE específicos para  $\alpha$ -gal não estão relacionados com a gravidade da sintomatologia, estimando-se que os fatores e cofatores anteriormente abordados, possam estar relacionados com a gravidade da SAG.(1,8,62,73) Não existe, porém, um valor de IgE específico para  $\alpha$ -gal a partir do qual se defina que o indivíduo tem SAG, contudo a maioria dos autores considera um teste positivo para valores acima de 0,1 IU / ml, com especificidade de 92,3% e sensibilidade de 100%. Estes níveis de IgE são determinados através de testes serológicos, "ImmunoCap", um teste de deteção de anticorpos utilizando glicoproteínas contendo  $\alpha$ -gal, como tiroglobulina bovina, *cetuximab* ou outra fonte de  $\alpha$ -

gal.(10,21,51,60,80,82) Contudo, este teste não distingue indivíduos com SAG de pessoas assintomáticas com sensibilização a  $\alpha$ -gal, tendo sido por isso proposto por vários autores utilizar concomitantemente o teste de ativação de basófilos, avaliando o acréscimo de expressão de CD63/CD203.(35)

Os *prick* testes realizados com extratos de carne animal não cozinhada têm se revelado pouco fiáveis. Contudo, estudos demonstraram que quando se utiliza carne cozinhada, esta aparenta ter maior eficiência nos resultados obtidos, permitindo induzir pequenas pápulas. É, contudo, importante referir que neste teste, se a carne de vaca for o único alérgeno positivo, deve ser excluída alergia ao leite de vaca, pois existem relatos da possibilidade de ocorrência de reatividade cruzada. Este problema é facilmente resolvido uma vez que é apenas necessário realizar-se um teste de IgE para  $\alpha$ -gal e outro para as frações proteicas major presentes no leite de vaca e assim detetarmos sensibilização ao alérgeno específico. Concomitantemente alguns relatos defendem que a realização de testes intradérmicos utilizando gelatina poderão vir a ser muito promissores, mas ainda não estão em utilização na prática clínica, uma vez que os resultados não foram concordantes. (22,26,30,60,82) Atualmente, o grande desafio diagnóstico prende-se com pacientes que apresentem antecedentes de reações a derivados de mamíferos, mas sem identificação de IgE específico para  $\alpha$ -gal, estimando-se que tal ocorra em 2% dos doentes encaminhados com o possível diagnóstico de SAG. Num estudo levado a cabo no centro com elevada diferenciação e experiência nesta área realizaram testes cutâneos com *cetuximab*, permitindo identificar e diagnosticar 41 dos 52 doentes que tinham sintomas compatíveis com SAG mas sem IgE positiva para  $\alpha$ -Gal. Pensa-se que a razão destes valores IgE serem tão diminuídos e ainda assim provocarem SAG, esteja relacionado com o declínio que estes foram sofrendo ao longo do tempo atingindo valores indetetáveis.(16,27,84) O ponto fulcral no diagnóstico passa pela avaliação da resposta clínica à evicção da carne de mamíferos e produtos derivados de mamíferos.(9)

As provas de provocação oral são consideradas *gold standard* nas alergias alimentares, contudo na SAG não são utilizadas por rotina dada a panóplia de sintomas de elevada gravidade que podem ser induzidos.(10,60) Contudo em doentes altamente selecionados podem ter um papel importante, sendo que a sua realização deve ser necessariamente discutida com os doentes, dados os seus riscos. Segundo um centro de referência, 15-20% dos doentes que realizam provas de provocação oral necessitam de epinefrina ou equipa de emergência médica. Adicionalmente acresce o facto de 10% dos doentes terem falsos negativos. Existem assim algumas situações em que estas provas de provocação oral podem ser ponderadas:

- Doentes com possível história de alergia alimentar, como IgE para  $\alpha$ -gal positiva, mas que referem consumo contínuo e assintomático de carnes vermelhas.
- Doentes com IgE específico para  $\alpha$ -gal  $<2.0$  IU/mL que toleram laticínios e sem história de exposição a carraça nos últimos 12 meses.
- Doentes com história de exposição significativa a carraças com IgE para  $\alpha$ -gal  $>0.1$  IU/mL tendo sido aconselhados a evitar carnes vermelhas, mas sem sintomatologia.
- Doentes com história sugestiva de SAG, mas níveis de IgE para  $\alpha$ -gal  $<0.1$  IU/mL
- Doentes com antecedentes de SAG, mas apresentando valores IgE de momento não detetáveis.(27)

## Gestão da SAG

Como regra geral, todos os doentes após o diagnóstico da SAG devem ser advertidos a evitarem novas picadas de carraça, reduzindo a exposição a estas. Em situações de risco devem estar atentos e preferir roupas justas de cor clara, pois novas picadas ajudam a manter ou até aumentar os níveis de IgE específico para  $\alpha$ -gal. Sabe-se que 89% dos doentes que evitam novas picadas, conseguem uma redução do nível de IgE para  $\alpha$ -gal. Concomitantemente todos os doentes devem evitar totalmente carnes de mamíferos. Relativamente à cozedura da carne esta parece ter alguma influência não por desnaturar o epítipo  $\alpha$ -gal, mas por reduzir a gordura e como supracitado, maiores quantidades de gordura parecem estar associadas a maior gravidade clínica. Paralelamente sabe-se que existe uma variabilidade intra-individual fazendo com que pessoas suportem comer carnes vermelhas em algumas ocasiões com pouca ou nenhuma sintomatologia, enquanto noutras circunstâncias experienciam exuberantes reações adversas. Estas diferenças podem ser explicadas possivelmente pelo tipo e quantidade de carne, bem como pela quantidade de  $\alpha$ -gal presente em cada uma das carnes e a influência de distintos cofatores associados.(19,26,27,32)

No que concerne ao consumo de derivados de mamíferos, depende do derivado em si, pois por exemplo o soro de albumina de bovino não contem  $\alpha$ -gal apesar de ser derivado de mamífero. No entanto, muitas vezes, derivados que contêm  $\alpha$ -gal estão presentes em vários alimentos/fármacos sem o indivíduo ter essa percepção. Relativamente aos laticínios, 90 % dos doentes não refere qualquer reação com queijo ou leite, não estando genericamente preconizada a sua abstenção. Assim, quando os doentes continuam com sintomatologia e já realizam evicção de todos os alimentos que se sabe conterem  $\alpha$ -gal, devem atender a potenciais excipientes em laticínios, caldos, ou outros que possam eventualmente ter na sua constituição esta molécula. Claro está que como em qualquer alergia alimentar, determinadas pessoas vão suportar vestígios do alergénio sem sintomatologia adversa.(9,16,27,82)

Assim durante as primeiras consultas após o diagnóstico de SAG, ou suspeita deste, deve-se explicar ao doente os alimentos associados à sintomatologia, mesmo aqueles que primariamente poderiam não associar. Maior gordura na constituição da carne está associada a pior sintomatologia como já referido e por isso é preciso advertir os doentes para que não consumam banha de porco, amplamente utilizada na culinária de alguns países, sendo colocada até em vegetais e sobremesas. Salsichas, mesmo de aves, devem ser evitadas uma vez que muitas vezes as tripas utilizadas são de porco. Em relação a aditivos alimentares os mais associados a SAG são a gelatina e carragenina, que se trata de um derivado de algas vermelhas utilizado como espessante de alimentos ou que pode estar presente em bebidas à base de plantas, pasta de dentes, cervejas, *champô*. Advertir também para caldos para a confeção de alimentos que muitas vezes contêm também derivados de mamíferos. (9,27,82,85)

Paralelamente é crucial que seja explanado aos doentes de que não se sabe exatamente o nível de redução de IgE para  $\alpha$ -gal necessário para reintrodução da carne vermelha sem sintomatologia adversa, embora atendendo aos dados da literatura, o preditor mais favorável é a evicção à exposição de carraças.(62,65,82) Alertar concomitantemente para que a decisão de voltar a introduzir estes alimentos na dieta deva ser uma decisão ponderada e sempre com possibilidade de administração de epinefrina bem como acesso fácil ao serviço de urgência. Num centro nos Estados Unidos, 1 a 10 % dos doentes a cada ano com SAG conseguiram restabelecer os hábitos alimentares. As pessoas com mais sucesso na reintrodução foram as que apenas não toleravam carne de mamíferos, conseguindo no entanto ingerir derivados, e as que evitaram novas picadas de carraça.(82)

### **Tratamento médico**

O plano de tratamento de cada doente é muito divergente relativamente aos agentes farmacológicos e às características peculiares desse doente, nomeadamente área de residência ou hábitos profissionais ou lúdicos.(22,82,86) Existem doentes em que deve ser prescrita medicação, quer por difícil controlo da sintomatologia, quer quando viajam para países com alto risco de exposição. Antes de qualquer prescrição, a educação dos doentes é primordialmente importante, nomeadamente saber reconhecer os sinais de anafilaxia para precocemente chamar os serviços de emergência médica, explicar o manuseamento da caneta de epinefrina e indicar a posição a adotar numa situação de hipotensão.(35,65)

Relativamente aos agentes farmacológicos consideram-se os seguintes:

- **Anti-histamínicos de segunda geração** não sedativo, por via oral, mantidos diariamente.(27,35)
- **Autoinjeter de adrenalina** em situação de anafilaxia
- **Solução de cromoglicato:** estabilizadora de mastócitos, particularmente em doentes com sintomas gastrointestinais significativos ou persistentes. Por norma inicia-se com 100 mg, 2x dia, com toma 20-30 minutos antes de cada refeição e pode-se aumentar, se tolerado, para controlo dos sintomas.(27)
- **Corticosteroide oral:** para uso durante surtos agudos de SAG. (27)

Nos doentes com formas graves de SAG a imunoterapia sublingual com altas doses de solução alergénica purificada com  $\alpha$ -gal poderá consistir a potencial abordagem mais eficaz e eletiva, capaz de modificar a história natural da doença, à semelhança do que já ocorre com outras formas de alergia alimentar a proteínas moleculares como por exemplo a *Pru p 3*, uma proteína de transferência de lípidos ubiqüitária em inúmeras espécies vegetais.(87)

## Implicações da SAG

### Vacinas e gelatina

Existem vacinas que tem na sua composição derivados de mamíferos nomeadamente gelatina. Um exemplo é a vacina do *Herpes Zóster*, em que estão descritos casos de reações alérgicas em pacientes com alergia a  $\alpha$ -gal, sendo por isso recomendado nestes doentes uma avaliação do risco-benefício em ambiente de especialidade. Existem ainda alguns relatos, mas extremamente raros, de doentes com SAG que tem reação após administração da vacina do vírus *Influenza*. A gelatina para além de poder fazer parte da constituição da vacina, também pode ser administrada como expansor de plasma. São vários os casos reportados de alergia a gelatina utilizada para fins clínicos. (20,21,27,65)

### Heparina e agentes hemostáticos

A heparina é usada recorrentemente na prática clínica sem grandes complicações sendo que as reações de hipersensibilidade em pacientes com SAG são pouco frequentes. Atender que a heparina é obtida a partir do intestino do porco ou pulmão de bovino, pelo que a presença de  $\alpha$ -gal na sua composição é extremamente provável. Adicionalmente as reações alérgicas em pessoas com SAG ocorreram essencialmente quando a heparina foi usada em

altas doses associadas a oxigenação por membrana extracorporeal, bem como outros procedimentos cardíacos. (9,27,75) Por esta razão, Robert B. Hawkins *et al.* realizaram um estudo utilizando dados de 8819 doentes submetidos a cirurgia cardíaca entre 2009 e 2017 para se perceber a extensão de reações alérgicas à heparina. Em 17 (0.19%) doentes detetou-se IgE para  $\alpha$ -gal positivo e 4 (24%) destes pacientes, os quais tinham maiores níveis de IgE para  $\alpha$ -gal, tiveram uma reação alérgica grave. Nestas situações e na presença de possível SAG, é recomendado que seja feita uma ponderada prescrição e se absolutamente necessário, tratamento concomitante que minimize o risco.(88)

Em paralelo, agentes hemostáticos são também utilizados em larga escala em cirurgias, nomeadamente cardíacas e ortopédicas. Ao longo dos últimos anos têm sido reportados alguns casos de doentes com história de SAG, que desenvolvem reações anafiláticas a agentes hemostáticos como *Gelfoam*, *Surgiflo* e *FloSeal* que contêm uma matriz à base de gelatina provenientes de porco e bovino.(11,89) Estes doentes iniciam, em regra, quadro de taquicardia, hipotensão, aumento de pressão da via aérea e melhoram a sintomatologia após bólus de epinefrina. Contudo, quando se pondera o risco benefício é necessário ter em mente que as reações anafiláticas intraoperatórias são raras, em média, 1:4.000 a 1:25.000.(89)

### **Enzimas Pancreáticas e hormonas tiroideias**

As enzimas usadas para a substituição pancreática têm origem em mamíferos. Para além de provocarem sintomatologia em doentes com SAG, há doentes que são diagnosticados precisamente após toma destas enzimas pois por opção alimentar não tinham consumo de carne de mamíferos. O mesmo se sucede com as hormonas tiroideias que podem ter origem no porco.(9,20,27)

### **Aterosclerose**

Não se sabe exatamente como é que a resposta IgE pode afetar a aterosclerose. No entanto sabe-se que anticorpos como IgM, IgD e IgG se ligam a  $\alpha$ -gal presentes nos lípidos da carne, sendo captados por endocitose mediada por macrófagos. Assim há um incremento de lípidos captados, fazendo com esta possa ser a causa da SAG estar associada a aterosclerose avançada, incluindo a coronária.(10,61,75) Wilson *et al.* sugere mesmo que a SAG pode estar associada a um aumento do risco de doença coronária. De 118 pacientes submetidos a cateterismo, 26% apresentavam IgE para  $\alpha$ -gal superior a 0.1 IU/mL e concomitantemente as placas destes doentes apresentavam características de maior risco. Esta associação é sustentada pelo facto de se saber que a aterosclerose tem uma relação

positiva com os mastócitos e os níveis de IgE, sendo que na Figura 5 se encontra um modelo explicativo incluindo estas variáveis.(51,61,65)

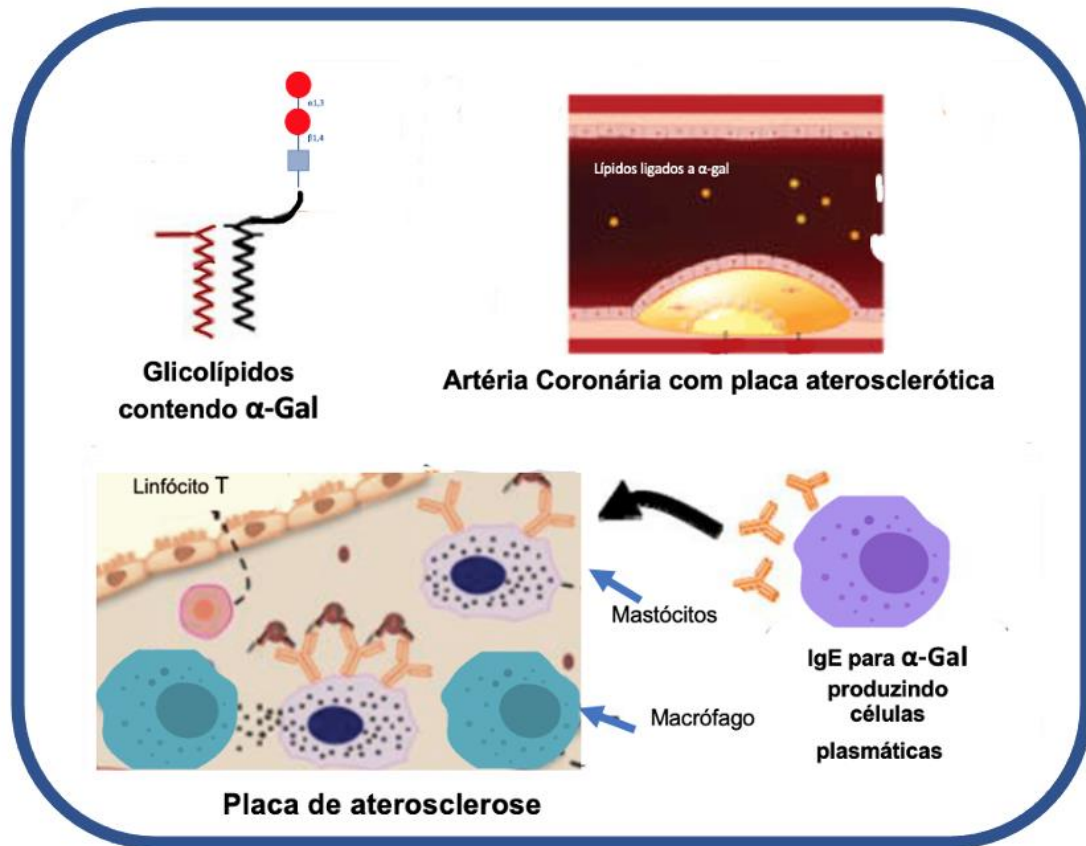


Figura 5- Modelo fisiopatológico proposto para explicar a relação entre a sensibilização por IgE a  $\alpha$ -gal e formação das placas de aterosclerose. Os lípidos ingeridos são absorvidos pelo epitélio intestinal e transportados em lipoproteínas (quilomicrons, LDL e HDL). Estas podem posteriormente transportar epítomos  $\alpha$ -gal para o tecido periférico onde há mastócitos. IgE, nomeadamente IgE específica para  $\alpha$ -gal liga-se aos mastócitos, em indivíduos com sensibilização a  $\alpha$ -gal. Níveis reduzidos de  $\alpha$ -gal podem ser insuficientes para induzir a desgranulação dos mastócitos e conseqüentemente não há sintomatologia alérgica, contudo, pode ocorrer ativação crónica dos mastócitos e assim efeitos pró-inflamatórios.(61) Imagens obtidas pelo autor ou no sítio da internet <https://pixabay.com/> (acesso livre sem copyright, a 09/11/2021)

## **Doença inflamatória intestinal**

Como já mencionado, o nosso microbioma intestinal parece ter um papel importante na produção de anticorpos contra  $\alpha$ -gal, tanto mais que num estudo experimental com ratinhos que cresceram em ambiente estéril, não houve qualquer estímulo contra  $\alpha$ -gal. De forma que é admissível que doentes com doença inflamatória intestinal tenham número aumentado de anticorpos anti  $\alpha$ -gal. Numa pequena amostra de doentes com *Crohn* e verificou-se que estes tinham títulos maiores de IgA anti  $\alpha$ -gal, comparativamente a controlos saudáveis. Paralelamente, pessoas com diagnóstico de síndrome de colon irritável realizaram evicção de carne de mamíferos e obtiveram melhoria dos sintomas.(75)

## **Válvulas cardíacas biológicas**

As válvulas cardíacas biológicas têm por norma origem suína e bovina, levantando este facto uma preocupação relativamente aos doentes com SAG, tendo já sido reportadas situações de degeneração valvular. Clinicamente, são doentes com precordialgia, dispneia com insuficiência e degeneração valvular protética associada, 1 a 2 anos após o diagnóstico de SAG, com posterior necessidade de substituição por prótese valvular mecânica. Existem também relatos de doentes com o diagnóstico prévio de SAG que após substituição valvular desenvolvem anafilaxia peri e pós-operatória, sendo tratados com epinefrina e bloqueadores de H1 e H2, havendo sucesso na grande maioria dos casos.(11,82) Um fator possivelmente crucial nesta temática é fixação usada na válvula, pois nem todas são livres de  $\alpha$ -gal. Contudo há ainda outro ponto importante que permanece dúbio que é se os epítomos  $\alpha$ -gal que permanecem nas válvulas cardíacas podem levar à destruição prematura da válvula nos indivíduos com SAG. Concomitante pode ser levantada outra questão: uma vez que todos os indivíduos imunocompetentes produzem IgM, IgA, IgG e IgD contra  $\alpha$ -gal, será que o facto de algumas próteses serem destruídas precocemente não estará relacionado com a presença de  $\alpha$ -gal? Até a data ainda não se estabeleceu esta relação, mas sabe-se que há um aumento da IgG contra  $\alpha$ -gal circulante nos 10 dias seguintes após o implante da válvula cardíaca biológica.(75)

Adicionalmente, os dados da literatura salientam que quando há concentrações elevadas de IgE para  $\alpha$ -gal há um incremento da probabilidade de complicações cardiovasculares.(1)



## **Anticorpos e venenos**

Os antivenenos são anticorpos policlonais obtidos da imunização de cavalos ou ovelhas. Foi demonstrado que os fragmentos FAB destas preparações têm na sua constituição o epítopo  $\alpha$ -gal levando a que ocorra a possibilidade de hipersensibilidade, ainda que extremamente raro.(90)

O *cetuximab*, como já previamente referido é um anticorpo monoclonal capaz de induzir hipersensibilidade em indivíduos, devido à presença de  $\alpha$ -gal na sua porção FAB e em menos quantidade na porção do fragmento cristalizável (Fc).(2,11,30,91) Dada a sua importância para os doentes oncológicos, o *cetuximab* é prescrito independentemente da presença de SAG, havendo no entanto um protocolo de dessensibilização utilizado em doentes com SAG.(66) Foi também levantada a hipótese de esta alergia também suceder com outros anticorpos monoclonais quiméricos como *rituximab* e *infiximab*, o que não se verificou uma vez que , a glicosilação com  $\alpha$ -gal na porção FAB não se encontra presente.(2)

Uma área de investigação em crescimento, mas ainda sem grandes relações estabelecidas está relacionada com a presença de reações alérgicas com maior gravidade, a determinados venenos como de vespas e abelhas em doentes com SAG, contudo estas afirmações carecem de estudos mais aprofundados para se assegurar esta correlação. (80,83)

## **Doença de Lyme Sero-negativa**

O diagnóstico da doença de *Lyme* mostra-se por vezes complexo quando os testes serológicos são negativos. Estes indivíduos apresentam sintomatologia diversificada, desde sintomas gastrointestinais, fadiga, dor nas articulações, sintomas estes sempre associados à picada de carraça. Dada a semelhança entre a sintomatologia e a história desta doença e o SAG, um grupo de investigação realizou um estudo em que doentes com suspeita doença de *Lyme* seronegativa suspenderam carnes vermelhas e derivados, apresentando subsequentemente melhoria de sintomas. Tal facto levou os autores a suspeitar de que muitas vezes a doença de *Lyme* seronegativa seja um diagnóstico erróneo e possamos estar de facto perante uma SAG.(75)



Figura 6- Veículos indutores de reação alérgica em doentes com SAG por via oral ou parentérica.(20)

### Há alguma vantagem no desenvolvimento de anticorpos anti- $\alpha$ -gal?

No plano teórico os anticorpos anti  $\alpha$ -gal constituem uma potencial abordagem terapêutica muito eletiva. Para tal, foram realizados diversos estudos, em modelos de ratinhos GT KO, percebendo-se que quando inoculados com *Escherichia coli* (expressa  $\alpha$ -gal), ocorria um aumento dos níveis de IgG e IgM devido ao incremento dos anticorpos anti  $\alpha$ -gal. Como já referido previamente, as bactérias expressam a molécula  $\alpha$ -gal e muitas delas estão presentes no microbioma, tais como *Escherichia*, *Salmonella* e *Klebsiella*. Assim, estas bactérias podem fornecer uma exposição crónica de  $\alpha$ -gal aos linfócitos B, levando-as a produzir anticorpos IgM e IgG que podem servir como controlo da proliferação bacteriana, bem como ter um papel de proteção contra os efeitos prejudiciais da colonização de diversos patógenos no corpo humano.(1,4,57) Yilmaz *et al.* levaram a cabo um estudo que demonstrou a diminuição na transmissão do parasita da malária devido ao elevado número de anticorpos IgG e IgM, levantando-se a discussão do interesse de vacinar contra vetores ou agentes patogénicos que expressem  $\alpha$ -gal para prevenir infeção dos mesmos(1,10). É assim neste âmbito, que surgem dois estudos independentes relativos a Leishmaniose, mas com resultados similares. Num dos estudos levado a cabo por Moura *et al.* demonstrou-se que os ratinhos GT KO apresentam níveis muito mais elevados de carga parasitário, quando comparados com ratinhos sem mutação. Após administração da vacina com nanopartículas de  $\alpha$ -gal nos ratinhos GT KO, estes ficaram igualmente protegidos, tendo eliminado a infeção e proliferação dos parasitas do fígado e baço, feito comprovado por PCR-rt.(1,20,92) Num

segundo estudo, utilizaram-se neoglicoproteínas contendo epítomos de  $\alpha$ -gal sintéticos e mais uma vez, a administração da vacina conferiu proteção parcial, mas significativa contra a infecção por Leishmaniose major, desencadeando uma resposta imune robusta mediada tanto por linfócitos B como T.(93) Assim estes estudos abrem caminho à possibilidade de vacinas  $\alpha$ -gal bloquearem a leishmaniose cutânea e visceral, um problema de saúde pública em mais de 88 países.(92) Adicionalmente, estudos similares mostraram proteção contra malária, doença de Chagas, anaplasose granulocítica e *influenza*. Pacheco *et al.* desenvolveram um estudo utilizando um modelo de peixe-zebra, para averiguaram o potencial destas vacinas  $\alpha$ -gal contra *Mycobacterium marinum*, microrganismo na base da tuberculose em peixes, de modo similar a *Mycobacterium tuberculosis* em humanos. De modo similar a estudos anteriores, ocorreu ativação da imunidade humoral e celular do peixe-zebra após a exposição à vacina, diminuindo os níveis de *Mycobacterium marinum*, sugerindo também algum nível de proteção contra a tuberculose.(20,83)

Num estudo já supracitado que foi realizado com o intuito de perceber a importância de 3 galactosiltransferases na síntese  $\alpha$ -gal, houve um aumento dos níveis de  $\alpha$ -gal em resposta a infecção por *Anaplasma phagocytophilum*, causadora de anaplasose, que é uma doença igualmente transmitida por carrapatos, diminuindo posteriormente os níveis de infecção, sugerindo que o aumento dos níveis de  $\alpha$ -gal pode conferir proteção para esta doença.(10)



## Conclusão

A SAG é uma alergia alimentar emergente que se tem vindo a tornar cada vez mais global, estando associada à picada de carraça de diferentes espécies, tendo por base o epítipo  $\alpha$ -gal existente tanto na saliva e glândulas salivares, como intestino e ovários das carraças. Várias espécies foram identificadas como comumente associadas a SAG, como *Amblyomma Americanum*, *Ixodes holocyclus*, *Haemaphysalis longicornis*, *Amblyomma sculptum* e *Ixodes australiensis*.

Estudos futuros deverão incidir na identificação de moléculas salivares das carraças que tem o epítipo  $\alpha$ -gal, procurando também perceber o mecanismo de interação do epítipo  $\alpha$ -gal com o hospedeiro, bem como clarificar o mecanismo pelo qual a carraça leva à sensibilização humana contra  $\alpha$ -gal. A eventual perceção exata do processo pelo qual as carraças levam à sensibilização dos indivíduos permitirá mais facilmente atuar na prevenção do desenvolvimento da síndrome. Até ao momento o único modo de impedir o aparecimento da SAG é a evicção das picadas de carraças, o que pode estar dificultado em determinadas profissões e zonas endémicas de carraças causadoras de SAG. Também o metabolismo lipídico carece de investigação adicional, parecendo ser ponto fulcral para melhor compreensão da fisiopatologia da SAG. A importância dos diversos fatores de risco e cofatores envolvidos é uma área que também necessita de maior investigação, assim como as vias imunitárias envolvidas de modo a tentar deslindar o motivo pelo qual determinados indivíduos de zonas endémicas desenvolvem SAG enquanto outros não apresentam qualquer sintomatologia após ingestão de carnes vermelhas mesmo tendo forte exposição continua a carraças. Paralelamente a importância do microbioma da carraça e do próprio doente para o desenvolvimento da SAG é também ainda incerto, mas parece ser parte integrante da causalidade da síndrome. Esta síndrome tem uma prevalência francamente subestimada a nível global, tornando-se crucial a correta identificação de novos casos, salientando assim o papel potencial que esta revisão apresenta, ao fornecer uma breve sumula de todos aspetos de relevo conhecidos até à data, de forma acessível aos clínicos.

Importante será ter em mente a relevância de vários gestos clínicos nos doentes com SAG como a administração de heparina, implantação de válvulas cardíacas biológicas, tratamento com *cetuximab*, medicação com hormonas tiroideias e enzimas pancreáticas. Nenhum destes gestos está contraindicado nestes doentes, mas há sim uma necessidade de ponderação risco-benefício e monitorização acrescida quando se está perante doentes identificados com SAG. Adicionalmente devem ser medidos os níveis de IgE total e específico para  $\alpha$ -gal sempre que o doente apresente sintomas sugestivos de SAG, tentando sempre relacionar os sintomas com o consumo de derivados de mamíferos, tendo sempre em mente que esta sintomatologia aparece em regra, tardiamente. Para finalizar salientar que o

conhecimento da diversidade de sintomas possíveis na SAG, nomeadamente os sintomas gastrointestinais, são o ponto fulcral para o diagnóstico célere de SAG, permitindo evitar a possível iatrogenia de procedimentos realizados em doentes não identificados corretamente com SAG.

## **Agradecimentos**

*Ao meu orientador, Professor Doutor Celso Pereira e Coorientadora Dra. Isabel Carrapatoso, por toda a paciência, dedicação, disponibilidade e amabilidade com que me acompanharam durante todo este ano de trabalho.*

*Aos meus pais, ao meu irmão e aos meus avós por todo o apoio, amor incondicional, por suportarem sempre as minhas decisões e porque sem eles nunca seria possível mudar o meu rumo em direção ao curso dos meus sonhos.*

*Ao Leonardo pelo carinho, paciência, auxílio, amor e dedicação, tendo sido desde o primeiro dia o exemplo, apoio e motivação de todas as horas, tornando esta caminhada, a mais bela das jornadas.*

*A todos os meus amigos que marcaram o meu percurso e fizeram com que todos estes anos fossem certamente os mais marcantes.*

## Bibliografia

1. Sharma SR, Karim S. Tick Saliva and the Alpha-Gal Syndrome: Finding a Needle in a Haystack. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:1–13.
2. Bircher AJ, Hofmeier KS, Link S, Heijnen I. Food allergy to the carbohydrate galactose-alpha-1,3-galactose (Alpha-gal): Four case reports and a review. *Eur J Dermatology.* 2017;27(1):3–9.
3. Binder AM, Commins SP, Altrich ML, Wachs T, Biggerstaff BJ, Beard CB, et al. Diagnostic testing for galactose-alpha-1,3-galactose, United States, 2010 to 2018. *Ann Allergy, Asthma Immunol.* 2021;126(4):411–416.e1.
4. Chandrasekhar JL, Cox KM, Erickson LD. B Cell Responses in the Development of Mammalian Meat Allergy. *Front Immunol.* 2020;11:1–16.
5. Iweala OI, Choudhary SK, Addison CT, Commins SP. T and b lymphocyte transcriptional states differentiate between sensitized and unsensitized individuals in alpha-gal syndrome. Vol. 22, *International Journal of Molecular Sciences.* 2021. p. 1–18.
6. Rowane M, Valencia R, Stewart-Bates B, Casselman J, Hostoffer R. No Bull: A Case of Alpha-Gal Syndrome Associated With Buffalo Meat Sensitivity. *Allergy Rhinol.* 2019;10:215265671989336.
7. Commins SP, James HR, Kelly LA, Pochan SL, Workman LJ, Perzanowski MS, Kocan KM, Fahy JV, Nganga LW, Ronmark E, Cooper PJ, Platts-Mills TA. The relevance of tick bites to the production of IgE antibodies to the mammalian oligosaccharide galactose- $\alpha$ -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(5):1286–93.e6
8. Young I, Prematunge C, Pussegoda K, Corrin T, Waddell L. Tick exposures and alpha-gal syndrome: A systematic review of the evidence. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021;12(3):101674.
9. Platts-Mills TAE, Commins SP, Biedermann T, van Hage M, Levin M, Beck LA, Diuk-Wasser M, Jappe U, Apostolovic D, Minnicozzi M, Plaut M, Wilson JM. On the cause and consequences of IgE to galactose- $\alpha$ -1,3-galactose: A report from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Workshop on Understanding IgE-Mediated Mammalian Meat Allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2020 Apr;145(4):1061–1071. doi: 10.1016/j.jaci.2020.01.047. Epub 2020 Feb 10. PMID: 32057766; PMCID: PMC7301618.
10. Cabezas-Cruz A, Hodžić A, Román-Carrasco P, Mateos-Hernández L, Duscher GG, Sinha DK, et al. Environmental and molecular drivers of the  $\alpha$ -Gal syndrome. *Front Immunol.* 2019;10:1–12.
11. Yuile A, Fanuli C, van Nunen S, Diakos C, Clarke S, Steiner C, et al. Increased rates of cetuximab reactions in tick prevalent regions and a proposed protocol for risk mitigation. *Asia Pac J Clin Oncol.* 2020:1–6.
12. Mitchell CL, Lin FC, Vaughn M, Apperson CS, Meshnick SR, Commins SP. Association between lone star tick bites and increased alpha-gal sensitization: Evidence from a prospective cohort of outdoor workers. *Parasites and Vectors.* 2020;13(1):1–4.
13. Wen L, Zhou J, Yin J, Sun JL, Sun Y, Wu K, et al. Delayed anaphylaxis to red meat associated with specific IgE antibodies to galactose. *Allergy, Asthma Immunol Res.* 2014;7(1):92–4.
14. Dunkman WJ, Rycek W, Manning MW. What Does a Red Meat Allergy Have to Do with Anesthesia? *Perioperative Management of Alpha-Gal Syndrome.* *Anesth Analg.* 2019;129(5):1242–8.
15. Richards NE, Richards RD. Alpha-Gal Allergy as a Cause of Intestinal Symptoms in a Gastroenterology Community Practice. *South Med J.* 2021;114(3):169–73.
16. Wong XL, Sebaratnam DF. Mammalian meat allergy. *Int J Dermatol.* 2018;57(12):1433–6.
17. Hamsten C, Starkhammar M, Tran TAT, Johansson M, Bengtsson U, Ahlén G, et al. Identification of galactose- $\alpha$ -1,3-galactose in the gastrointestinal tract of the tick *Ixodes ricinus*; Possible relationship with red meat allergy. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2013;68(4):549–52.
18. Van Nunen SA, O'Connor KS, Clarke LR, Boyle RX, Fernando SL. An association between tick bite reactions and red meat allergy in humans | *Medical Journal of Australia.* *Med J Aust.* 2009;190(9):510–1.
19. De La Fuente J, Pacheco I, Villar M, Cabezas-Cruz A. The alpha-Gal syndrome: New insights into the tick-host conflict and cooperation. *Parasites and Vectors.* 2019;12(1):1–5.
20. Hilger C, Fischer J, Wölbing F, Biedermann T. Role and Mechanism of Galactose-Alpha-1,3-Galactose in the Elicitation of Delayed Anaphylactic Reactions to Red Meat. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2019;19(1).
21. James H. The relationship between red meat allergy and sensitization to J Allergy Clin Immunol Author Manuscript . Author manuscript; available in PMC 2013 May 01. . 2012 May ; 129(5): 133. 2013;129(5):1334–42.
22. Wilson JM, Platts-Mills TAE. Red meat allergy in children and adults. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2019;19(3):229–35.
23. Fischer J, Yazdi AS, Biedermann T. Clinical spectrum of  $\alpha$ -Gal syndrome: From immediate-type to delayed immediate-type reactions to mammalian innards and meat. *Allergo J Int.* 2016;25(2):55–62.
24. Mabelane T, Ogunbanjo GA. Ingestion of mammalian meat and alpha-gal allergy: Clinical relevance in primary care. *African J Prim Heal Care Fam Med.* 2019;11(1):1–5.
25. Jackson WL. Mammalian meat allergy following a tick bite: a case report. *Oxford Med Case Reports.* 2018;2018(2):58–60.
26. Harper V, Wagner A, Sowa P, Rutkowski K. Allergy in frequent travelers: the alpha-gal story and the first UK case series. *Ann Allergy, Asthma Immunol.* 2019;123(6):616–8.
27. Commins SP. Diagnosis & management of alpha-gal syndrome: lessons from 2,500 patients. *Expert Rev Clin Immunol.* 2020 Jul;16(7):667–677. doi: 10.1080/1744666X.2020.1782745. Epub 2020 Jul 8. PMID: 32571129; PMCID: PMC8344025.
28. Chinuki Y, Ishiwata K, Yamaji K, Takahashi H, Morita E. *Haemaphysalis longicornis* tick bites are a possible cause of red meat allergy in Japan. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2016;71(3):421–5.
29. Wuerdemann MF, Harrison JM. A case of tick-bite-induced red meat allergy. *Mil Med.* 2014;179(4):e473–5.
30. Hashizume H, Fujiyama T, Umayahara T, Kageyama R, Walls AF, Satoh T. Repeated Amblyomma testudinarium tick bites are associated with increased galactose- $\alpha$ -1,3-galactose carbohydrate IgE antibody levels: A retrospective cohort study in a single institution. *J Am Acad Dermatol.* 2018;78(6):1135–1141.e3.
31. Arslan Lied G. Red meat allergy induced by tick bites: A Norwegian case report. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2017;49(4):186–8.
32. Apostolovic D, Tran TAT, Starkhammar M, Sánchez-Vidaurre S, Hamsten C, van Hage M. The red meat allergy syndrome in Sweden. *Allergo J Int.* 2016;25(2):49–54.
33. Calamari AM, Poppa M, Villalta D, Pravettoni V. Alpha-gal anaphylaxis: The first case report in Italy. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2015;47(5):161–2.
34. van Nunen S. Tick-induced allergies: Mammalian meat allergy, tick anaphylaxis and their significance. *Asia Pac Allergy.* 2015;5(1):3–16.
35. Pisazka V, Duscher G, Hodžić A, Reider N, Allerberger F. Alpha-gal allergy after a tick bite in Austria. *Wien Klin Wochenschr.* 2019;131(15–16):385–8.
36. Allergy to red meat in adulthood: a case report. Carrapatoso I, Bartolomé Zavala B, Ribeiro F, Martínez Quesada J, Segorbe Luís A.J



- Investig Allergol Clin Immunol. 2014; 24(3):206-8.
37. Cheraghi T, Aghamohammadi A, Mirminachi B, Keihanian T, Hedayat E, Abolhassani H, et al. Prediction of the evolution of common variable immunodeficiency: HLA typing for patients with selective IgA deficiency. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2014;24(3):198–200.
  38. Fernandes M, Sousa F, Câmara R. Síndrome alfa-gal: Dois casos clínicos. 2021;49–53.
  39. Bansal RA, Bahal S, O'Brien R, Miller J, Bansal AS, Yong PF. The first reported cases of meat allergy following tick bites in the UK. *JRSM Open.* 2021;12(4):205427042199613.
  40. Apostolovic D, Mihailovic J, Commins SP, Wijnveld M, Kazimirova M, Starkhammar M, et al. HHS Public Access. 2021;75(1):217–20.
  41. Mateo-Borrega MB, Garcia B, Larramendi CH, Azofra J, González-Mancebo E, Alvarado MI, et al. Ige-mediated sensitization to galactose- $\alpha$ -1,3-galactose ( $\alpha$ -gal) in urticaria and anaphylaxis in Spain: Geographical variations and risk factors. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2019;29(6):436–43.
  42. Nuñez R, Carballada F, Gonzalez-Quintela A, Gomez-Rial J, Boquete M, Vidal C. Delayed mammalian meat-induced anaphylaxis due to galactose- $\alpha$ -1,3-galactose in 5 European patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128(5):1122-1124.e1.
  43. Pita J, Ciobanu A, Loureiro C, Todo A. Alergia a galactose -  $\alpha$ -1,3-galactose. 2018;11–9.
  44. Araujo RN, Franco PF, Rodrigues H, Santos LCB, McKay CS, Sanhueza CA, Brito CRN, Azevedo MA, Venuto AP, Cowan PJ, Almeida IC, Finn MG, Marques AF. *Amblyomma sculptum* tick saliva:  $\alpha$ -Gal identification, antibody response and possible association with red meat allergy in Brazil. *Int J Parasitol.* 2016 Mar;46(3):213-220.
  45. Choudhary SK, Karim S, Iweala OI, Choudhary S, Crispell G, Sharma SR, et al. Tick salivary gland extract induces alpha-gal syndrome in alpha-gal deficient mice. *Immunity, Inflamm Dis.* 2021;9(3):984–90.
  46. Murangi T, Prakash P, Moreira BP, Basera W, Botha M, Cunningham S, et al. *Ascaris lumbricoides* and ticks associated with sensitization to galactose  $\alpha$ 1,3-galactose and elicitation of the alpha-gal syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;
  47. Keleş Ş, Gündüz M. Alpha gal specific IgE positivity due to tick bites and red meat allergy: The first case report in Turkey. *Turk J Pediatr.* 2019;61(4):615–7.
  48. Kinoshita M, Newton S. Alpha-gal allergy in a 6-year-old male: A case report. *J Nepal Med Assoc.* 2019;57(219):379–81.
  49. Luker AJ, Lownik JC, Conrad DH, Martin RK. A new look at IgE beyond allergies [version 1; peer review: 2 approved]. *F1000Research.* 2019;8(May).
  50. Crispell G, Commins SP, Archer-Hartman SA, Choudhary S, Dhanmarajan G, Azadi P, et al. Discovery of alpha-gal-containing antigens in North American tick species believed to induce red meat allergy. *Front Immunol.* 2019;10(MAY).
  51. Kiewiet MBG, Apostolovic D, Starkhammar M, Grundström J, Hamsten C, van Hage M. Clinical and Serological Characterization of the  $\alpha$ -Gal Syndrome—Importance of Atopy for Symptom Severity in a European Cohort. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020;8(6):2027-2034.e2.
  52. Park Y, Kim D, Boorgula GD, De Schutter K, Smagghe G, Šimo L, et al. Alpha-gal and cross-reactive carbohydrate determinants in the n-glycans of salivary glands in the lone star tick, *amblyomma americanum*. *Vaccines.* 2020;8(1):1–16.
  53. Ramasamy R. Mosquito vector proteins homologous to  $\alpha$ 1-3 galactosyl transferases of tick vectors in the context of protective immunity against malaria and hypersensitivity to vector bites. *Parasites and Vectors.* 2021;14(1):1–6.
  54. Kwak M, Somerville C, van Nunen S. A novel Australian tick *Ixodes ( Endopalpiger ) australiensis* inducing mammalian meat allergy after tick bite . *Asia Pac Allergy.* 2018;8(3):8–11.
  55. Hodžić A, Mateos-Hernández L, Leschnik M, Alberdi P, Rego ROM, Contreras M, et al. Tick bites induce anti- $\alpha$ -gal antibodies in dogs. *Vaccines.* 2019;7(3):1–14.
  56. van Nunen SA. Tick-induced allergies: Mammalian meat allergy and tick anaphylaxis. *Med J Aust.* 2018;208(7):316–21.
  57. Cabezas-Cruz A, Mateos-Hernández L, Chmelař J, Villar M, de la Fuente J. Salivary Prostaglandin E2: Role in Tick-Induced Allergy to Red Meat. *Trends Parasitol.* 2017;33(7):495–8.
  58. Chandrasekhar JL, Cox KM, Loo WM, Qiao H, Tung KS, Erickson LD. Cutaneous Exposure to Clinically Relevant Lone Star Ticks Promotes IgE Production and Hypersensitivity through CD4+ T Cell- and MyD88-Dependent Pathways in Mice. *J Immunol.* 2019 Aug 15;203(4):813-824. doi: 10.4049/jimmunol.1801156. Epub 2019 Jul 3. PMID: 31270149; PMCID: PMC6684363.
  59. Contreras M, Pacheco I, Alberdi P, Díaz-Sánchez S, Artigas-Jerónimo S, Mateos-Hernández L, et al. Allergic Reactions and Immunity in Response to Tick Salivary Biogenic Substances and Red Meat Consumption in the Zebrafish Model. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10.
  60. de la Fuente J, Cabezas-Cruz A, Pacheco I. Alpha-Gal Syndrome: challenges to understanding sensitization and clinical reactions to alpha-gal. *Expert Rev Mol Diagn.* 2020;0(0):905–11.
  61. Wilson JM, Mcnamara CA, Platts-mills TAE. *www.aging-us.com AGING* 2019, Vol. 11, No. 7. 2019;11(7):1900–2.
  62. Wilson JM, Schuyler AJ, Schroeder N, Platts-Mills TA. Galactose- $\alpha$ -1,3-Galactose: Atypical Food Allergen or Model IgE Hypersensitivity? *Curr Allergy Asthma Rep.* 2017 Jan;17(1):8. doi: 10.1007/s11882-017-0672-7. PMID: 28224342; PMCID: PMC6028928.
  63. Hodžić A, Mateos-Hernández L, Fréalé E, Román-Carrasco P, Alberdi P, Pichavant M, et al. Infection with *Toxocara canis* inhibits the production of ige antibodies to  $\alpha$ -gal in humans: Towards a conceptual framework of the hygiene hypothesis? *Vaccines.* 2020;8(2).
  64. Platts-Mills TAE, Li RC, Keshavarz B, Smith AR, Wilson JM. Diagnosis and Management of Patients with the  $\alpha$ -Gal Syndrome. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020 Jan;8(1):15-23.e1. doi: 10.1016/j.jaip.2019.09.017. Epub 2019 Sep 28. PMID: 31568928; PMCID: PMC6980324.
  65. Wilson JM, Nguyen AT, Schuyler AJ, Commins SP, Taylor AM, Platts-Mills TAE, et al. IgE to the mammalian oligosaccharide galactose- $\alpha$ -1,3-Galactose is associated with increased atheroma volume and plaques with unstable characteristics - Brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018;38(7):1665–9.
  66. Commins SP, Jerath MR, Cox K, Erickson LD, Platts-Mills T. Delayed anaphylaxis to alpha-gal, an oligosaccharide in mammalian meat. *Allergol Int.* 2016 Jan;65(1):16-20. doi: 10.1016/j.alit.2015.10.001. Epub 2015 Nov 21. PMID: 26666477; PMCID: PMC4793386.
  67. Wilson JM, Keshavarz B, Retterer M, Workman LJ, Schuyler AJ, McGowan EC, et al. A dynamic relationship between two regional causes of IgE-mediated anaphylaxis:  $\alpha$ -Gal syndrome and imported fire ant. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147(2):643-652.e7.
  68. *Amblyomma* A, Linske MA, Williams SC, Sta KC, Lubelczyk CB, Henderson EF, et al. insects Determining E ff ects of Winter Weather Conditions on. :1–11.
  69. Tjernberg I, Hamsten C, Apostolovic D, Van Hage M. IgE reactivity to  $\alpha$ -Gal in relation to Lyme borreliosis. *PLoS One.* 2017;12(9):1–11.
  70. Hamsten C, Tran TAT, Starkhammar M, Brauner A, Commins SP, Platts-Mills TAE, et al. Red meat allergy in Sweden: Association with tick sensitization and B-negative blood groups. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132(6):1431–4.

71. Palareti G, Legnani C, Cosmi B, Antonucci E, Erba N, Poli D, et al. Comparison between different D-Dimer cutoff values to assess the individual risk of recurrent venous thromboembolism: Analysis of results obtained in the DULCIS study. *Int J Lab Hematol.* 2016;38(1):42–9.
72. Gonzalez-Quintela A, Dam Laursen AS, Vidal C, Skaaby T, Gude F, Linneberg A. IgE antibodies to alpha-gal in the general adult population: Relationship with tick bites, atopy, and cat ownership. *Clin Exp Allergy.* 2014;44(8):1061–8.
73. Espa S, González MT, Boquete M, Carballada F. *Allergologia et immunopathologia pediatrica* case in a series of patients in Spain. 2020;48(3).
74. Garcia MB, Gomez-Samper AF, Garcia E, Peñaranda A. Delayed urticaria or anaphylaxis after consumption of red meat with evidence of alpha-gal sensitisation. *BMJ Case Rep.* 2020;13(12):1–3.
75. Commins SP. Invited Commentary: Alpha-Gal Allergy: Tip of the Iceberg to a Pivotal Immune Response. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016;16(9):1–3.
76. Schmidle P, Reidenbach K, Kugler C, Eberlein B, Biedermann T, Darsow U. Recall urticaria—A new clinical sign in the diagnosis of alpha-gal syndrome. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019;7(2):685–6.
77. Altmann F. Coping with cross-reactive carbohydrate determinants in allergy diagnosis. *Allergo J Int.* 2016;25(4):98–105.
78. Commins SP, Jerath MR, Cox K, Erickson LD, Platts-Mills T. Delayed anaphylaxis to alpha-gal, an oligosaccharide in mammalian meat. *Allergol Int.* 2016 Jan;65(1):16-20. doi: 10.1016/j.alit.2015.10.001. Epub 2015 Nov 21. PMID: 26666477; PMCID: PMC4793386.
79. Mabelane T, Basera W, Botha M, Thomas HF, Ramjith J, Levin ME. Predictive values of alpha-gal IgE levels and alpha-gal IgE: Total IgE ratio and oral food challenge-proven meat allergy in a population with a high prevalence of reported red meat allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2018;29(8):841–9.
80. Fischer J, Huynh HN, Hebsaker J, Forchhammer S, Yazdi AS. Prevalence and Impact of Type I Sensitization to Alpha-Gal in Patients Consulting an Allergy Unit. *Int Arch Allergy Immunol.* 2020;181(2):119–27.
81. Villalta D, Pantarotto L, Da Re M, Conte M, Sjolander S, Borres MP, et al. High prevalence of sIgE to Galactose- $\alpha$ -1,3-galactose in rural pre-Alps area: A cross-sectional study. *Clin Exp Allergy.* 2016;46(2):377–80.
82. Patel C, Iweala OI. “Doc, will I ever eat steak again?”: diagnosis and management of alpha-gal syndrome. *Curr Opin Pediatr.* 2020;32(6):816–24.
83. Pacheco I, Contreras M, Villar M, Rivalde MA, Alberdi P, Cabezas-Cruz A, et al. Vaccination with alpha-gal protects against mycobacterial infection in the zebrafish model of tuberculosis. *Vaccines.* 2020;8(2):1–23.
84. Mateos-Hernández L, Villar M, Moral A, Rodríguez CG, Arias TA, de la Osa V, et al. Tick-host conflict: Immunoglobulin E antibodies to tick proteins in patients with anaphylaxis to tick bite. *Oncotarget.* 2017;8(13):20630–44.
85. Tobacman JK. The common food additive carrageenan and the alpha-gal epitope. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136(6):1708–9.
86. Stewart PH, McMullan KL, Leblanc SB. Delayed red meat allergy: Clinical ramifications of galactose- $\alpha$ -1,3-galactose sensitization. *Ann Allergy, Asthma Immunol.* 2015;115(4):260–4.
87. Moura AL, Pereira C, Regateiro FS, Azevedo J, Todo Bom A, Carrapatoso I. Pru p 3 sublingual immunotherapy ultra-rush protocol is safe and clinically effective. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2019;51(5):206–12.
88. Hawkins RB, Wilson JM, Mehaffey JH, Platts-Mills TAE, Ailawadi G. Safety of Intravenous Heparin for Cardiac Surgery in Patients With Alpha-Gal Syndrome. *Ann Thorac Surg.* 2021;111(6):1991–7.
89. Lied GA, Lund KB, Storaas T. Intraoperative anaphylaxis to gelatin-based hemostatic agents: A case report. *J Asthma Allergy.* 2019;12:163–7.
90. Rizer J, Brill K, Charlton N, King J. Acute hypersensitivity reaction to Crotalidae polyvalent immune Fab (CroFab) as initial presentation of galactose- $\alpha$ -1,3-galactose ( $\alpha$ -gal) allergy. *Clin Toxicol.* 2017;55(7):668–9.
91. Chinuki Y, Morita E. Alpha-Gal-containing biologics and anaphylaxis. *Allergol Int.* 2019;68(3):296–300.
92. Moura AP V., Santos LCB, Brito CRN, Valencia E, Junqueira C, Filho AAP, et al. Virus-like Particle Display of the  $\alpha$ -Gal Carbohydrate for Vaccination against Leishmania Infection. *ACS Cent Sci.* 2017;3(9):1026–31.
93. Iniguez E, Schocker NS, Subramaniam K, Portillo S, Montoya AL, Al-Salem WS, et al. An  $\alpha$ -Gal-containing neoglycoprotein-based vaccine partially protects against murine cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major*. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(10):1–25.