



**Universitat Autònoma de Barcelona
Facultat de Medicina
Departament de Medicina**

Al·lèrgens Recombinants en Resolució Diagnòstica

**Tesi Doctoral
Maria Teresa Garriga Baraut**

Programa de Doctorat en Medicina

**Director
Moisés Labrador-Horrillo**

**Tutor
Josep Àngel Bosch Gil**

Barcelona, 11 de setembre del 2015

Moisés Labrador-Horrillo, Metge Adjunt de la Secció d'Al·lergologia del Servei de Medicina Interna de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron i Professor Associat de la Universitat Autònoma de Barcelona

i

Josep Àngel Bosch i Gil, Coordinador mèdic de l'Àrea General de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron i Catedràtic de la Facultat de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona

Certifiquen que la tesi doctoral "***Al·lèrgens recombinants en resolució diagnòstica***" que presenta la Llicenciada en Medicina **Maria Teresa Garriga Baraut**, ha estat dirigida i supervisada per ells i, en considerar-la finalitzada, autoritzen la seva defensa davant el tribunal que correspongui per tal d'obtenir el grau de Doctor en Medicina.

Dr. Moisés Labrador-Horrillo

Professor Josep Àngel Bosch Gil

Bellaterra, 11 de setembre del 2015

*Als meus pares, el Lluís i la Teresina,
per la seva ajuda incondicional en tot moment,
per ser sempre els meus referents,
i la llum que il·lumina el meu camí*

Índex de contingut

1. Índex de contingut.....	6
2. Sigles i acrònims.....	8
3. Introducció.....	10
• Definicions i conceptes.....	10
• Famílies al·lèrgèniques.....	19
• Molècules marcadores de reactivitat encreuada.....	26
• Síndromes de reactivitat encreuada.....	57
• Al·lèrgens d'origen vegetal.....	66
• Al·lèrgens pol·línics.....	82
• Làtex.....	95
• Epitelis i animals amb pèl.....	98
• Espores de fongs.....	103
• Paràsits.....	106
• Insectes.....	107
4. Justificació.....	112
5. Objectius.....	113
▪ Capítol I.....	113
▪ Capítol II.....	114
6. Metodologia.....	115
▪ Capítol I.....	115
▪ Capítol II.....	126

7. Resultats i discussió.....	140
▪ Capítol I.....	140
• Característiques clíniques i demogràfiques.....	141
• Al·lèrgens pol·línics.....	143
• Molècules de reactivitat encreuada.....	161
• Neumoal·lèrgens no pol·línics.....	166
• Paràsits i insectes.....	176
• Al·lèrgens d'aliments vegetals.....	177
• Al·lèrgens d'aliments no vegetals.....	190
• Provocacions nasals.....	193
• Altres resultats.....	193
▪ Capítol II.....	197
• Característiques clíniques i demogràfiques.....	198
• Molècules de reactivitat encreuada.....	200
• Al·lèrgens d'aliments vegetals.....	211
• Al·lèrgens d'aliments no vegetals.....	248
• Al·lèrgens pol·línics.....	262
• Neumoal·lèrgens no pol·línics.....	267
• Paràsits.....	276
• Insectes.....	277
8. Conclusions.....	279
9. Bibliografia.....	281

Sigles i acrònims

Sigles	Definició
ABPA	Aspergilosis broncopulmonar al·lèrgica
AND	Àcid desoxiribonucleic
AE	Angioedema
AF	Anafilaxi
BLAST	<i>“Basic Local Alignment Search Tool”</i>
BSA	Albúmina sèrica bovina
CCD	Determinant carbohidrat de reactivitat encreuada.
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
IgE	Immunoglobulina E
ISAC	Immuno Solid-phase Allergen Chip
ITE	Immunoteràpia específica
IUIS	Unió Internacional de Societats Immunològiques
kDa	KiloDaltons
LTP	Proteïnes transferidores de lípids
mL	mil·lilitres
OMS	Organització Mundial de la Salut
PM	Pes molecular
PR	Proteïnes relacionades amb la patogènesi.
RE	Reactivitat encreuada
SAO	Síndrome d'al·lèrgia oral
SDAP	<i>“Structural Database of Allergenic Proteins”</i>
TLP	Proteïna anàloga a la taumatina
UC	Urticària

*Companyys, alliberem les barques
de tanta corda inútil.
Hi ha grans rius que ens esperen.*

Miquel Martí i Pol, 1951-1953

Introducció

Definicions i conceptes

Al·lergen

Es defineix com aquell component específic, generalment proteïna o glicoproteïna hidrosoluble, que és reconegut per cèl·lules del sistema immunològic i es capaç de induir una resposta immunològica i provocar la conseqüent aparició de manifestacions clíniques de tipus al·lèrgic.

Els al·lèrgens es denominen utilitzant la sistemàtica del Subcomitè de Nomenclatura de l'Organització Mundial de la Salut (OMS) i de la Unió Internacional de Societats Immunològiques (IUIS). Seguint aquesta normativa es denominen d'acord amb el seu nom taxonòmic, agafant les tres primeres lletres del gènere, la primera lletra de l'espècie, i un número aràbic, que fa referència a l'ordre d'identificació de l'al·lergen. Per exemple Mal d 1, correspondria al primer al·lergen identificat de la poma, *Malus domestica*.

Font al·lèrgica

És un teixit, partícula, aliment o ésser viu que conte al·lèrgens i pot provocar al·lèrgia.

Al·lergen autèntic

Al·lergen que provoca una sensibilització específica a la font al·lèrgica originària.

Al·lergen primari

És l'al·lergen sensibilitzant original, és a dir, el desencadenant inicial de la resposta al·lèrgica.

Al·lergen majoritari:

Al·lergen que sensibilitza a més del 50% dels pacients sensibilitzats a l'extracte complet d'una font al·lèrgica. Generalment també són autèntics i primaris.

Al·lergen complet

Al·lergen capaç d'induir en el sistema immunològic la producció d'anticossos d'alta afinitat, sobretot Immunoglobulina E (IgE), i a més a més, desencadenar una reacció al·lèrgica en aquest individu prèviament sensibilitzat.

Al·lergen incomplet

Al·lergen capaç de desencadenar símptomes al·lèrgics en un individu prèviament sensibilitzat a al·lèrgens homòlegs per una via diferent a la de l'al·lergen que produeix els símptomes. Un exemple molt clar d'aquest tipus seria l'al·lèrgia a la poma en pacients al·lèrgics al pol·len de bedoll, en els que la sensibilització primària es produeix, per via inhalada, a l'al·lergen majoritari del bedoll, Bet v 1, essent reconegut de manera secundària a l'al·lergen homòleg de la poma, Mal d 1.

Extracte d'al·lèrgens

Barreja crua, no fraccionada de proteïnes al·lergèniques i no al·lergèniques, polisacàrids i lípids resultant de l'extracció d'una font al·lergènica com ara per exemple els grans del pol·len.

Molècula al·lergènica

Molècula (proteïna o glicoproteïna) derivada d'una font al·lergènica concreta identificada per anticossos IgE específics. Les molècules al·lergèniques es poden aïllar de fonts naturals (al·lergen natural purificat) o es poden produir amb tècniques d'àcid desoxiribonucleic (ADN) recombinant (al·lergen recombinant).

Epítops d'unió a anticossos IgE o epítops de cèl·lules B

Són grups d'aminoàcids de les proteïnes al·lergèniques que s'uneixen als anticossos de classe IgE. Existeixen dos tipus d'epítops IgE, els seqüencials o lineals i els de conformació. Els **epítops seqüencials** estan compostos per una seqüència d'aminoàcids contigua (estructura primària), mentre que els **epítops de conformació** estan definits per aminoàcids que s'organitzen de manera contigua per l'estructura terciària de la proteïna al·lergènica. Clàssicament en els aliments com l'ou, la llet, el peix o els llegums, les seves proteïnes

mantenen la seva capacitat al·lèrgica malgrat els processos d'escalfament i digestió i, per tant, tenen una gran importància els epítops seqüencials (estructura primària), mentre que per altres aliments com les fruites i les verdures, els al·lèrgens de conformació semblen ser més rellevants. La identificació i el mapeig dels epítops al·lèrgics IgE pot proporcionar informació addicional pel diagnòstic i el pronòstic de l'al·lèrgia a aliments. S'ha postulat que els individus amb al·lèrgia persistent o amb formes més greus de la malaltia reconeixen un major nombre d'epítops seqüencials que de conformació [Vila, 2001] [Restani, 2004] [Järvinen, 2007].

Estabilitat dels al·lèrgens

Els al·lèrgens que són sensibles al pH àcid de la digestió pèptica (rellevant a nivell gàstric) no són capaços de travessar la barrera gàstrica (excepte possiblement en els pacients tractats amb antiàcids [Pali-Scholl, 2011]). La termosensibilitat (cuiat o bullit) indica que l'al·lèrgen no conserva la seva capacitat al·lèrgica després del procés de cuiat o escalfament. Aquest escalfament pot ocórrer en el curs del processament alimentari industrial o a l'entorn domèstic. L'estructura dels al·lèrgens sensibles a la digestió per proteases s'altera pels enzims gàstrics i pancreàtics. Com a conseqüència, els al·lèrgens sensibles a aquests factors es consideren làbils, mentre que els que no s'alteren es consideren estables.

Reactivitat encreuada (RE)

Fenomen pel que un anticòs IgE reconeix, s'uneix i desencadena una resposta immunitària contra molècules al·lèrgiques semblants (homòlogues) presents en espècies diferents. Per exemple, una IgE que s'uneix i reacciona tant front la molècula de Bet v 1 del pol·len de bedoll com al Cor a 1 de l'avellaner a causa de la seva semblança estructural (definida generalment per una homologia de seqüència superior al 50-70% entre l'estructura primària de les proteïnes). La reactivitat encreuada (RE) de les IgE específiques sol ocórrer entre les següents molècules:

- a) Molècules al·lèrgèniques d'espècies molt pròximes (per exemple entre els al·lèrgens de les diferents espècies de gramínies o entre els al·lèrgens dels diversos àcars).
- b) Molècules conservades que tenen una funció similar entre espècies molt diferents i que pertanyen a la mateixa família proteica (per exemple membres de la família de la tropomiosina com Der p 10 en els àcars de la pols domèstica i Pen m 1 en el llagostí tigre negre).

Cosensibilització

Sensibilització autèntica a més d'una font al·lèrgènica (per exemple enfront l'herba timotea i el bedoll) no deguda al fenomen de RE.

Determinants de carbohidrats de reactivitat encreuada (CCD)

Els CCD són fraccions glucídiques de glicoproteïnes. Són marcadors de sensibilització als determinants de carbohidrats de reactivitat encreuada. Rarament provoquen reaccions al·lèrgiques, però, poden produir resultats positius “*in vitro*” front al·lèrgens que contenen CCD del pol·len, aliments d'origen vegetal, insectes i verins. El més descrit és MUXF3 [Mertens, 2011].

Epítop

Regió de la proteïna reconeguda per l'anticòs i a la qual s'uneix (lloc d'unió de l'anticòs).

Diagnòstic al·lèrgològic molecular

Conjunt de mètodes diagnòstics que defineixen la sensibilització al·lèrgènica d'un pacient a escala molecular per mitjà d'un al·lèrgen purificat, natural o recombinant, en plataformes úniques o múltiples.

Panal·lèrgen

Al·lèrgen de RE que pertany a una família de proteïnes conservades en un conjunt molt divers d'espècies i que és capaç de desencadenar la unió d'anticòs IgE (per exemple les proteïnes profilines o albúmines sèriques).

Al·lergen recombinant

Molècula al·lergènica produïda amb tècniques de clonació d'ADN i purificació de proteïnes. Els al·lèrgens recombinants es poden fabricar amb una qualitat i quantitat uniformes i sense estructura CCD. Les tècniques recombinants no permeten produir extractes d'al·lèrgens.

Sensibilització d'IgE específica

Presència d'IgE específica enfront l'al·lergen a la sang que pot anar acompanyada de símptomes clínics, però, no sempre.

- a) Monosensibilització: sensibilització a una font al·lergènica (per exemple *Dermatophagoides pteronyssinus*) o a una família o grup taxonòmic molt pròxim de fonts al·lergèniques (per exemple als àcars de la pols en aquest cas).
- b) Polisensibilització o multisensibilització: sensibilització a tres o més fonts al·lergèniques (per exemple àcars de la pols, pol·len de gramínies i pol·len de bedoll, entre molts d'altres).

Detecció d'IgE específica amb extractes d'al·lèrgens

Plataformes úniques o múltiples per a la determinació “*in vitro*” de la reactivitat de la IgE específica enfront els extractes d'al·lèrgens. Tanmateix, la utilització de les diferents plataformes comercials pot conduir a resultats diversos pel que s'ha de tenir en compte a l'hora de descriure i comparar els resultats. A més a més, aquests tipus de mètodes no poden identificar les molècules responsables dels fenòmens de RE. Al nostre medi la plataforma comercial més utilitzada es coneix com CAP (abreviatura d'ImmunoCAP®, Thermo-Fisher) en el cas de determinacions úniques i ISAC (abreviatura d'ImmunoCAP® ISAC, Thermo-Fisher) en el cas de determinacions múltiples.

Detecció d'IgE específiques amb mol·lècules al·lergèniques

Plataformes úniques o múltiples per a la determinació “*in vitro*” de la reactivitat de la IgE específica front mol·lècules al·lergèniques.

Concentració o nivell d'IgE específica

- a) *Alta*: concentració elevada d'anticossos IgE específics contra un extracte o molècula al·lèrgica. En general, com més gran sigui la concentració d'IgE específica, major és la probabilitat d'haver-hi reaccions clíniques. Tanmateix, alguns al·lèrgens també tenen una elevada probabilitat de provocar reaccions greus malgrat tinguin una baixa concentració d'IgE específica (per exemple les proteïnes d'emmagatzematge de llavors i les proteïnes transferidores de lípids conegudes com proteïnes LTP). Per contra, altres, no provoquen cap tipus de reacció clínica malgrat tenir concentracions elevades d'IgE específica (per exemple els determinants de carhidrats de reactivitat encreuada coneguts com CCD).
- b) *Baixa*: concentració baixa d'anticossos IgE específics contra un extracte o molècula al·lèrgica.

Introducció al diagnòstic molecular

Durant molts anys, el diagnòstic de les reaccions al·lèrgiques produïdes per un mecanisme IgE s'ha realitzat utilitzant barreges heterogènies de proteïnes tant "*in vivo*", mitjançant les proves intraepidèrmiques o "*skin prick-test*" i proves intradèrmiques, com "*in vitro*", mitjançant la determinació d'IgE específiques enfront a fonts al·lèrgiques completes, que inclouen barreges complexes de proteïnes amb un nombre i quantitat variable d'al·lèrgens. Aquest fet pot condicionar que obtinguem resultats variables en un mateix pacient així com diferents graus de correlació entre les diferents tècniques utilitzades [Valenta, 1999].

Afortunadament, les tècniques diagnòstiques en al·lèrgologia han experimentat un considerable avenç durant els últims anys. Això ha estat possible gràcies a la incorporació d'al·lèrgens purificats responsables de les sensibilitzacions dels pacients al·lèrgics [Chapman, 2000]. A finals del segle XX, Valenta [Valenta, 1999] i els seus col·laboradors definiren les bases del diagnòstic basat en la determinació quantitativa d'IgE específica enfront de molècules al·lèrgiques. La utilització d'al·lèrgens purificats o naturals i recombinants enlloc dels extractes provinents de fonts al·lèrgiques completes es coneix amb el nom de diagnòstic basat en components ("*Component-Resolved Diagnostic*", CRD).

Aquest diagnòstic al·lèrgològic molecular o per components permet definir de manera més precisa perfils individuals de sensibilització en pacients al·lèrgics **[Lin, 2009] [Bauermeister, 2009]**.

Aquests al·lèrgens es poden obtenir per expressió recombinant del DNA que codifica per l'al·lèrgen o bé per purificació de la font al·lèrgènica natural. La seva designació, d'acord amb el Subcomitè de Nomenclatura d'al·lèrgens de la Unió Internacional de Societats Immunològiques (IUIS), inclou el prefix "r" per a indicar que la molècula és el resultat d'expressió recombinant o el prefix "n" si la molècula ha estat purificada de la font al·lèrgènica.

Recentment, l'aplicació de la proteòmica al camp de l'al·lèrgologia ha permès la generació de micromatrius de proteïnes al·lèrgèniques individuals. Aquestes micromatrius (conegudes en anglès com "*microarrays*") permeten analitzar la capacitat d'unió a la IgE de múltiples al·lèrgens individuals en una única determinació i amb l'ús d'una mínima quantitat de sèrum dels pacients **[Poulsen, 2007]**. Actualment existeix només una micromatriu d'al·lèrgens comercialitzada, el biochip ImmunoCAP ISAC® de Thermo-Fisher **[Wohrl, 2006]**, que en la seva última versió conté 112 al·lèrgens individuals.

Hi ha varies bases de dades d'al·lèrgens que contenen informació detallada sobre les famílies de proteïnes, com la base de dades oficial de nomenclatura d'al·lèrgens de la "International Union of Immunological Societies" **[<http://www.allergen.org>]**, la base de dades de publicacions sobre al·lèrgens Allergome **[<http://www.allergome.org>]** o la base de dades d'al·lèrgens Allfam que els agrupa en famílies de proteïnes **[<http://www.meduniwien.ac.at/allergens/allfam>]**.

Utilització de components al·lèrgènics a la clínica

Avui per avui es coneix que un nombre important de reaccions al·lèrgiques a pol·len ve determinada per la sensibilització a molècules de RE **[Mari, 2001]**. El seu estudi té una gran importància pel correcte diagnòstic i tractament dels pacients al·lèrgics polisensibilitzats així com pel posterior desenvolupament de sensibilitzacions **[Barber, 2009]**. Per tant, probablement, la major utilitat del

diagnòstic amb molècules al·lèrgèniques individuals a la pràctica clínica sigui la de discriminar entre pacients amb una sensibilització genuïna d'aquells amb proves cutànies falsament positives a una gran quantitat d'extractes al·lèrgènics complets, a causa de la sensibilització a al·lèrgens de RE. Amb aquest propòsit, s'ha suggerit que s'utilitzin al·lèrgens principals, específics d'una determinada font al·lèrgènica, com a marcadors diagnòstics per a confirmar la sensibilització genuïna enfront aquesta font.

El fenomen de RE ocorre quan anticossos IgE originalment produïts contra un al·lèrgen, reconeixen una proteïna similar d'una altra font al·lèrgènica. El fonament molecular de la RE en al·lèrgia és la presència d'al·lèrgens homòlegs en diferents espècies, que presenten diferents graus d'identitat entre les seves seqüències d'aminoàcids, així com estructures tridimensionals similars, el que determina la presència d'epítops comuns reconeguts per un mateix tipus d'anticòs IgE.

Pel que fa a la predicció d'al·lèrgenicitat de proteïnes en relació amb els al·lèrgens coneguts, el consens actual és que proteïnes amb una identitat major del 35% sobre una seqüència de vuitanta aminoàcids o amb una identitat de sis aminoàcids consecutius, tenen probabilitat de tenir RE. Per tal que aquesta RE sigui clínicament rellevant, aquesta identitat ha de ser d'entre el 50 i el 70% **[Asturias, 2003a] [Torres Borrego, 2003] [García, 2011b]**. Tanmateix, també cal tenir present que la identitat de seqüència només identifica al·lèrgens seqüencials i per poder objectivar la similitud d'epítops de conformació s'ha d'avaluar l'estructura tridimensional de la proteïna. A l'actualitat disposem de diverses eines que ens permeten detectar identitats de seqüència com ara "Allermatch" [<http://allermatch.org>], "BLAST" ("Basic Local Alignment Search Tool") [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>] o "SDAP" ("Structural Database of Allergenic Proteins") [<http://fermi.utmb.edu/SDAP>].

Avui per avui sabem que el coneixement dels mecanismes patogènics que originen els diferents patrons clínics de RE en al·lèrgia és fonamental per avançar en aquest camp, tant des del punt de vista preventiu (per exemple aliments i pneumoal·lèrgens genèticament modificats), com diagnòstic

(entendre les sensibilitzacions associades sense repercussió clínica), com terapèutiques [possible ús de la immunoteràpia específica (ITE)] **[Kazemi-Shirazi, 2002] [Moreno-Aguilar, 2008] [García, 2011a]**. Aquesta tècnica ha portat a la utilització d'alguns al·lèrgens com a marcadors per a identificar a pacients que estan sensibilitzats a una varietat de fonts al·lèrgèniques per fenòmens de RE o bé aquells que estan sensibilitzats de forma primària a un al·lèrgen en particular, amb les implicacions pronòstiques i terapèutiques que això comporta, ja que les molècules recombinants pròpies de cada espècie podrien utilitzar-se per a millorar la decisió d'instaurar tractaments específics com ara per exemple els tractaments d'ITE.

Per tant, una de les utilitats clíniques més importants del diagnòstic molecular en al·lèrgia és la seva capacitat per revelar els al·lèrgens enfront als que se sensibilitzen els pacients, incloent els al·lèrgens específics d'espècie o primaris i els marcadors de RE. Identificar si la seva sensibilització és genuïna (sensibilització primària o espècie específica) o si es deu a RE amb proteïnes d'estructura similar pot ajudar a avaluar el risc de reacció davant l'exposició a diferents fonts al·lèrgèniques. Un altre exemple pràctic de l'ús d'aquestes micromatrius seria la seva aplicació en pacients pol·línics, la qual permet dilucidar, en una única determinació, quines són les sensibilitzacions genuïnes del pacient i, per tant, susceptibles de millorar mitjançant ITE i quines són conseqüència de fenòmens de RE i, per tant, sense indicació de rebre ITE **[Mothes, 2006] [Rodríguez, 2007] [Sastre, 2012]**.

Un altre camp d'investigació es dirigeix a determinar si la informació del diagnòstic molecular pot oferir indicis sobre les probabilitats de desenvolupar tolerància o si l'al·lèrgia serà persistent. Per tant, el diagnòstic molecular pot ser una eina per adaptar l'estratègia terapèutica a les particularitats de cada pacient en relació amb el temps. Algunes d'aquestes accions inclourien assessorament sobre reducció de l'exposició als al·lèrgens diana, selecció d'al·lèrgens adequats a la ITE o la necessitat de realitzar proves de provocació alimentàries.

La utilització de proves basades en micromatrius permet determinar el perfil de reactivitat d'IgE d'un pacient i valorar el seu patró de sensibilització clínica. El perfil complet pot oferir informació complementària als resultats obtinguts mitjançant proves basades en extractes o components al·lèrgics simples. Tanmateix, escollir quins components al·lèrgics cal avaluar s'ha de basar en la història clínica detallada, l'exploració física, els resultats de proves anteriors i altres factors com, l'edat, la geografia i l'exposició. Però, tal com passa amb totes les proves “*in vitro*”, aquestes sempre han d'avaluar-se junt amb l'historial anamnèsic del pacient perquè la sensibilització al·lèrgica no implica necessàriament clínica o patologia al·lèrgica.

Per tant, tal com ja s'ha comentat anteriorment, en els últims 40 anys, pel diagnòstic i el tractament al·lèrgològics, hem passat dels extractes d'al·lèrgens que contenien una barreja de fraccions al·lèrgèniques i no al·lèrgèniques obtingudes mitjançant l'extracció aquosa del material original, a proteïnes al·lèrgèniques purificades o naturals i recombinants, les quals ofereixen un diagnòstic i una terapèutica al·lèrgològiques molt més precises.

Famílies al·lèrgèniques

Els components al·lèrgènics poden classificar-se, segons la seva funció i estructura, en diferents famílies de proteïnes. En els últims anys ha quedat clar que la majoria d'al·lèrgens i els seus components pertanyen a un nombre limitat de famílies proteiques. Com ja s'ha explicat, els anticossos IgE dins de la mateixa família proteica solen mostrar RE i la classificació dels components al·lèrgènics en famílies de proteïnes pot ajudar a entendre millor el fenomen de RE.

La RE entre estructures moleculars molt relacionades podria explicar algunes de les síndromes descrites fins ara com per exemple la síndrome d'al·lèrgia oral (SAO), la síndrome làtex-fruïtes i la síndrome api-artemísia-pastanaga-espècies així com la RE coneguda entre les fruïtes de la família *Rosaceae* o entre les fruïtes seques d'arbres. D'aquesta manera, les profilines són proteïnes amb una estructura molt conservada i molt semblants en la seva seqüència primària, que no només estan presents a pràcticament tots el pol·len, sinó que

també contribueixen a les reaccions encreuades entre espècies sense relació botànica.

Els determinants de carbohidrats amb reactivitat encreuada (CCD, “*cross-reactive carbohydrate determinants*”) són molècules de carbohidrats unides a proteïnes presents a totes les plantes i en alguns insectes i àcars. Els anticossos IgE enfront CCD també podrien explicar la seva RE entre sí.

Un altre punt a considerar, ja s’ha mencionat anteriorment, és l’estabilitat de la proteïna. Aquest és un aspecte important que es té en compte a l’hora de classificar les proteïnes en diferents famílies ja que els al·lèrgens que són estables enfront la calor i la digestió tenen més probabilitat d’ocasionar una reacció clínica greu, mentre que els al·lèrgens sensibles a la calor i a la digestió tenen més probabilitat de ser tolerats o de causar símptomes només lleus i locals (per exemple pruíja a la cavitat oral). Per tant, és molt important conèixer l’estructura proteica i a quina família de proteïnes al·lèrgèniques pertany el component, a més a més, de la seva estabilitat enfront la calor i la digestió, ja que aquestes característiques podrien afectar a la tolerància de diferents aliments i al grau d’intensitat de les reaccions clíniques. Així, mentre alguns al·lèrgens alimentaris poden tolerar-se en cru, altres han d’estar cuinats i, per altra banda, mentre alguns al·lèrgens donen lloc a reaccions lleus, moderades o greus, altres causen sensibilitzacions sense cap tipus de rellevància clínica. A la **taula 1** es detallen les principals famílies proteiques descrites fins al moment.

Taula 1. Famílies proteiques.

Família proteica	Característiques	Al·lèrgens presents a la micromatriu comercial l'ISAC® 103 (Phadia)	Al·lèrgens presents a la micromatriu comercial l'ISAC® 112 (Thermo-Fisher)
Proteïnes transferidores de lípids no específiques (nsLTP)	Estables a la calor i a la digestió. Són causants de reaccions també enfront aliments cuinats. Sovint s'associen a reaccions sistèmiques i greus. Ocasionen reaccions al·lèrgiques amb fruites i verdures. Predominen al Sud d'Europa.	nArt v 3 rCor a 8 rPru p 3 rPar j 2	rAra h 9 nArt v 3 rCor a 8 nJug r 3 nOle e 7 rPar j 2 rPla a 3 rPru p 3 rTri a 14
Proteïnes d'emmagatzematge de llavors	Es troben a les llavors, fruita seca i llegums. Serveixen com a font d'aliment durant el creixement d'una nova planta. Solen ser proteïnes estables i resistents a la calor. Per tant, causen també reaccions amb aliments cuinats. La RE entre elles és limitada i escassa.	rAna o 2 nAra h 1 nAra h 2 nAra h 3 rBer e 1 nCor a 9 nGly m 5 nGly m 6 nSes i 1	rAna o 2 rAra h 1 rAra h 2 rAra h 3 nAra h 6 rBer e 1 nCor a 9 nFag e 2 nGly m 5 nGly m 6 nJug r 1 nJug r 2 nSes i 1

<p>Proteïnes de la família 10 de proteïnes relacionades amb la patogènia (PR-10) o Homòlogues de Bet v 1</p>	<p>Són proteïnes termolàbils pel que els pacients al·lèrgics a aquesta família de molècules generalment toleren els aliments cuinats. Són proteïnes homòlogues de Bet v 1 i sovint s'associen a símptomes locals com SAO per al·lèrgia a fruites i verdures. Predominen al Nord d'Europa. Poden predisposar a les reaccions al·lèrgiques per fruites de la família <i>Rosaceae</i>, avellana, pastanaga i api.</p>	<p>nAct d 8 rAln g 1 rApi g 1 rAra h 8 rBet v 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rDau c 1 rGly m 4 rMal d 1 rPru p 1</p>	<p>rAct d 8 rAln g 1 rApi g 1 rAra h 8 rBet v 1 rCor a 1.0101 rCor a 1.0401 rGly m 4 rMal d 1 rPru p 1</p>
<p>Profilines</p>	<p>Són proteïnes d'unió a actina que mostren una gran homologia de seqüència i RE fins i tot entre espècies amb una relació distant. Es reconeixen com al·lèrgens a plantes i aliments relacionats amb les plantes. Rarament s'associen a símptomes clínics tot i que poden ocasionar reaccions que a vegades fins i tot poden arribar a ser molt greus en una minoria de pacients. La sensibilització a profilines és una de les responsables de la positivitat múltiple, objectivada a les proves cutànies intraepidèrmiques o determinació d' IgE específiques enfront extractes complets de plantes i pol·len, sense rellevància clínica.</p>	<p>rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1 nOle e 2 rPhl p 12</p>	<p>rBet v 2 rHev b 8 rMer a 1 rPhl p 12</p>

CCD	<p>Poden utilitzar-se com marcadors de sensibilització a fraccions de proteïna-carbohidrat (pol·len, himenòpters). Rarament s'associen a símptomes clínics, tot i que en algun nombre limitat de pacients sí que s'ha descrit que poden causar reaccions al·lèrgiques.</p>	Ana c 2	nMUXF3
Polcalcines	<p>Proteïnes amb elevada capacitat de RE presents a pol·len, però, no a aliments d'origen vegetal.</p>	rBet v 4 rPhl p 7	rBet v 4 rPhl p 7
Albúmines sèriques	<p>Són proteïnes comunes presents a diferents sòlids i fluids biològics (per exemple proteïna de llet de vaca, vedella, ou i pollastre). La sensibilització a albúmines sèriques podria donar lloc a reaccions de les vies aèries enfront a animals mamífers així com reaccions alimentàries a la carn i a la proteïna de llet de vaca. Són proteïnes bastant sensibles a la calor i a la digestió. És freqüent la RE entre les albúmines de les diferents espècies.</p>	nBos d 6 nCan f 3 nEqu c 3 nFel d 2 nGal d 5	nBos d 6 nCan f 3 nEqu c 3 nFel d 2 nGal d 5

Parvalbúmines	<p>Són els principals al·lèrgens del peix. També són marcadors de RE entre diferents espècies de peixos i amfibis. Les proteïnes parvalbúmines són estables a la calor i a la digestió i, per tant, també produeixen reaccions quan el pacient ingereix els aliments cuinats.</p>	<p>rCyp c 1 rGad c 1</p>	<p>rGad c 1</p>
Tropomiosines	<p>Són proteïnes d'unió a actines a les fibres musculars. Poden utilitzar-se com marcadors de RE entre crustacis, àcars, escarabats i nemàtodes. Són proteïnes estables a la calor i a la digestió que també poden causar reaccions quan l'aliment s'ingereix cuinat.</p>	<p>rAni s 3 nBla g 7 rDer p 10 rPen a 1 nPen i 1 nPen m 1</p>	<p>rAni s 3 nBla g 7 rDer p 10 nPen m 1</p>
Lipocalines	<p>Són proteïnes estables i al·lèrgens molt importants dels animals. Els components al·lergènics que pertanyen a la família de les proteïnes lipocalines només mostren RE limitada entre espècies.</p>	<p>nBos d 5 rCan f 1 rCan f 2 rFel d 4 nMus m 1</p>	<p>nBos d 5 rCan f 1 rCan f 2 rEqu c 1 rFel d 4 nMus m 1</p>

El fet que les molècules de RE comparteixin propietats estructurals i immunològiques fa que s'hagi suggerit l'ús de molècules representatives de cada família de proteïnes, que continguin la majoria dels epítops significatius responsables de la RE, com al·lèrgens marcadors de polisensibilització amb propòsits diagnòstics i terapèutics.

Estudis d'inhibició encreuada entre polcalcines de diferent pol·len han demostrat que la polcalcina de l'herba timotea (Phl p 7) és l'al·lèrgen amb major capacitat de reactivitat encreuada dins d'aquesta família, de manera que s'ha proposat com a marcador de sensibilització a polcalcines [Barber, 2009] [Asero, 2010] (figura 1).

Respecte a les profilines, Radauer i els seus col·laboradors [Radauer, 2006] han demostrat que l'extensa reactivitat encreuada entre elles justifica l'ús d'una única profilina pel diagnòstic, essent les profilines amb major reactivitat encreuada Phl p 12, Bet v 2 i Hev b 8 (figura 1). El grup de treball de Valenta [Westritschnig, 2007] suggereix l'ús de la profilina recombinant d'herba timotea (rPhl p 12) com a marcadora de sensibilització a profilines. Per altra banda, els estudis de Villalba i col·laboradors [Barderas, 2004] apunten que la profilina recombinant de *Chenopodium album* (rChe a 2) també és un bon marcador de sensibilització a aquesta família de proteïnes.

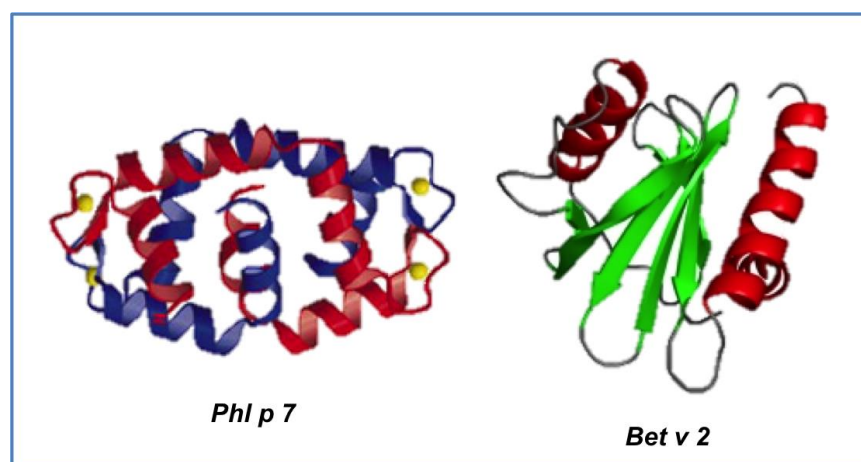


Figura 1. Molècula polcalcina (Phl p 7) i molècula profilina (Bet v 2) [www.allergome.org].

A continuació es procedirà a descriure els al·lèrgens que s'han determinat en aquesta tesi doctoral començant per les molècules marcadores de RE i, posteriorment es procedirà a descriure els al·lèrgens específics de les principals famílies taxonòmiques.

Reactivitat encreuada per aliments d'origen animal

Reactivitat encreuada per proteïnes làctiques

Llet (*Bos domesticus*)

Bos d 4 (lactoalbúmina), Bos d 5 (lactoglobulina), Bos d 6 (albúmina sèrica), Bos d 8 (caseïna) i Bos d lactoferrina

La majoria de pacients al·lèrgics a la llet estan sensibilitzats a diverses proteïnes de la llet de vaca sense haver-hi un component al·lèrgic que es pugui considerar com únic responsable de l'al·lèrgia a aquesta.

A partir dels 1,5-2 anys d'edat, aproximadament el 80% dels nens amb al·lèrgia a la proteïna de llet de vaca comencen a desenvolupar gradualment tolerància a aquesta, pel que l'al·lèrgia en adults és molt menys freqüent que a la infància. Per altra banda, els nens que van superant la seva al·lèrgia a la llet presenten anticossos IgE dirigits principalment als epítops de conformació, mentre que els nens amb al·lèrgia persistent a la llet mostren majors nivells d'anticossos IgE dirigits als epítops seqüencials **[Chatchatee, 2001] [Vila, 2001] [Jarvinen, 2002]**.

Els epítops conformacionals es destrueixen sobretot per les altes temperatures. Fa ja alguns anys Nowak-Wegrzyn i els seus col·laboradors van publicar un treball on demostraren que la majoria de nens al·lèrgics a la llet toleraven la llet calenta **[Nowak-Wegrzyn, 2008]**.

Per altra banda també es va veure que els nens que reaccionaven a la llet

calenta presentaven inicialment nivells més alts d'IgE enfront la caseïna i la beta-lactoglobulina i associaven un major risc de reaccions sistèmiques. Aquest estudi va suggerir que hi podria haver dos fenotips diferents de nens al·lèrgics a la llet amb les implicacions diagnòstiques i terapèutiques que aquest fet comportaria.

La llet conté com a mínim unes vint-i-cinc proteïnes al·lergèniques diferents. Les caseïnes constitueixen el 80% i les proteïnes del sèrum el 20% del total. Entre les caseïnes, trobem la alfa-caseïna (s_1 i s_2) (Bos d 8), que constitueix el 40% del total, la beta-caseïna i la kappa-caseïna. Les caseïnes són termoestables, però, es degraden amb proteases. Entre les proteïnes del sèrum trobem l'alfa-lactoalbúmina (Bos d 4), la beta-lactoglobulina (Bos d 5) amb les seves variants A i B, l'albumina sèrica bovina (BSA) (Bos d 6), immunoglobulines bovines, lactoferrina (Bos d lactoferrina), transferrina, lipases i enterases [Chatchatee, 2001] [Järvinen, 2001] [Järvinen, 2002] [Järvinen, 2009].

Pel que fa a la llet d'altres bovins (cabra, ovella, bufala), les alfa-caseïnes presenten una homologia superior al 85% i més del 90% dels pacients al·lèrgics a la llet de vaca tenen també reactivitat clínica amb la llet de cabra (**figura 2**). Les llet d'euga i burra presenten una reactivitat encreuada dèbil (només el 4% dels al·lèrgics a la llet de vaca tenen símptomes amb llet d'euga en estudis realitzats amb doble cec i placebo). Tanmateix, la llet de camella és la que menor RE presenta, pel que podria ser una bona alternativa en els pacients al·lèrgics [Wal, 2004] [Restani, 2009].

Per altra banda, entre el 13 i el 20%, segons les sèries, dels pacients al·lèrgics a la proteïna de llet de vaca, són també al·lèrgics a la carn de vedella (oposadament, aproximadament el 90% dels nens al·lèrgics a la carn de vedella ho són també a la proteïna de llet de vaca). La proteïna responsable d'aquesta RE, és l'albumina sèrica bovina també coneguda com BSA, que és parcialment termolàbil, pel que la possibilitat de reactivitat clínica disminueix si la carn està molt cuinada [Restani, 2004].

Varis estudis han demostrat que pacients sensibilitzats a llet de vaca, BSA i epitelis d'animals, reconeixen BSA de diferents carns (vedella, xai, porc i cérvol) tot i que les toleren ben cuinades. A aquests pacients sensibilitzats a BSA se'ls aconsella que evitin la carn poc feta [Hilger, 1997] [Tanabe, 2002] [Restani, 2004].

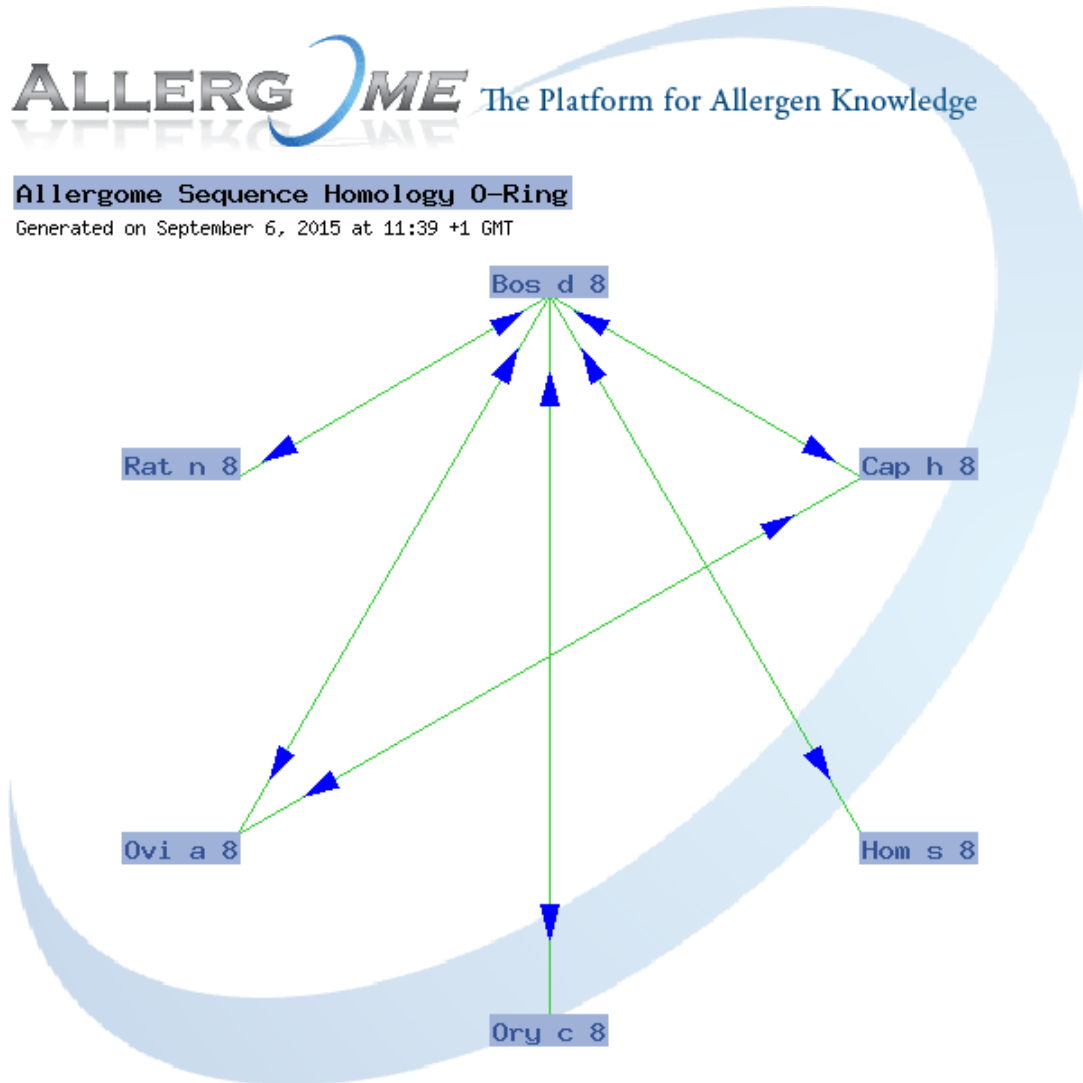


Figura 2. Homologia de seqüència entre proteïnes caseïnes de diferents espècies [www.allergome.org].

Reactivitat encreuada per proteïnes d'ou. Síndrome au-ou.

Ou (*Gallus domesticus*)

**Gal d 1 (ovomucoide), Gal d 2 (ovoalbúmina),
Gal d 3 (conalbúmina o ovotransferrina),
Gal d 5 (livetina o albúmina sèrica)**

Els principals al·lèrgens de la clara d'ou de gallina són l'ovomucoide (Gal d 1), l'ovoalbúmina (Gal d 2), la conalbúmina o ovotransferrina (Gal d 3) i la lisozima (Gal d 4, aquesta no present a la micromatriu comercial ISAC® 103 ni 112). La RE entre proteïnes d'ou de diferents aus és molt alta tot i que no hi ha estudis sistemàtics (**figura 3**). S'han descrit reaccions d'hipersensibilitat a l'ou d'ànec i oca amb bona tolerància a l'ou de gallina, però, són casos molt aïllats. Tot i que l'ovomucoide només suposa el 10% de la proteïna total de la clara, ha demostrat ser l'al·lèrgen dominant [**Bernhisel-Broadbent, 1994**] [**Benhamou, 2009**].

Gal d 1 (ovomucoide) presenta varies característiques úniques, com l'estabilitat enfront la calor i la digestió per proteases. Resulta al·lèrgic en quantitats molt petites. Els anticossos IgE enfront Gal d 1 constitueixen un factor de risc per l'al·lèrgia persistent a l'ou i indiquen la no tolerància a l'ou tant cru com cuit [**Ando, 1997**] [**Jarvinen, 2007**] [**Ando, 2008**] [**Lemon-Mule, 2008**]. Per contra, l'absència o els nivells baixos d'anticossos IgE enfront Gal d 1 s'associen a una major probabilitat de desenvolupar tolerància [**Järvinen, 2007**]. A més a més, la quantificació d'anticossos enfront Gal d 1 també pot ser útil per l'al·lèrgic a l'hora de decidir si ha de fer una prova de tolerància oral o no. Gal d 5 està present al rovell d'ou com a proteïna livetina i en el pollastre com a albúmina sèrica [**Quirce, 2001**].

Pel que fa al perfil clínic de la síndrome au-ou, es tracta de pacients, generalment adults que estan en contacte amb ocells, sobretot de la família *Psittacidae* (lloros, cacatues i periquitos) i que desenvolupen símptomes respiratoris pel seu contacte. Posteriorment, aquests pacients es tornen

al·lèrgics al rovell de l'ou. L'al·lergen responsable d'aquesta RE és l'alfa-livetina (PM 70 kDa) que també s'ha identificat com l'albumina sèrica del pollastre (Gal d 5). Es troba al rovell de l'ou, al sèrum de les aus i a les seves plomes. El mecanisme patogènic consisteix en què les aus alliberen partícules microscòpiques (d'aproximadament 1 micròmetre de diàmetre) amb aquesta proteïna que es troba a les glàndules uropigials i contaminen l'ambient de la casa. A més a més, s'ha demostrat que aquest al·lergen actua com un inhalant capaç de produir símptomes respiratoris en estudis de provocació bronquial específica i pot detectar-se a l'ambient domèstic.

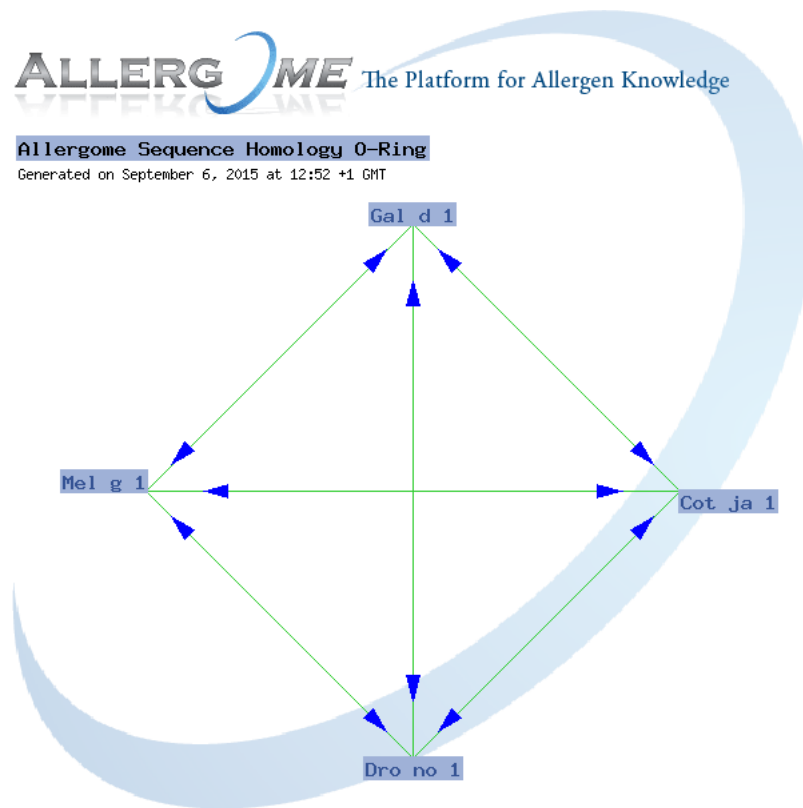


Figura 3. Homologia de seqüència entre proteïnes ovomucoïdes de diferents espècies [www.allergome.org].

Reactivitat encreuada per proteïnes de carn de mamífers

Albúmines sèriques

Bos d 6, Can f 3, Equ c 3, Fel d 2, Gal d 5

La hipersensibilitat a la carn és molt poc freqüent, sobretot en adults. La prevalença té àmplies variacions geogràfiques i la dieta específica de cada lloc és important pel desenvolupament de sensibilitzacions específiques (per exemple l'al·lèrgia a la carn de cangur a Austràlia o a la carn de foca a Alaska). L'al·lèrgia a la carn de mamífers no es correlaciona amb l'al·lèrgia a la carn d'aus. A la nostra àrea geogràfica, l'al·lèrgia a la carn de vedella és la més freqüent. Pel que fa als al·lèrgens de la carn, actualment disposem de pocs estudis moleculars tot i que s'han identificat Bos d 6 (albúmina sèrica de la vaca), Bos d 7 (immunoglobulina de la vaca) i Gal d 5 (albúmina sèrica del pollastre) (**figura 4**). Altres albúmines sèriques s'han associat amb al·lèrgia a altres espècies com el porc, el xai o el conill, però, no estan incloses a la llista oficial d'al·lèrgens [<http://www.allergen.org/treeview.php>]. També hi ha algunes publicacions d'al·lèrgens menors responsables d'ocasionar patologia al·lèrgica en carns de mamífers (vedella, porc, cangur, foca, balena, pollastre i gall d'indi) com l'actina, la miosina i l'alfa-parvalbúmina. Pel que fa a la tropomiosina, l'al·lèrgen major dels crustacis, tal com veurem més endavant, no té pràcticament implicacions en l'al·lèrgia a carns de mamífers o aus.

En aquest punt és molt important també remarcar alguns estudis publicats durant els últims anys en els que s'ha descrit reaccions sistèmiques tardanes (3-6 hores) en pacients després de la ingesta de diferents carns (vedella, porc i xai). En aquests estudis s'ha demostrat la presència d'IgE específica enfront a un determinant hidrocarbonada, la galactosa-alfa-1,3-galactosa (alfa-gal), que és un determinant antigènic que s'expressa a les proteïnes de mamífers no primats [**Commins, 2009b**]. També s'ha descrit alfa-gal en immunoglobulines A dels felins [**Grönlund, 2009a**] i en materials que contenen gelatina.

Aquest carbohidrat es considera responsable d'alguns casos d'anafilaxi per cetuximab, un anticòs monoclonal utilitzat en les metàstasis del càncer colorectal ja que aquest conté també alfa-gal. Abans de la comercialització de l'ImmunoCAP® específic per alfa-gal s'havia proposat utilitzar aquest preparat per detectar la sensibilització a l'alfa-gal ja que les proves cutànies amb la carn són negatives en aquests pacients. També alguns estudis han postulat que la sensibilització primària a aquesta molècula podria provenir de la picada de paparres del bestiar [Commins, 2011].

L'al·lergen responsable més important de la RE de la carn de mamífers és l'albumina (BSA), una proteïna d'uns 67 kDa, parcialment termolàbil. Això implica que l'al·lergen és conformacional i que la carn cuïta o cuïnada, tal com ja s'ha comentat, podria modificar l'estructura tridimensional de la molècula i tolerar-se. Tanmateix, s'han publicat casos aïllats de pacients amb reaccions al·lèrgiques alimentàries després de la ingesta de carns molt fetes [Commins, 2009b] [Grönlund, 2009a] [Commins, 2011] [Mullins, 2012].

Podem diferenciar tres tipus de RE en l'al·lèrgia a carns de mamífers:

1. **RE entre carn de diferents espècies animals.** Aquesta RE seria major entre animals filogenèticament similars. D'aquesta manera, els pacients al·lèrgics a la carn de vedella poden reaccionar amb la carn d'ovella i porc, però, no amb les carns d'aus. A la inversa, els pacients al·lèrgics a la carn de pollastre no toleraran carn de gall d'indi, però, sí que toleraran la carn de mamífers.
2. **RE entre carns i altres aliments d'origen animal.** Els pacients al·lèrgics a la proteïna de llet de vaca i a la carn de vedella degut a la RE per l'al·lèrgia a la BSA o reaccions per al·lèrgia a l'ou i a la carn de pollastre; en aquest cas la proteïna responsable és l'albumina sèrica del pollastre.
3. **RE entre carns i epitelis d'animals.** S'han publicat casos de reaccions tipus IgE (sobretot urticària-angiedema) després de la ingesta

de carns en pacients amb sensibilització clínica o subclínica a epitelis d'animals. En aquest cas la BSA també és la proteïna responsable d'aquestes síndromes ja que es troba a la pell i a les secrecions dels mamífers amb una estructura ben conservada (Fel d 2, del gat, Can f 3 del gos o Equ c 3 del cavall). S'ha descrit la síndrome gat-porc (al·lèrgia a la carn del porc i símptomes respiratoris amb el gat), xai-gat (la xai de carn es considera com la menys al·lèrgènica dels mamífers) o la síndrome cavall-hàmster (asma per epiteli de hámster i al·lèrgia a la carn del cavall). A la majoria dels casos, els pacients tenen inicialment símptomes respiratoris amb els epitelis i posteriorment desenvolupen l'al·lèrgia alimentària.

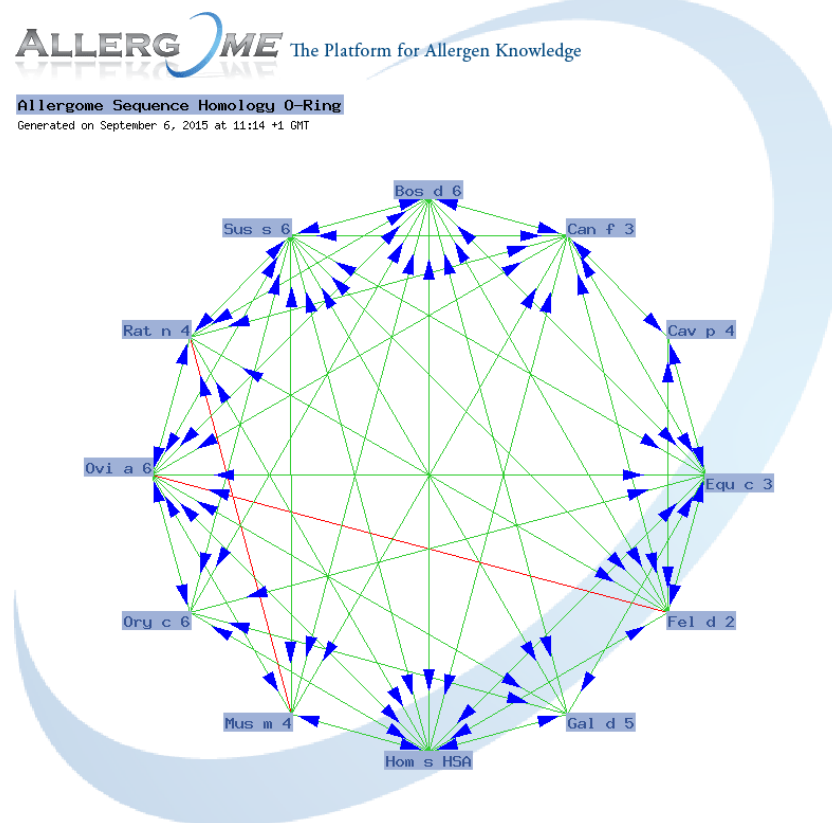


Figura 4. Homologia de seqüència entre proteïnes albúmines sèriques [www.allergome.org].

Lipocalines

Bos d 5, Can f 1, Can f 2, Equ c 1, Fel d 4, Mus m 1

Les lipocalines, són al·lèrgens animals presents en vertebrats, artròpodes i bacteries. S'han identificat en escarabats (Bla g 4), rosegadors (Rat n 1, Mus m 1), llet de vaca (Bos d 5, beta-lactoglobulina) així com en el gos (Can f 1, Can f 2), el cavall (Equ c 1) i el gat (Fel d 4) (**figura 5**). Es desconeix el seu paper clar pel que fa a la RE en l'al·lèrgia alimentària tot i que sí que està ben establert el seu paper en la RE entre epitelis.

Actualment la micromatriu que tenim comercialitzada al nostre país (ISAC® 112 molècules de Thermo-Fisher) disposa dels antígens de Bos d 5, Can f 1, Can f 2, Equ c 1, Fel d 4, Mus m 1 per a la seva determinació; els mateixos que contenia ISAC® 103 (Phadia) llevat d'Equ c 1 (no present a ISAC® 103).

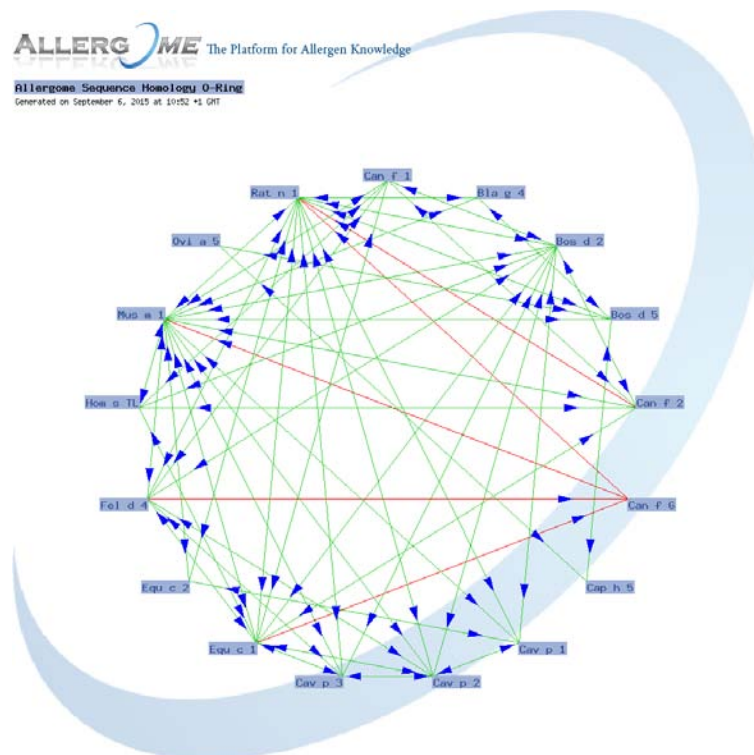


Figura 5. Homologia de seqüència entre proteïnes lipocalines [www.allergome.org].

Reactivitat encreuada per tropomiosines

Tropomiosines

Ani s 3, Bla g 7, Der p 10, Pen a 1, Pen i 1, Pen m 1

La tropomiosina és l'al·lèrgen major responsable de les reaccions al·lèrgiques amb marisc (crustacis, mol·luscs). Es tracta d'una proteïna de PM entre 34-39 kDa, hidrosoluble, termoestable, volàtil i amb tres isoformes identificades fins el moment. Aquesta proteïna fou identificada en gambes del gènere *Penaeus aztecus*, *Penaeus indicus* i *Metapenaeus ensis* pel que s'anomenà *Pen a 1*, *Pen i 1* i *Met e 1*, respectivament. Estudis estructurals recents mostren que *Pen a 1* té vuit epítops en cinc regions diferents i que l'epítop 1 és el que presenta major diferència de seqüència entre les diferents espècies, mentre que la resta tenen una identitat de seqüència gairebé perfecte.

Les tropomiosines també s'han identificat en mol·luscs (ostra, cargol, musclo), cefalòpodes (calamar, pop, sèpia) i insectes (escarabat), havent-se demostrat RE "in vitro" entre totes elles. Per altra banda, els al·lèrgens d'àcars Der p 10 i Der f 10 pertanyen al grup de les tropomiosines i mostren una gran identitat de seqüència amb Pen a 1, al igual que Blo t 10 (*Blomia tropicalis*), Bla g 7 (*Blatella germanica*) i Lep d 10 (*Lepidoglyphus destructor*) (**figura 6**).

També s'ha identificat una tropomiosina al·lèrgènica (Ani s 3) en el nemàtode *Anisakis simplex*, paràsit del peix, amb gairebé un 74% d'homologia de seqüència amb Pen a 1 i en quironòmids. De tot això podem dir que la tropomiosina és una molècula dels invertebrats responsable de les síndromes de RE entre aquests.

Podem diferenciar dos tipus de RE entre tropomiosines:

1. **RE dins del grup dels mariscs.** La RE clínica és molt freqüent entre els diferents crustacis (gamba, llagostí, cranc, llagosta) donada la seva elevadíssima homologia (al voltant del 98%). Però, també els pacients

al·lèrgics a crustacis poden reaccionar a espècies de mol·luscs i cefalòpodes. Tanmateix la identitat de seqüència entre la tropomiosina de crustacis (gamba) i mol·luscs (musclo) és menor (61%).

2. **RE entre mariscs i altres invertebrats.** La RE s'ha descrit sobretot entre àcars i crustacis pel que s'ha usat la terminologia àcars-crustacis-mol·luscs. La sensibilització primària sembla que pot ser respiratòria degut als àcars, tal com s'ha demostrat en estudis amb jueus ortodoxes que no mengen crustacis per motius religiosos i que presenten sensibilització a la tropomiosina de la gamba. Pel que fa a les tropomiosines de vertebrats, no són al·lergèniques degut a la seva alta identitat amb l'humana (al voltant del 90%) front al 54% d'identitat amb la tropomiosina dels invertebrats [Lopata, 2010].

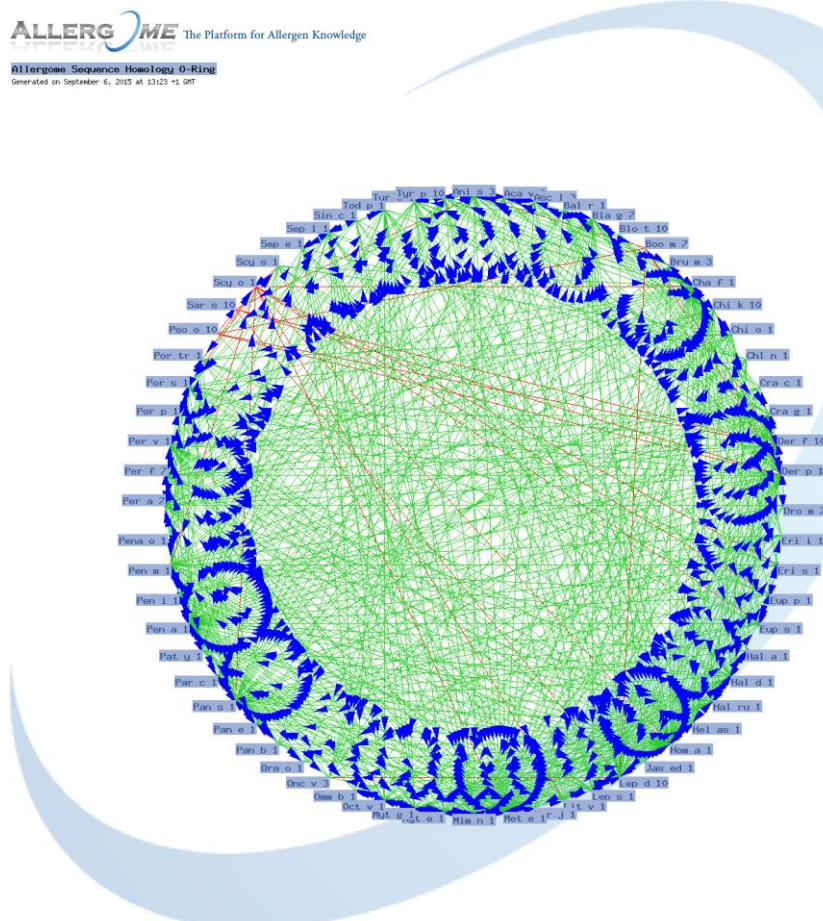


Figura 6. Homologia de seqüència entre proteïnes tropomiosines [www.allergome.org].

Gamba marró (*Penaeus aztecus*)

Pen a 1

Fins a l'actualitat s'han identificat varis al·lèrgens de la gamba [Lopata, 2009]. Pen a 1, que és una tropomiosina, es detecta en aproximadament el 80% dels pacients al·lèrgics a les gambes i es considera que pen a 1, extret de la gamba marró, és també representatiu d'altres tropomiosines de gamba. Tal com s'ha comentat anteriorment, la RE entre les tropomiosines és molt elevada. D'aquí que alguns estudis senyalin aquest fenomen de RE entre tropomiosines com a responsable de l'aparició d'al·lèrgia a la gamba en pacients que estan rebent ITE enfront els àcars de la pols domèstica [Van Ree, 1996] [Fernandes, 2003]. Ara bé, actualment, la micromatriu que tenim comercialitzada al nostre país (ISAC® de 112 molècules de Thermo-Fisher) no disposa de la molècula Pen a 1 de la gamba marró la qual sí que es trobava present a l' ISAC® 103 (Phadia).

Gamba tigre negra (*Penaeus monodon*)

Pen m 1, Pen m 2, Pen m 4

La molècula tropomiosina Pen m 1, extreta de la gamba tigre negra, ja present a la micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia) també es pot determinar a la micromatriu comercial ISAC® 112 (Thermo-Fisher). L'ISAC® 112 (Thermo-Fisher) conté també Pen m 2 i Pen m 4, ambdues extrems de la gamba tigre negra al igual que Pen m 1. Pen m 2, que és una proteïna arginina-quinasa de 40kDa, sembla que és una bona molècula de predicció d'al·lèrgia al marisc [Yu, 2003], de la mateixa manera que Pen m 4, que és una proteïna sarcoplasmàtica d'unió al calci de 20 kDa. Totes aquestes proteïnes són termoestables tot i que es desconeix la seva importància en els fenòmens de RE clínica [Ayuso, 2008] [Ayuso, 2009].

Gamba tropical (*Penaeus indicus*)

Pen i 1

Pen i 1, tropomiosina de la gamba tropical com ja s'ha mencionat anteriorment, es podia determinar amb la versió ISAC® 103 (Phadia), però, ja no es troba present a la versió ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

Reactivitat encreuada per àcars de la pols domèstica

Àcars de la pols

Blomia tropicalis, Dermatophagoides pteronyssinus, Dermatophagoides farinae, Euroglyphus mannei, Lepidoglyphus destructor

Àcars de la pols domèstica

Dermatophagoides pteronyssinus, Dermatophagoides farinae

Der f 1, Der f 2, Der p 1, Der p 2, Der p 10

Els àcars són els al·lèrgens més freqüents a tot el món. L'àcar de la pols domèstica més important és *Dermatophagoides pteronyssinus* i en les àrees més seques és *Dermatophagoides farinae*.

Der p 1 (cisteïna-proteasa) i Der p 2 (família NPC2) són marcadors específics per la sensibilització als àcars de la pols domèstica [Thomas, 2002]. Més del 80-90% dels pacients al·lèrgics als àcars presenten anticossos IgE enfront aquests components [Pittner, 2004]. Per tant, Der p 1 i Der p 2 poden utilitzar-se com a marcadors específics de sensibilització i com a indicadors d'iniciar un possible tractament amb ITE enfront els àcars en cas que el pacient presenti símptomes clínics suggestius d'al·lèrgia a aquests. Per altra banda, també remarcar que diversos estudis han demostrat elevada RE entre els diferents al·lèrgens *Pyroglyphidae* dels grups 1 i 2 [Fernandez-Caldas, 2008] (figura 7).

Der p 10, molècula tropomiosina, es troba present en el 10% dels pacients al·lèrgics als àcars de la pols. Tal com ja s'ha referenciat prèviament, sembla que l'exposició a la tropomiosina dels àcars podria sensibilitzar a la tropomiosina de la gamba [Fernandes, 2003]. També s'ha postulat que els pacients amb IgE positiva enfront la molècula Der p 10 sembla que poden presentar major risc de patir reaccions al·lèrgiques per marisc (crustacis i mol·luscs), insectes i paràsits [Lopata, 2009].

Aquests cinc al·lèrgens dels àcars de la pols (Der f 1, Der f 2, Der p 1, Der p 2, Der p 10) es poden determinar tant amb la micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia) com amb l'ISAC® 112 (Thermo-Fisher).

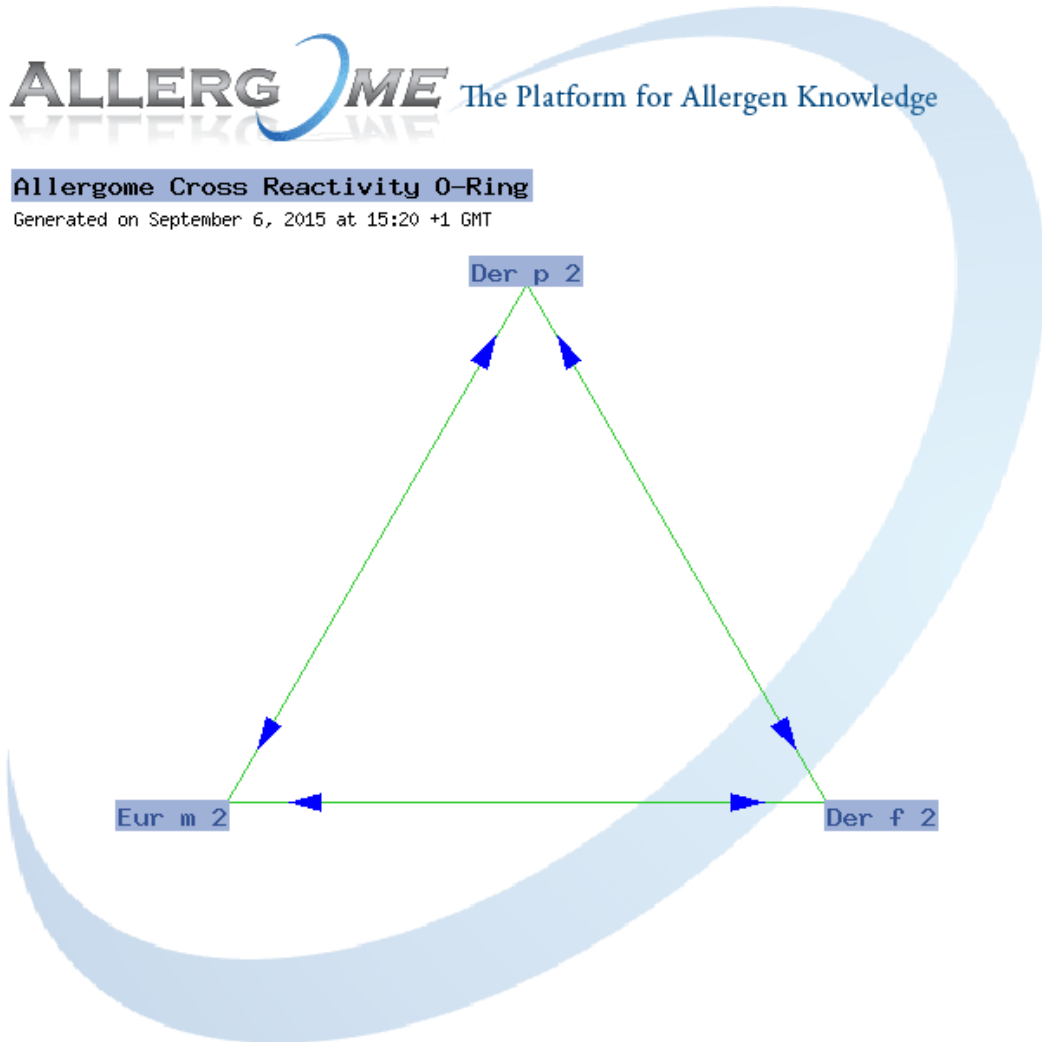


Figura 7. RE entre els àcars del Grup 2 [www.allergome.org].

Blomia tropicalis

Blo t 5

Blo t 5 de la *Blomia tropicalis*, que és un àcar no *Pyroglyphidae*, és un al·lergen que presenta RE parcial amb al·lèrgens dels àcars *Pyroglyphidae*. Una reacció positiva a Blo t 5 pot suggerir sensibilització a diferents espècies d'àcars [Caraballo, 1998] [García-Robaina, 1998]. Aquest al·lergen dels àcars no es trobava present a la micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia), però, sí que s'ha incorporat a la nova versió ISAC® 112 (Thermo-Fisher).

Lepidoglyphus destructor

Lep d 2

Lep d 2, de *Lepidoglyphus destructor* (àcar de dipòsit), és un al·lergen del Grup 2 amb certa RE limitada enfront els àcars de la pols domèstica. De la mateixa manera que Blo t 5, Lep d 2 no es trobava present a la micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia), però, sí que s'ha incorporat a la nova versió ISAC® 112 (Thermo-Fisher).

Euroglyphus mannei

Eur m 2

És un àcar *Pyroglyphidae* del Grup 2. Presenta RE amb altres àcars de la pols (**figura 7**) . L'al·lergen Eur m 2, estava present a la micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia), però, va ser eliminat de la versió ISAC® 112 (Thermo-Fisher).

Reactivitat encreuada per escarabats

Blatella germanica

Bla g 1, Bla g 2, Bla g 4, Bla g 5, Bla g 7

Tal com s'ha explicat anteriorment, els escarabats també contenen una tropomiosina responsable de la RE amb altres espècies que també contenen proteïnes tropomiosines (àcars, anisakis, gamba). La tropomiosina de l'escarabat rep el nom de Bla g 7 i pot servir com a marcador de risc de reaccions al·lèrgiques greus al marisc o als gasteròpodes (cargols) [Lopata, 2009] (figura 6).

La sensibilització a Per a 2 (*Periplaneta americana*) s'ha relacionat amb la gravetat de l'al·lèrgia respiratòria en els pacients al·lèrgics als escarabats. Tanmateix, la molècula Per a 2 no està disponible comercialment per a la realització de proves "in vitro", però, sí que ho està el seu homòleg Bla g 2 [Lee, 2012].

La micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia) conté cinc al·lèrgens de la *Blatella germanica* (Bla g 1, Bla g 2, Bla g 4, Bla g 5, Bla g 7). Posteriorment, amb la comercialització de la versió ISAC® 112 (Thermo-Fisher) es varen mantenir els mateixos al·lèrgens llevat de Bla g 4, que fou suprimit.

Reactivitat encreuada per parvalbúmines de peix

Parvalbúmines

Cyp c 1 (*Cyprinus carpio*), Gad c 1 (*Gadus callarias*)

Les parvalbúmines són proteïnes altament termoestables i resistents a la digestió enzimàtica. Tenen la funció de controlar el flux de calci en el sarcoplasma dels peixos i dels amfibis. El seu pes molecular és de 12 kDa i té

cinc epítops fixadors d'IgE. La parvalbúmina va ser descrita per primera vegada en el bacallà. Aquesta parvalbúmina es coneix amb el nom de Gad c 1 (*Gadus callarias*). Hi ha diferències estructurals entre les diferents espècies fet que influeix en la RE clínica.

Pel que fa a la RE clínica, hi ha moltes espècies que no s'han estudiat des del punt de vista al·lèrgològic tot i que se sap que la RE és major com més pròximes estiguin taxonòmicament les espècies (per exemple, pleuronectiformes, al que pertanyen el llenguado, el turbot, la palaia, el gall o gadiformes com el lluç o el bacallà) (**figura 8**).

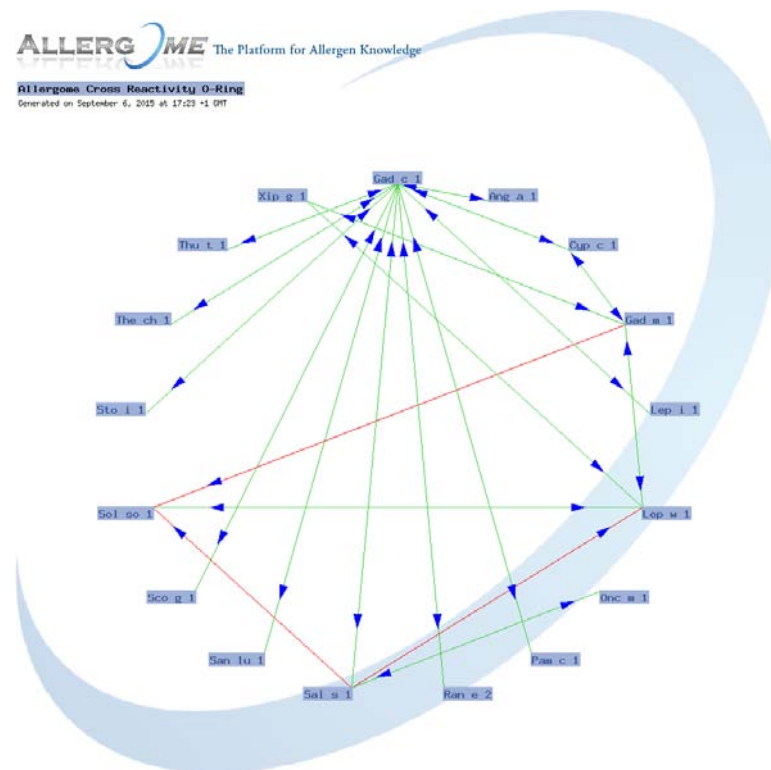


Figura 8. RE entre proteïnes parvalbúmines de diferents espècies [www.allergome.org].

Estudis al·lèrgics realitzats al nostre país amb sis espècies de peixos en població infantil mostraren que els més al·lèrgics eren el lluç i el gall i els menys al·lèrgics la cavalla o el verat. També es va observar que alguns pacients al·lèrgics al gall, presentaven bona tolerància a la resta de peixos. Per tant, s'han d'evitar només aquells peixos amb els que el pacient hagi tingut símptomes [Bugajska-Schretter, 1998] [Torres Borrego, 2003] [Van Do, 2005b] [Wang, 2011].

Gad c 1 del bacallà [van Do, 2005b] i Cyp c 1 de la carpa [Swoboda, 2002a] són dues proteïnes parvalbúmines del peix (figura 9). Són marcadors representatius de sensibilització al peix en general [Bugajska-Schretter, 1998] [Ma, 2008]. Degut a l'elevat grau de RE entre parvalbúmines de diferents espècies, Gad c 1 i Cyp c 1 són eines molt valuoses pel diagnòstic de pacients amb al·lèrgia al peix. Ambdues tenen una important estabilitat que podria explicar per què poden produir-se reaccions clíniques amb la ingesta de peix cuinat i/o pel contacte o la inhalació dels vapors de la seva cocció.

La micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia) contenia les dues parvalbúmines anteriorment mencionades [Cyp c 1 (*Cyprinus carpio*) i Gad c 1 (*Gadus callarias*)]. Tanmateix, la nova versió ISAC® 112 (Thermo-Fisher) només conté la parvalbúmina del bacallà Gad c 1.

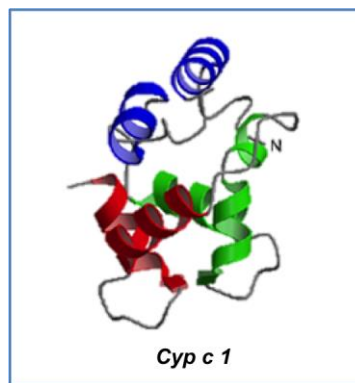


Figura 9. Molècula parvalbúmina (Cyp c 1) [www.allergome.org].

Altres al·lèrgens menors descrits en els peixos són l'Ag-17-cod al qual estan sensibilitzats el 25% dels al·lèrgics al bacallà i el clorhidrat de protamina que és una proteïna de baix PM que es troba a l'esperma dels peixos de la família *Salmonidae*. El risc de reaccions adverses sistèmiques amb protamina ha de tenir-se en compte en pacients sensibilitzats al salmó vasectomitzats, diabètics que reben insulina protamina i aquells pacients tractats prèviament amb protamina [Samuel, 1978].

Reactivitat encreuada en aliments d'origen vegetal. La síndrome pol·len-aliment.

Les plantes no disposen de sistema immunològic, però, tenen una capacitat de protecció front agressions ambientals (sequedat, salinitat del sòl, plagues d'organismes patògens, entre altres) consistent en l'expressió de gens propis i la conseqüent síntesi de proteïnes, moltes vegades amb propietats enzimàtiques, amb l'objectiu d'anular o atenuar l'atac. Aquestes proteïnes s'anomenaren proteïnes relacionades amb processos de patogènesis de l'anglès "*Pathogenesis-Related Proteins*" i abreujades com "PR-proteïns".

Actualment, es classifiquen en 14 grups diferents, dels quals set han demostrat fins ara ser al·lèrgenics (**Taula 2**). Se sap que no tots els grups són induïts per agents patògens sinó que formen part del metabolisme i desenvolupament natural de la planta. Així, aquestes proteïnes poden fer-la més resistent a la malaltia o a condicions ambientals adverses. Tenen en comú la seva estabilitat a Ph baix, als canvis de temperatura i a l'acció de proteases, és a dir, les fa idònies per ser uns al·lèrgens ideals. Això, junt amb la seva gran homologia entre diferents espècies i a la presència de diversos teixits de la planta com el fruit, la llavor o el pol·len justifica l'existència de gran part de les síndromes de RE entre aliments vegetals coneguts.

Taula 2. Famílies de proteïnes relacionades amb processos de patogènesis (“*Pathogenesis-Related Proteins*”).

Família	Tipus de proteïna	Font al·lèrgènica	Allergens
PR-2	1,3-beta-glucanasa	Làtex i pol·len d'olivera	Hev b 2, Ole e 9
PR-3	Quitinasa I	Làtex, plàtan, avocat, kiwi i castanya	Hev b 6, Cas s 1, entre d'altres
PR-4	Quitinasa II	Làtex i nap	Hev b 11
PR-5	Anàloga de la Taumatina (TLP)	Poma, cirera, pebrot, pol·len de cedre, entre d'altres	Act d 2, Mal d 2, Pru av 2, Cap a 1, Jun a 3
PR-8	Quitinases III	Làtex	Hev b 13
PR-10	Homòloga de Bet v 1	Pol·len de bedoll, avellana, castanya, cirera, poma, préssec, aglà, entre d'altres	Pru p 1, Mal d 1, Cor a 1, Bet v 1, Pru av 1, entre d'altres
PR-14	Proteïna transferidora de lípids (LTP)	Avellana, castanya, nou, préssec, làtex, artemisia, parietària, olivera, ordi, entre d'altres	Cor a 8, Cas s 8, Pru p 3, Mal d 3, Ole e 7, Art v 3, Par j 2, entre d'altres

Síndromes de reactivitat encreuada per proteïnes PR-10 o proteïnes homòlogues de Bet v 1.

Proteïnes PR-10 o proteïnes homòlogues de Bet v 1

**Act d 8 (*Actinidia deliciosa*), Aln g 1 (*Alnus glutinosa*),
Api g 1 (*Apium graveolens*), Ara h 8 (*Arachis hipogaea*),
Bet v 1 (*Betula verrucosa*), Cor a 1.0101 (*Corylus avellana*),
Cor a 1.0401 (*Corylus avellana*), Dau c 1 (*Daucus carota*),
Gly m 4 (*Glycine max*), Mal d 1 (*Malus domestica*),
Pru p 1 (*Prunus pèrsica*)**

Fou la primera síndrome pol·len-aliment descrita a la dècada dels anys 80 del segle passat per part d'Eriksson a Suècia [Eriksson, 1984]. Eriksson observà que el 70% dels pacients al·lèrgics al pol·len de bedoll també referien al·lèrgia alimentària caracteritzada per clínica de síndrome d'al·lèrgia oral (SAO) amb fruites, sobretot de la família de les rosàcies (poma), fruites seques (avellana) i algunes verdures com la pastanaga. Posteriorment es va veure que tots els pacients estaven sensibilitzats a pol·len de l'ordre de les fagals (bedoll, avellaner, roure, vern) i es va identificar l'al·lèrgen majoritari del pol·len de bedoll (Bet v 1) com a principal responsable de la síndrome de RE entre aquests pol·len de fagals i els aliments vegetals. Posteriorment, a la següent dècada, es va descriure l'al·lèrgen menor del pol·len de bedoll (Bet v 2), el qual fou identificat com una proteïna de la família de les profilines [Ebner, 1995] [Pauli, 1996].

Les proteïnes PR-10 o homòlogues de Bet v 1 tenen un PM d'uns 18 kDa i la seva estructura està molt conservada a les diferents espècies, amb una homologia d'entre el 80 i el 90% (figura 10). La seva funció biològica es desconeix, tot i que sembla que són transportadores d'esteroides, fet que seria molt important en les respostes de defensa dels vegetals. Aquestes proteïnes són termolàbils (es destrueixen amb la calor) i no resisteixen el Ph àcid gàstric ni els enzims digestius, per la qual cosa, generalment, no indueixen respostes sistèmiques de tipus IgE. Aquest fet explica la seva presència clínica manifestada en forma de síndrome d'al·lèrgia oral, ja que després del seu pas pel tub digestiu es desnaturalitzaran i també el fet que només la ingesta d'aliments frescs (fruita, verdura) poden induir símptomes.

Els aliments més freqüentment implicats en l'al·lèrgia deguda a aquesta família de proteïnes són les fruites de la família *Rosaceae* (albercoc, cirera, préssec, codony, maduixa, maduixot, préssec pla, pera, poma, nespra, nectarina, pruna, gerd, gavarró i móra) i verdures de la família *Apiaceae* (anís, api, comí, xirivia, coriandre, anet o fonoll pudent, fonoll, julivert, pastanaga, alcaravia, comí de prat, comineta, fenoll de prat, matafaluga borda, julivert silvestre, api de muntanya o levístic).

Tanmateix, aquests proteïnes PR-10 o homòlogues de Bet v 1 també s'han descrit en altres vegetals comestibles com ara la patata, el pebrot o la soja i espècies com el pebre. Aquestes síndromes es descriuen sobretot al Centre i al Nord d'Europa on hi ha molt pol·len de l'ordre de les fagals (bedoll, vern, avellaner, roure, castanyer, carpí). Generalment els símptomes respiratoris precedeixen als símptomes de la síndrome d'al·lèrgia oral (SAO) per aliments **[Fernández-Rivas, 2003a]**.

La RE dins de la família botànica *Rosaceae* fa que els components Mal d 1 i Pru p 1 siguin bons representants i marcadors d'algunes fruites d'os com la cirera, la pruna o l'albercoc, entre d'altres, sense limitar-se només a la poma o al préssec **[Asero, 2005]**.

Els al·lèrgens PR-10 o homòlegs de Bet v 1 que conté actualment l'ISAC® 112 (Thermo-Fisher) són Act d 8, Aln g 1, Api g 1, Ara h 8, Bet v 1, Cor a 1.0101, Cor a 1.0401, Gly m 4, Mal d 1 i Pru p 1. Aquests mateixos al·lèrgens contenia la versió prèvia ISAC® 103 (Phadia) junt amb l'al·lergen de la pastanaga Dau c 1 (*Daucus carota*), el qual fou eliminat de l'ISAC® 112 (Thermo-Fisher).

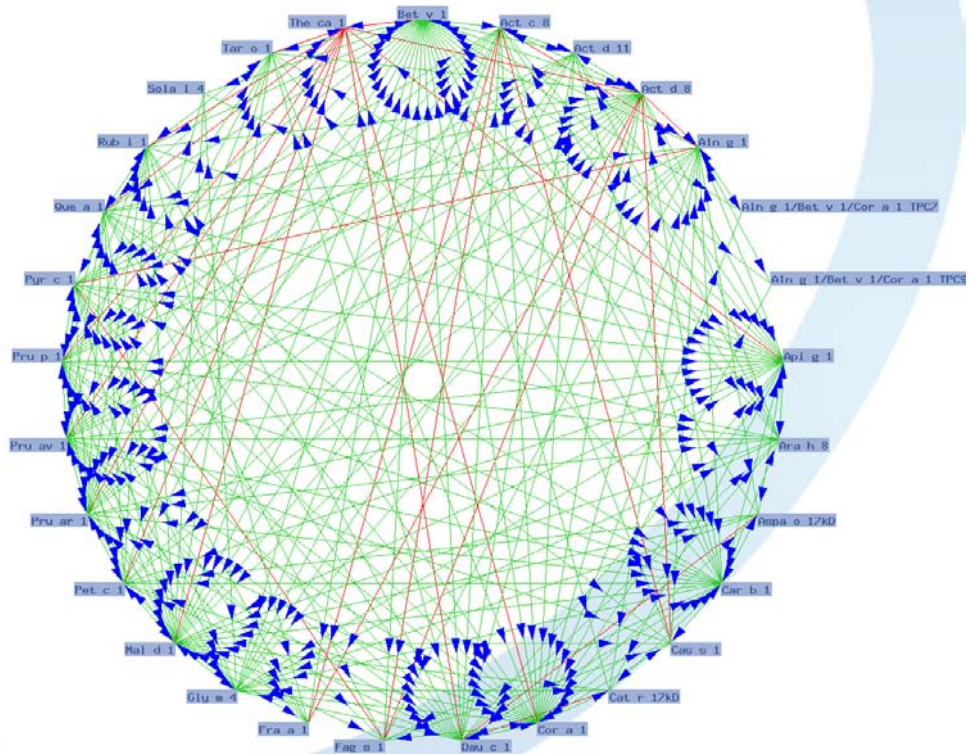


Figura 10. Homologia de seqüència entre proteïnes PR-10 [www.allergome.org].

Síndromes de reactivitat encreuada per proteïnes PR-2 o 1,3-beta-glucanasa.

1,3-beta-glucanases

Hev b 2 (*Hevea brasiliensis*), Ole e 9 (*Olea europaea*)

Les 1,3-beta-glucanases es descriviren per primera vegada en fulles de tabac infectades pel virus del mosaic. Poden ser induïdes per la invasió de patògens o constitutives (intracel·lulars). Es troben en arrels, llavors (com els cereals), pol·len i fulles. La seva estructura està formada per dos dominis: un domini N-terminal de 36 kDa i un altre domini C-terminal de 10 kDa. El domini N-terminal és molt similar entre les diferents beta-glucanases. A *Allergome* [www.allergome.org] hi ha 21 glucanases descrites fins ara. Els dos primers al·lèrgens descrits d'aquest grup varen ser en el làtex (Hev b 2) i en el pol·len d'olivera (Ole e 9); alguns pacients presenten reactivitat específica al domini N-terminal recombinant "*in vitro*"; es pensa que aquesta sensibilització pot ser un marcador de risc pel desenvolupament d'al·lèrgia a fruites i vegetals [Ebo, 2010b] [Ott, 2010a] [Garnier, 2012].

No s'han descrit síndromes de RE amb aliments, però, algunes publicacions mostren la possibilitat de reaccions adverses en pacients sensibilitzats a la glucanasa del làtex amb alguns aliments com el tomàquet, el pebrot, el plàtan o la patata que posseeixen proteïnes homòlogues de Hev b 2. És quan es parla de l'anomenada síndrome làtex-fruïtes-pol·len, però, la seva rellevància clínica no està encara del tot definida [Ebo, 2010b] [Ott, 2010b] [Garnier, 2012].

La micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia) no contenia cap d'aquests dos al·lèrgens descrits. Tanmateix, l'ISAC® 112 (Thermo-Fisher) sí que ja incorpora la 1,3-beta-glucanasa de l'olivera Ole e 9, tot i que segueix sense contenir la del làtex (Hev b 2).

Síndromes de reactivitat encreuada per proteïnes PR-5 o anàlogues de la taumatina (TLP)

Proteïnes anàlogues a la taumatina o TLP

**Act d 2 (*Actinidia deliciosa*) , Pru p 2.0101 (*Prunus persica*),
Pru p 2.0201 (*Prunus persica*), Pru p 2.03019 (*Prunus persica*),
Mal d 2 (*Malus domestica*), Pru av 2 (*Prunus avium*),
Cap a 1 (*Capsicum annum*), Jun a 3 (*Juniperus ashei*)**

Aquestes proteïnes s'anomenen "anàlogues de la taumatina" (TLP, acrònim de l'anglès "*Thaumatococcus daniellii*-Like-Proteins") perquè presenten aproximadament un 50% d'identitat de seqüència amb la taumatina. La taumatina és una proteïna de sabor dolç que es troba a la fruita "*katemfe*" de l'arbust africà *Thaumatococcus daniellii*. Aquestes proteïnes es troben a fruits, arrels i flors de les plantes amb de PM entre 16 i 31 kDa i amb una estructura molt conservada de vuit ponts disulfur.

No es coneix del tot la seva autèntica funció tot i que sembla que són importants davant situacions de sequedat i infeccions fúngiques. També s'han descrit en espècies vegetals sanes com les *Brassicaceae* (nap, rave, col-i-flor, col, col de Brussel·les, creixen, bròquil, mostassa, colza o colça, cabdell, col verda, col llombarda, grelos) [Palacín, 2010b].

A mitjans de la dècada dels 90 del segle passat es va descriure la primera TLP al·lèrgica a la poma (Mal d 2) i a la que es troben sensibilitzats el 75% dels pacients al·lèrgics a aquesta. Posteriorment s'han descrit a altres fruites i vegetals com la cirera (Pru av 2), el pebrot (Cap a 1), el pol·len de cedre (Jun a 3), el raïm, el kiwi (Act d 2) i més recentment al préssec (Pru p 2.0101, Pru p 2.0201 i Pru p 2.03019) [Inschlag, 1998] [Krebitz, 2003][Smole, 2008].

Tenen una gran similitud estructural entre elles fet que els hi condiciona una major RE entre elles (**figura 11**). Sembla que serien les responsables de les síndromes clíniques que es manifesten en forma de síndrome d'al·lèrgia oral (SAO). Recentment també s'han implicat en l'asma dels forners en població finlandesa [Lehto, 2010].

Actualment Act d 2 és la única proteïna anàloga a la Taumatina representada a la

micromatriu comercial ISAC® tant a la versió 103 (Phadia) com a la 112 (Thermo-Fisher).



Allergome Cross Reactivity 0-Ring

Generated on September 8, 2015 at 11:49 +1 GMT

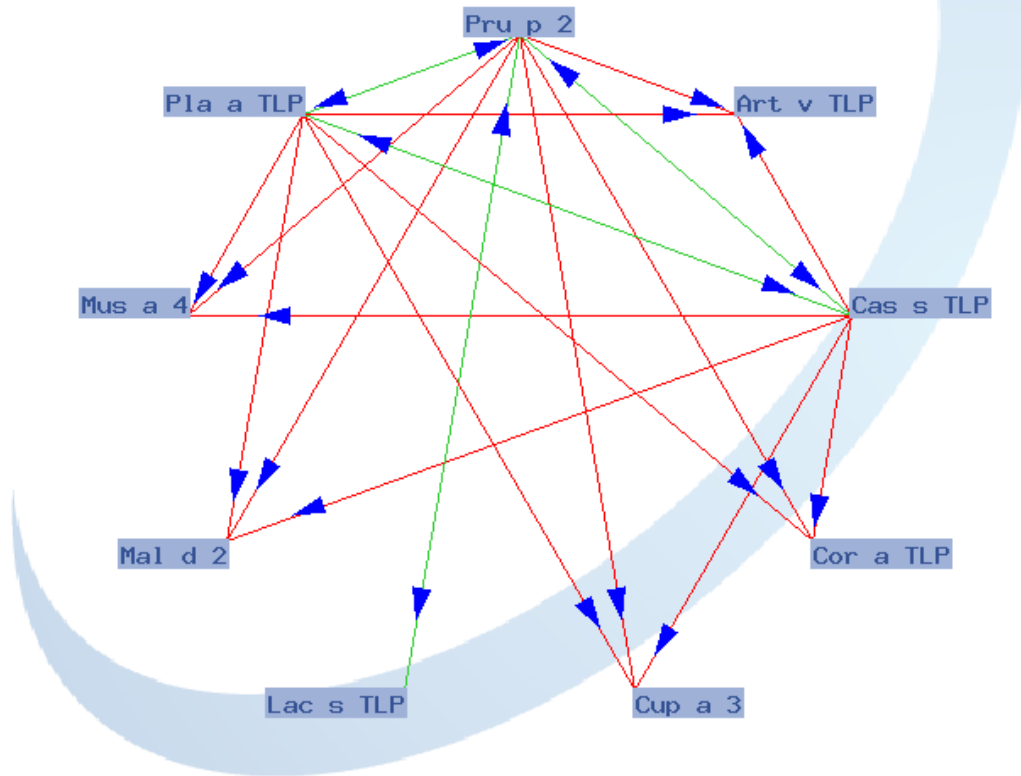


Figura 11. RE entre molècules de la família de les TLP [www.allergome.org].

Síndrome de reactivitat encreuada per proteïnes transferidores de lípids o proteïnes PR- 14

Proteïnes PR-14 o proteïnes transferidores de lípids (LTP)

**Ara h 9 (*Arachis hipogaea*), Art v 3 (*Artemisia vulgaris*),
Cor a 8 (*Corylus avellana*), Jug r 3 (*Jugans regia*),
Ole e 7 (*Olea europaea*), Pla a 3 (*Platanus acerifolia*),
Pru p 3 (*Prunus persica*), Par j 2 (*Parietaria judaica*),
Tri a 14 (*Triticum aestivum*)**

El seu nom es deu a la capacitat “*in vitro*” d’unir lípids i transferir-los entre diferents sistemes de membranes. Es distribueixen àmpliament en el regne vegetal. Són bàsiques amb una estructura primària d’entre 90-95 aminoàcids i un PM d’entre 9 i 10 kDa. Tot i que la identitat de seqüència pot variar entre les diferents espècies, tenen una estructura molt conservada de vuit residus de cisteïna que formen quatre punts disulfur i que les fa resistents a la digestió enzimàtica (pepsina, proteases) i a la calor; així per exemple Pru p 3 roman estable després de 2 hores d’incubació amb pepsina i després d’escalfament a 100 graus centígrads. Això explica que puguin identificar-se en aliments com la cervesa ja que l’LTP de l’ordi roman intacte després del procés d’elaboració (maltatge, maceració, cocció i fermentació) o en processos derivats de les fruites com la mermelada o els suc. Aquestes propietats fan que aquestes proteïnes siguin al·lèrgens complets tipus 1, que sensibilitzen via digestiva i que poden produir clínica sistèmica en pacients al·lèrgics.

Les LTP són proteïnes de defensa vegetal enfront patògens i generalment es localitzen a les parts àrides de les plantes com les fulles, les llavors, les flors i els fruits, sobretot de les fruites de la família rosàcia. Això explica que la pell de la fruita sigui més al·lèrgica que la polpa. Per això, gairebé un terç dels pacients al·lèrgics a les fruites de la família rosàcia les toleren sense pell.

Al·lèrgia a fruites rosàcies a l’àrea mediterrània

L’al·lèrgia a la fruita fresca és la causa més freqüent d’al·lèrgia alimentària a nens grans i adults en el nostre medi. Segons l’estudi “*Alergològica 2005*”, les fruites són les principals responsables d’ocasionar patologia al·lèrgica, seguides de les fruites

seques i el marisc. De totes les fruites, les fruites rosàcies són les responsables del 24% de les reaccions al·lèrgiques a aliments.

Dins de les fruites, l'al·lèrgia al préssec és la més freqüent a tota l'àrea mediterrània. Respecte a les causes de l'elevada prevalença d'al·lèrgia a la fruita en el nostre medi, no estan del tot establertes, si bé sembla clar que els hàbits alimentaris i els tipus de pol·len de la regió podrien ser-ne determinants [Fernández-Rivas, 2005].

Les fruites rosàcies

La família *Rosaceae* constitueix un important grup d'espècies (al voltant de 3000) d'àmplia distribució en climes temperats i de gran importància econòmica pel seu elevat consum a la nostra societat. També formen part d'aquesta família espècies ornamentals, essent les roses les més importants pel seu ús en jardineria i perfumeria. Pertanyen a aquest grup el préssec, la pera, el codony, la poma, la maduixa, l'ametlla (considerada una fruita seca), la pruna, la cirera, els gerds, els nabius, les mores, l'albercoc, el préssec pla, la nectarina i les nespres, entre altres. S'ha descrit una important RE entre les fruites de la família *Rosaceae* (figura 12).

Inicialment, als anys 90 del segle passat, es van descriure pacients del Nord i del Centre d'Europa amb síndromes clíniques d'al·lèrgia oral per la ingesta de fruites rosàcies i sensibilització al pol·len de les fagals. Aquesta RE es va atribuir a proteïnes homòlogues de Bet v 1 (PR-10) així com a proteïnes de la família de les profilines. En canvi, a països de l'àrea mediterrània on gairebé no hi ha pol·len de l'ordre de les Fagals, es descriuen pacients al·lèrgics a fruites rosàcies i amb clínica sistèmica que pot arribar a ser greu (anafilaxi). Això significa que pacients al·lèrgics a un mateix aliment tenen patrons de sensibilització diferents depenent de l'àrea geogràfica d'aquests. Aquest fenomen s'ha estudiat en diferents grups de pacients. Ballmer-Weber i col·laboradors, estudiaren aquest fenomen en població espanyola i suïssa i objectivaren que a la població espanyola predominava la sensibilització a Pru av 3 (*Prunus avium*, LTP) mentre que en els pacients suïssos la sensibilització predominant era per Pru av 1 (*Prunus avium*, PR-10). Per contra, la sensibilització a Pru av 4 (*Prunus avium*, profilina) era similar en els dos grups [Ballmer-Weber, 2002].

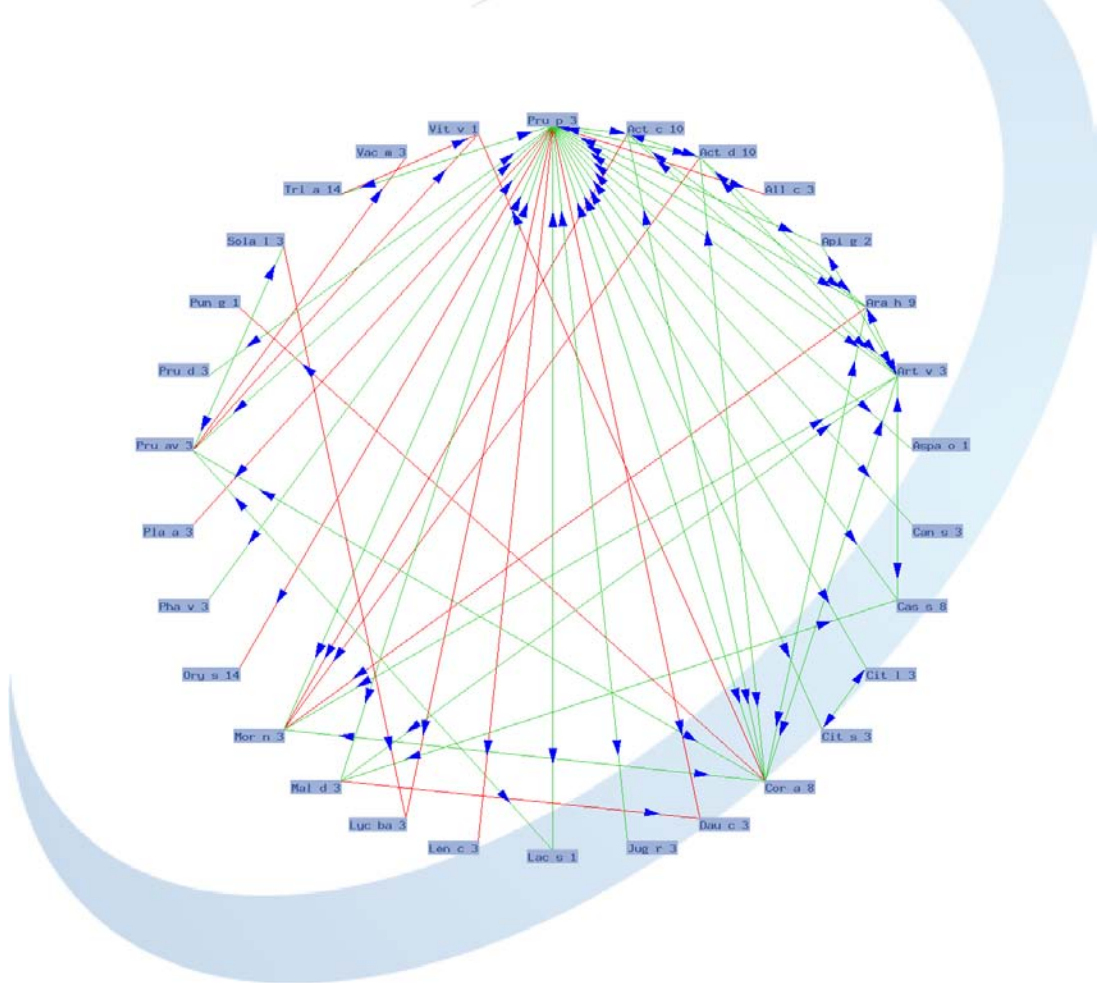


Figura 12. RE entre molècules de la família de les molècules LTP [www.allergome.org].

Per altra banda, la sensibilització a Pru p 3 s'ha demostrat en més del 90% dels pacients al·lèrgics al préssec a l'àrea mediterrània, i en pacients que no tenen pol·linosis associada. A l'estudi epidemiològic EXPO realitzat al nostre país en pacients pol·línics, la sensibilització a Pru p 3 en població general adulta va ser de l'11,8% i del 21,4% en població pediàtrica [Lombardero, 2004]. Tanmateix, la població al·lèrgica de la nostra àrea geogràfica és molt heterogènia. Hi ha pacients sensibilitzats només a proteïnes LTP de les fruites rosàcies, altres sensibilitzats a proteïnes LTP de les fruites rosàcies i a altres aliments, i un tercer grup sensibilitzats a proteïnes LTP de rosàcies i de pol·len.

Respecte a l'al·lèrgia al préssec a la nostra població s'han publicat dades en els que

la sensibilització en un grup de 76 pacients al·lèrgics al préssec (diagnosticats mitjançant prova de provocació oral doble cec i amb placebo) fou del 62% enfront Pru p 3, del 34% enfront profilina i del 7% enfront proteïnes homòlogues de Bet v 1 (PR-10), pel que Pru p 3 es pot considerar l'al·lergen principal del préssec de la nostra població. En aquest grup de pacients, la sensibilització a profilines era més freqüent en els pacients sensibilitzats a pol·len, però, no hi havia diferències en la presència o absència d'al·lèrgia al préssec pel que els autors conclouen que la sensibilització a profilines no està associada a la reactivitat clínica amb el préssec **[Fernández-Rivas, 2003b]**.

També s'ha demostrat associació significativa entre els nivells d'IgE específica enfront Mal d 3 (LTP de la poma) i la presència de reaccions sistèmiques per ingesta de fruites de la família de les rosàcies **[Fernández-Rivas, 2006b]**.

Clínica per al·lèrgia a fruites rosàcies

La presentació clínica del pacient al·lèrgic a fruites rosàcies és molt variable. Podem dividir-la en reaccions locals i reaccions sistèmiques; pel que fa a la freqüència de cada grup de símptomes és similar segons s'ha demostrat en varis estudis. Dins de les reaccions locals s'inclouen la síndrome al·lèrgica oral (SAO) i la urticària de contacte. En aquests símptomes també s'hi han implicat les proteïnes PR-10 i les profilines. La urticària de contacte és molt freqüent i molts cops acostuma a ser la manifestació inicial, sobretot en pacients al·lèrgics al préssec. Aquests pacients acostumen a ser pol·línics (sensibilitzats sobretot a gramínies) i poden tenir reaccions amb altres fruites no rosàcies i altres vegetals no relacionats taxonòmicament.

Les reaccions sistèmiques amb aquestes fruites acostumen a ser greus, segurament degut a les característiques bioquímiques de les proteïnes LTP (elevada estabilitat enfront la digestió i la temperatura) i sobretot es donen en pacients al·lèrgics al préssec sense pol·linosis associada **[Fernández-Rivas, 2003b]**. En aquest grup de pacients no pol·línics, la freqüència de reaccions sistèmiques és superior al 75%. A més a més, l'al·lèrgia a aquestes fruites és molt persistent, tant en reaccions locals com sistèmiques ja que fins el 76% dels pacients al·lèrgics al préssec reaccionen amb la seva ingesta després de períodes d'evitació de fins a 8 anys **[Metz-Favre, 2003]**.

En definitiva, la sensibilització a proteïnes de la família de les LTP, característica de la regió mediterrània, comporta un quadre clínic molt divers, el qual pot abarcar desde

l'absència de símptomes fins a episodis d'anafilaxi greu (grau IV). A més a més, en general es considera un indicador de risc de reaccions greus com l'anafilaxi depenent de cofactors (exercici, alcohol, estrés o medicaments antiinflamatoris no esteroides) **[Fernández-Rivas, 2006a] [Egger, 2010] [Pascal, 2012] [Romano, 2012] [Cardona, 2012]**.

La micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia) conté quatre proteïnes transferidores de lípids (Art v 3, Cor a 8, Pru p 3 i Par j 2). Per contra, la nova versió ISAC® 112 (Thermo-Fisher) ha ampliat notablement la quantitat de proteïnes transferidores de lípids i disposa ja de nou al·lèrgens d'aquesta família (Ara h 9, Art v 3, Cor a 8, Jug r 3, Ole e 7, Pla a 3, Pru p 3, Par j 2, Tri a 14).

Síndromes de reactivitat encreuada per proteïnes profilines

Profilines

**Bet v 2 (*Betula verrucosa*), Hev b 8 (*Hevea brasiliensis*),
Mer a 1 (*Mercurialis annua*), Ole e 2 (*Olea europaea*), P
hl p 12 (*Phleum pratense*)**

Les profilines són unes proteïnes molt conservades al llarg de l'evolució en tots els organismes eucariòtics. Formen complexos amb l'actina, regulant la forma i els moviments cel·lulars; també participen en la germinació del pol·len. Tenen un PM d'entre 12 i 15 kDa amb una elevada homologia entre elles (al voltant del 80%) i, per tant, presenten important RE entre elles (**figura 13**).

S'han descrit en nombrosos vegetals i en diferent pol·len. Es comporten com al·lèrgens menors i estan implicades en la majoria de les síndromes de RE pol·len-aliment que es manifesten en forma de síndrome d'al·lèrgia oral (SAO) ja que aquestes són proteïnes poc resistents a la digestió gàstrica.

Per tant, la sensibilització a proteïnes profilines és bastant comú entre els pacients al·lèrgics al pol·len i generalment ocasiona símptomes lleus o inexistents, tot i que per una minoria de pacients pot ser un factor de risc de reaccions més greus, per exemple entre els al·lèrgics al pol·len d'olivera i els al·lèrgics a alguns aliments vegetals com el meló o la llimona [**Sastre, 2010**].

També s'han publicat casos en els que es comporten com al·lèrgens principals, sensibilitzant a més del 50% dels pacients, com en els casos d'al·lèrgia al pol·len de safrà o palmera. En general existeixen grans diferències geogràfiques de sensibilització, essent major en els països nòrdics que en els països de l'àrea mediterrània.

Al nostre medi, hi ha una correlació estadística entre la sensibilització a gramínies i profilines segons mostra l'estudi EXPO [**Barber, 2007**]. També pot considerar-se que una prova cutània positiva enfront profilina seria un marcador de RE i indicaria certa inespecificitat de les proves cutànies amb pol·len. Clínicament es considera que la

presència de la síndrome d'al·lèrgia oral (SAO) enfront tomàquet, meló, síndria, plàtan o cítrics seria un marcador de sensibilització a proteïnes profilines, mentre que símptomes després de la ingesta de poma o avellana, indicarien sensibilització a proteïnes PR-10 o homòlogues de Bet v 1 [Asero, 2008].

Bet v 2, Hev b 8, Mer a 1, Ole e 2, Phi p 12 són les cinc molècules profilines representades a la micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia). La versió ISAC® 112 (Thermo-Fisher) conté les mateixes profilines que ISAC® 103 (Phadia) llevat de la profilina d'olivera Ole e 2 (que va ser suprimida).

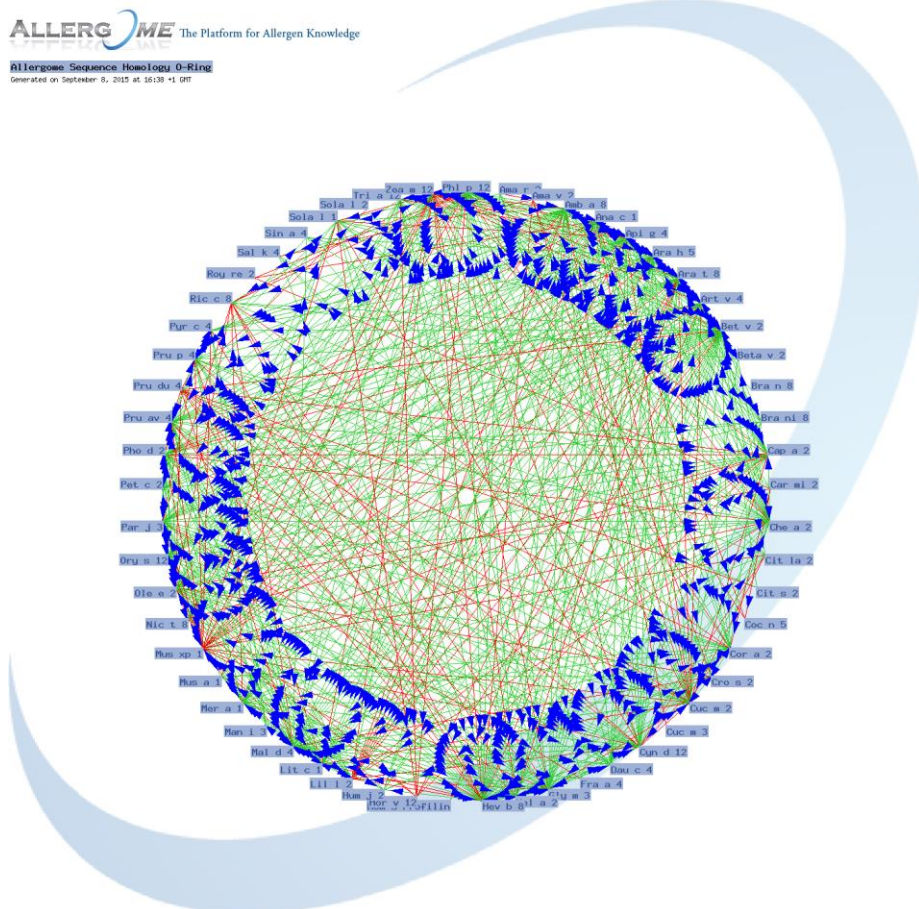


Figura 13. Homologia de seqüència entre proteïnes profilines [www.allergome.org].

Síndromes de reactivitat encreuada per determinants carbohidrats

Determinants cabohidrats o CCD

Ana c 2.0101 (MUXF3)

Els CCD són glicoproteïnes de carbohidrats capaces de fixar IgE. Són bàsicament N-glicans (alfa-fucosa i beta-xilosa) que es troben a vegetals i invertebrats, però, no a mamífers. Això podria explicar la RE “*in vitro*” entre algunes varietats de pol·len, el verí d’himenòpters o el làtex. Per exemple, Api m 1 (*Apis mellifera*), que és la fosfolipasa A2 del verí d’abella, té un elevat grau de glicosilació.

Ana c 2 (bromelaïna) i MUXF3 (processat a partir de la bromelaïna i generalment acoplat a un esquelet proteic per la prova d’IgE) són marcadors de sensibilització a CCD. Aquest fet indica RE en relació amb els CCD [Leonard, 2005] [Ahrazem, 2006] [Jin, 2008] [Mari, 2008].

Els CCD poden utilitzar-se per resoldre dubtes sobre sensibilitzacions no simptomàtiques obtingudes quan es fan proves d’IgE basades en extractes al·lèrgics. Aproximadament el 20% dels pacients amb múltiples al·lèrgies al pol·len presenten anticossos IgE enfront CCD [Malandain, 2007].

Una prova de CCD pot ser especialment útil en 4 tipus de situacions [Mari, 1999] [Mari, 2002] [Malandain, 2007] [Jin, 2008] [Mertens, 2011]:

1. Sensibilització “*in vitro*” a múltiples aliments d’origen vegetal sense clínica rellevant.
2. Sensibilització “*in vitro*” al làtex a pacients al·lèrgics al pol·len sense clínica rellevant.
3. Pacients amb resultats positius múltiples a les proves “*in vitro*” amb extractes de verí d’abella, vèspula i polistes.
4. Pacients amb símptomes respiratoris perennes i amb resultats positius a les proves enfront escarabat en absència d’exposició demostrable a al·lèrgens d’escarabats.

Sigui com sigui, avui per avui, la rellevància clínica dels determinants carbohidrats o CCD (de l’acrònim anglès “*Cross-reactive Carbohydrate Determinants*”) no està del tot establerta pel caràcter monovalent dels seus determinants antigènics i per la seva

baixa afinitat pels receptors. Tanmateix, alguns autors han demostrat l'alliberació d'histamina per part dels basòfils i mastòcits "*in vitro*" utilitzant lectina de patata en pacients atòpics [Pramod, 2007]. D'aquesta manera, algunes publicacions demostren que la glicosilació d'alguns aliments com el tomàquet (Lyc e 2) i l'api (Api g 5) és molt important per l'al·lergenicitat ja que l'eliminació dels residus de fucosa i xilosa en aquests aliments (sobretot a l'api) inhibeix l'alliberació d'histamina i la unió d'IgE específica. Altres estudis han demostrat que els anticossos IgE específics pel carbohidrat galactosa-alfa-1,3-galactosa són capaços de provocar reaccions al·lèrgiques greus i fins i tot mortals. Aquestes reaccions greus s'han descrit tant enfront cetuximab com enfront a una forma inusual d'anafilaxi retardada ocorreguda després de la ingesta de carn (descrites en carn de vedella, de xai i de porc) [Commins, 2009b] [Grönlund, 2009a] [Commins, 2011] [Mullins, 2012].

A diferència dels fragments de CCD abans descrits de xilosa i fucosa units al core-3, que són comuns a plantes i insectes, l'epítot alfa-gal s'expressa de manera abundant a cèl·lules i teixits de mamífers no primats. Sembla que les picades de paparres poden donar lloc a respostes de tipus IgE no només enfront a les proteïnes derivades de les paparres sinó també enfront a aquests carbohidrats [Commins, 2009a]. Tanmateix, es pot considerar que els CCD podrien ser elements de confusió en la determinació d'IgE específica "*in vitro*" en alguns pacients (per exemple en pacients al·lèrgics al verí d'abella o en pacients pol·línics o al·lèrgics al làtex i al pol·len). L'obtenció d'al·lèrgens recombinants descarboxilats sembla que pot evitar aquesta RE [Bonds, 2008]. L'únic marcador CCD que es pot determinar actualment mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher és MUXF3. Per contra, la micromatriu comercial ISAC® 103 no conté aquest al·lergen, però, sí que contenia l'al·lergen Ana c 2.

Síndromes clíniques de reactivitat encreuada descrites entre pol·lens i aliments vegetals.

- **Síndrome api-artemísia-espècies**

Pacients que presenten símptomes de SAO amb la ingesta d'api i altres umbel·líferes com la pastanaga, la llavor de comí, el coriandre, el julivert, la llavor de fonoll o l'anís en pacients al·lèrgics al pol·len de bedoll i en menys freqüència al pol·len d'artemísia. Els al·lèrgens implicats en aquesta síndrome són els homòlegs de Bet v 1 i la profilina (Art v 4); el

paper dels CCD en aquesta síndrome és controvertit **[Hirschfeld, 2008]** **[Borghesan, 2013]** **[Pauli, 2013]**.

- **Síndrome artemísia-mostassa**

És una síndrome que es caracteritza per clínica de reaccions sistèmiques i/o SAO després de la ingesta d'hortalisses de la família *Brassicaceae* (sobretot la mostassa, però, també el nap, el rave, la col-i-flor, la col de Brussel·les, el creixen, el bròquil, la mostassa, la colza o colça, el cabdell, la col verda, la col llombarda i el grelos) en pacients pol·línics sensibilitzats a artemísia. Els al·lèrgens més freqüentment implicats són la proteïna profilina (Art v 4) i la proteïna LTP (Art v 3) **[Figuerola, 2005]**.

- **Síndrome ambrosia-meló-plàtan**

És una síndrome que es caracteritza per clínica de SAO en pacients al·lèrgics a l'ambrosia (*Ambrosia artemisifolia*) amb la ingesta de cucurbitàcies (meló, síndria, carbassó, carabassa, cogombre) i plàtan. Tanmateix, fins en un 10% dels casos la clínica pot ser d'anafilaxi. L'aliment més freqüentment implicat és el meló, fins i tot en zones sense ambrosia, en pacients pol·línics. També s'ha vist que en un percentatge gens despreciable, d'aproximadament el 20%, els pacients també estan sensibilitzats al làtex. Les proteïnes implicades en aquesta síndrome són les profilines i les proteïnes LTP **[Asero, 2011c]**.

- **Síndrome plàntago-meló**

S'identifica clínica de SAO en pacients al·lèrgics a gramínies i plantago (*Plantago lanceolata*). Es postula que són responsables d'aquesta síndrome proteïnes entre 14 i 31 kDa. Tanmateix, a l'actualitat no s'han encara pogut identificar **[García-Ortiz, 1995]**.

- **Síndrome parietària-festuc**

S'han publicat casos de SAO amb la ingesta de festuc en pacients monosensibilitzats a *Parietària judaica* o *Parietaria officinalis*. El festuc és una fruita seca de la família *Anacardiaceae* (mango, festuc, anacard). Tanmateix, els al·lèrgens implicats no estan del tot definits **[Liccardi, 1999]**.

- **Síndrome *Chenopodium*-verdures**

Molts estudi han demostrat RE entre el pol·len de la família *Amaranthaceae* (bleda, espinac i remolatxa) i aliments de la família *Liliaceae* (all, ceba, porros, espàrrecs). La clínica acostuma a ser de SAO i a vegades també apareix en aliments taxonòmicament allunyats com per exemple el plàtan, el meló i el préssec. No s'han identificat les proteïnes responsables tot i que sembla que la profilina del *Chenopodium album* (Che a 2) i la polcalcina (Che a 3) podrien estar-hi implicades **[Añibarro, 1997]**.

- **Síndrome *Salsola*-safrà**

S'ha descrit en treballadors espanyols del safrà al·lèrgics al pol·len de *Salsola*. Tanmateix, les proteïnes responsables de la RE no s'han identificat encara **[Feo, 1997]**.

- **Síndrome xiprer-préssec**

S'ha descrit en pacients sensibilitzats al xiprer i amb clínica de SAO i urticària-angiedema després de la ingesta de préssec fresc. S'ha identificat una proteïna de 45 kDa com a possible responsable d'aquesta síndrome **[Sánchez-López, 2011]**.

- **Síndrome fongs-espínacs-bolets**

S'ha descrit en pacients sensibilitzats a fongs tipus *Alternaria alternata* i *Cladosporium herbarum* els quals desenvolupen símptomes d'urticària amb la ingesta d'espínacs i xampinyons (*Agaricus bisporus*). S'ha identificat una proteïna de 30 kDa com a responsable d'aquesta RE **[Herrera-Mozo, 2006]**.

- **Síndrome làtex-fruïtes**

Fou descrit per primera vegada el 1994 en evidenciar-se una associació clínicament entre ambdues reaccions al·lèrgiques. Tot i que no hi ha una relació taxonòmica entre les diferents espècies vegetals implicades en aquesta síndrome, la seva existència ha estat completament identificada per diferents autors i s'ha atribuït a l'homologia de seqüència existent sobretot entre proteïnes de la família de les quitinases **(figura 14) [Delbourg, 1996] [Brehler, 1997]**.

Diferents treballs han demostrat que entre el 20 i el 60% dels pacients al·lèrgics al làtex presenten reaccions de tipus IgE a una àmplia varietat d'aliments. El tipus i la proporció de sensibilitzacions a aliments que s'associen al làtex varia entre els diferents estudis, possiblement pels hàbits alimentaris **[Wagner, 2002]**.

Les principals fruïtes que s'associen a sensibilització i/o al·lèrgia al làtex són el plàtan (28%), l'alvocat (28%), la castanya (24%), el meló (20%) i el kiwi (20%). Altres aliments com la papaia, la nou, les figues, la fruita de la passió, el mango, el raïm, la pinya, la taronja, el maracujà, el préssec, el tomàquet, la patata, les nous, entre altres també s'associen significativament a sensibilització i/o al·lèrgia al làtex, però, amb menor freqüència **[Delbourg, 1996] [Wagner, 2002] [Blanco, 2003]**.

Alguns autors han atribuït la RE entre el làtex, el tomàquet i la patata a un al·lèrgen del làtex de 46 kDa (Hev b 7) que comparteix epítops amb una proteïna homòloga de la patata denominada patatina. Tanmateix, sembla que Hev b 7, les patatines i els seus homòlegs no contribueixen

a la RE en la síndrome làtex-fruïtes. A la **taula 3** es mostren les al·lèrgies a aliments més freqüentment associades a l'al·lèrgia al làtex.

Taula 3. Aliments associats a al·lèrgia al làtex [Guerra, 2002].

Grup	Definició	Aliments
I	Associacions freqüents i significatives	Plàtan, alvocat, kiwi i castanya
II	Associacions significatives, però, descrites únicament en determinats estudis	Patata, marisc
III	Associacions comunes, però, nombre de casos insuficients per assolir la significació estadística	Papaia, tomàquet, pinya, fruita de la passió, mango, figues, fruites seques (ametlles i nou), meló i fruites rosàcies (meló, cirera, albercoc, poma)
IV	Associacions menys comunes	Guaiaba, peix, pastanaga, pera, maduixa, cacauet, pebrot i raïm
V	Casos aïllats	Coco, orenca, sàlvia, llet, espinac, remolatxa, gínjol, entre d'altres

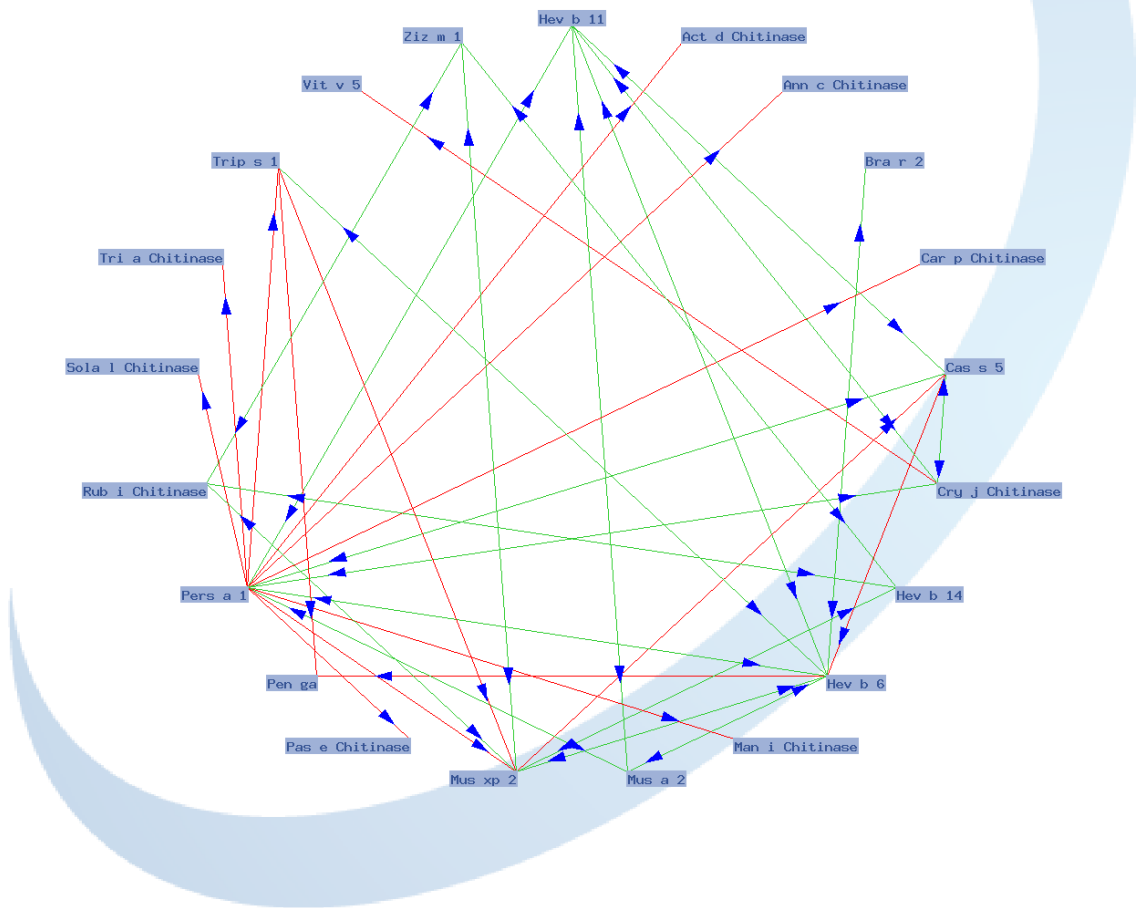


Figura 14. Homologia de seqüència entre proteïnes quitinases [www.allergome.org].

- **Síndrome garrofer-mongeta azuki**

S'ha descrit sobretot a la Índia a individus amb clínica de rinitis i asma sensibilitzats al pol·len del garrofer (*Ceratonía siliqua*). Aquests desenvolupen símptomes cutanis després de la ingesta de la llegum mongeta azuki (*Vigna angularis*). S'han implicat múltiples proteïnes de 20, 26, 35, 66 i 72 kDa en aquesta síndrome [Egger, 2006].

Al·lèrgens d'origen vegetal

Préssec (*Prunus persica*)

Pru p 1, Pru p 3 , Pru p 4

A la zona del Mediterrani Occidental, l'al·lèrgia a fruites rosàcies estan causades sobretot per monosensibilització a proteïnes de la família de les LTP (Pru p 3), monosensibilització a proteïnes de la família de les profilines (Pru p 4) o cosensibilització a ambdós al·lèrgens **[Fernández-Rivas, 2006b]**.

Per contra, la monosensibilització a proteïnes PR-10 o proteïnes homòlogues de Bet v 1 (Pru p 1), i en menor grau la cosensibilització a profilines i PR-10, predomina a Europa Central i del Nord.

La sensibilització a proteïnes LTP (Pru p 3) tant està present en pacients amb pol·linosis com sense i s'associa a al·lèrgia al préssec. Els al·lèrgens de la família de proteïnes LTP de la subfamília *Prunoideae* tenen una similitud al voltant del 95%, però, també hi ha homologia de seqüència amb les proteïnes de la família LTP d'aliments sense relació botànica **(figura 12) [Asero, 2004]**.

Per altra banda, els pacients sensibilitzats a molècules profilines (Pru p 4) es caracteritzen per presentar varies al·lèrgies concomitants (sobretot a pol·len). També poden presentar al·lèrgia a fruites de la família rosàcia o a altres fruites no rosàcies. Finalment, la sensibilització a proteïnes PR-10 (Pru p 1) s'associa sobretot a al·lèrgia concomitant a la poma i al pol·len de bedoll i la SAO acostuma a ser la manifestació clínica més típica al igual que ocorre amb les proteïnes profilines (Pru p 4) **[Fernández-Rivas, 2006a]**.

Pru p 1 i Pru p 3 són al·lèrgens del préssec presents tant a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com a la micromatriu ISAC® 112 de Thermo Fisher.

Cacauet (*Arachis hypogaea*)

Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 6, Ara h 8, Ara h 9

Els perfils de sensibilització de les persones al·lèrgiques als cacauets han estat molt ben estudiats. Els anticossos IgE enfront Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3 i Ara h 6 i especialment Ara h 2 es consideren marcadors de sensibilització genuïna als cacauets **[Flinterman, 2007] [Koppelman, 2004] [Pedrosa, 2015]**. Són proteïnes estables i per tant, indiquen un major risc de reaccions sistèmiques i més greus enfront als cacauets **[Peeters, 2007]**.

Ara h 2 mostra una elevada homologia amb Ara h 6. Per altra banda, la sensibilització enfront varis al·lèrgens del cacauet és un indicador important de reaccions més greus, en comparació amb la sensibilització front a un únic component **[Astier, 2006]**. En el cas dels cacauets, la sensibilització a determinats components també s'ha associat a algunes reactivitats encruades. Així, per exemple, Ara h 1 s'ha associat a RE enfront fruites seques i llegums com llenties, pèsols i soja (Gly m 5, proteïna d'emmagatzematge beta-conglicinina) **[Wensing, 2003]**; Ara h 2 enfront altramús i fruites seques d'arbre com l'ametlla o la nou de Brasil **[De Leon, 2007]**; i, Ara h 3 enfront la soja, els pèsols i les fruites seques d'arbre **[Barre, 2007]**.

Per altra banda, entre el 35-95%, el 75-100% i el 20-55% dels pacients al·lèrgics al cacauet estan sensibilitzats enfront Ara h 1, Ara h 2 i Ara h 3 respectivament. Les IgE específiques contra proteïnes d'emmagatzematge com ara Ara h 1, Ara h 2 i Ara h 3 s'han associat a reaccions d'al·lèrgia al cacauet per sensibilització genuïna. A més a més aquests tres al·lèrgens són en general estables a la calor i a la digestió i, per tant, també comporten risc de reacció enfront els aliments cuinats o torrats **[Ebo, 2010a] [Nicolaou, 2011] [Asarnej, 2012] [Glaumann, 2012]**.

Ara h 8 és una molècula de la família de proteïnes PR-10, homòloga de Bet v 1 i, per tant una possible marcadora de sensibilització al pol·len (sobretot bedoll i vern) que sovint s'associa a símptomes lleus o locals. En un subgrup de pacients al·lèrgics al pol·len de bedoll, l'al·lèrgia al cacauet podria ser deguda a la RE de Bet v 1 amb l'al·lèrgen del cacauet homòleg d'Ara h 8 **[Mittag, 2004]**. També s'ha documentat RE amb l'altramús i la soja (Gly m 4, proteïna PR-10) **[Shreffler, 2004] [Astier, 2006]**. Ara h 8 és una proteïna termolàbil del cacauet i, per tant, si es menja cuinat se sol tolerar.

Per altra banda, en un estudi poblacional, el 95% de les persones sensibilitzades enfront Ara h 1, Ara h 2 i Ara h 3 presentaren símptomes després de la ingesta de

cacauets. Entre els casos sensibilitzats només enfront Ara h 2 (no enfront Ara h 1, Ara h 3 ni Ara h 8), el 87% varen presentar símptomes. Per contra, només del 18% dels pacients sensibilitzats a Ara h 8 van presentar clínica amb cacauet **[Asarnoj, 2009]**. Posteriors estudis també han demostrat que la sensibilització enfront Ara h 2 és el predictor més important d'al·lèrgia al cacauet **[Nicolaou, 2010]**.

Pel que fa a la molècula Ara h 9 (LTP del cacauet), la presència d'anticossos IgE específics enfront Ara h 9 acostuma a associar-se a reaccions sistèmiques greus, especialment al Sud d'Europa **[Asero, 1999]**. Ara h 9 és una proteïna LTP i probablement la sensibilització a aquesta proteïna es degui a una sensibilització primària al préssec o a altres fruites que continguin proteïnes LTP **[Krause, 2009]** **[Lauer, 2009]**. Tot i que calen més estudis que valorin la possible implicació d'aquesta molècula en l'al·lèrgia al cacauet a les diferents regions geogràfiques d'Europa **[van Hage, 2011]**.

Actualment es pot fer la determinació dels al·lèrgens Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 6, Ara h 8 i Ara h 9 mitjançant l'aplicació de la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher. La micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia contenia també aquests al·lèrgens llevat de la proteïna d'emmagatzematge de llavors conglutina Ara h 6 i la proteïna LTP Ara h 9, incorporades a la micromatriu comercial ISAC® 112 (Thermo-Fisher).

Soja (*Glycine max*)

Gly m 4, Gly m 5, Gly m 6

Gly m 4 pertany a la família de proteïnes PR-10 i és un al·lèrgen important de la soja en pacients amb al·lèrgia a aquesta associada a l'al·lèrgia al pol·len de bedoll. És possible que els anticossos IgE enfront Gly m 4 siguin deguts a sensibilització primària al bedoll o al pol·len d'arbres similars i acostuma a associar-se a símptomes lleus com ara SAO **[Mittag, 2004]** **[Ballmer-Weber, 2007]** **[Holzhauser, 2009]**. Tanmateix, en pacients al·lèrgics al pol·len de bedoll, la combinació de sensibilització a Gly m 4 i la ingesta de grans quantitats de soja poc processada, com ara begudes de soja, pot provocar també una reacció greu **[Kosma, 2011]**.

Una altra particularitat de Gly m 4 és la RE que presenta amb Ara h 8 **[Ballmer-**

Weber, 2008] [Holzhauser, 2009]. Les proves diagnòstiques dirigides enfront Gly m 4 són molt recomanables en pacients sensibilitzats també a pol·len i amb sospita d'al·lèrgia a la soja sobretot si les proves cutànies mitjançant l'extracte de soja són negatives ja que alguns pacients poden mostrar resultats d'IgE baixos o fins i tot negatius enfront l'extracte de soja degut a que el contingut de Gly m 4 en l'extracte és baix **[Ballmer-Weber, 2008].**

Per altra banda, els anticossos IgE enfront Gly m 5 i Gly m 6 indiquen sensibilització primària a soja. Recentment s'han registrat percentatges de sensibilització del 36% enfront Gly m 5 i del 43% enfront Gly m 6 en pacients al·lèrgics a la soja. També s'han descrit reaccions d'anafilaxi després de la ingesta de soja en el 86% dels pacients al·lèrgics a aquesta i positius per Gly m 5 i/o Gly m 6, mentre que només el 55% dels pacients presenten símptomes moderats i el 33% lleus. D'aquesta manera, podem dir que Gly m 5 i Gly m 6 es consideren marcadors diagnòstics per les reaccions al·lèrgiques greus per al·lèrgia a la soja **[Holzhauser, 2009].**

Una altra dada a destacar és que s'ha descrit RE entre Gly m 5 i Ara h 1 al igual que entre Gly m 6 i Ara h 3 ja que aquestes molècules comparteixen homologia de seqüència **(figura 15)**. Els pacients que només presenten sensibilització a profilines o CCD de la soja generalment no mostren reaccions o únicament presenten símptomes locals i, poden tolerar la soja cuinada **[Rihs, 1999]**. Actualment es pot fer la determinació dels al·lèrgens Gly m 4, Gly m 5 i Gly m 6 utilitzant tant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

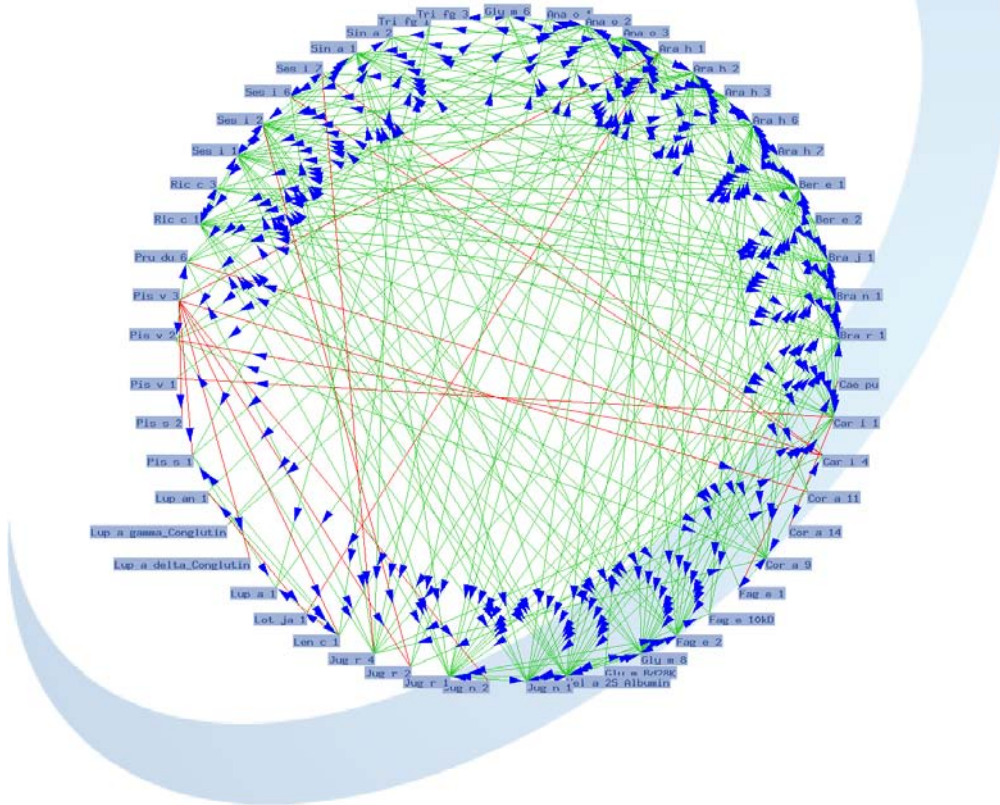


Figura 15. Homologia de seqüència entre proteïnes globulines 11S i altres proteïnes d'emmagatzematge de llavors [www.allergome.org].

Blat (*Triticum aestivum*)

**Tri a 14, Tri aA_TI, Tri a 18, Tri a gliadina,
Tri a 19.0101 (omega-5 gliadina) i glutenina d'alt pes molecular**

Un resultat positiu enfront l'extracte de farina de blat no sempre es correlaciona amb símptomes clínics [Jones, 1995]. Per tant, pel diagnòstic d'al·lèrgia al blat, l'estudi al·lèrgològic basat en components ens pot ser de gran utilitat [Constantin, 2009]. Les fraccions proteiques Tri a aA_TI (inhibidor d'alfa-amilasa/tripsina) del blat cru i cuinat són al·lèrgens del blat importants en l'al·lèrgia alimentària i també intervenen en l'anafilaxi induïda per exercici i dependent de blat [Pastorello, 2007].

Per altra banda, la positivitat dels anticossos IgE enfront Tri a gliadina indiquen sensibilització al blat amb un risc baix de RE amb el pol·len [Battais, 2003]. Se sap també que el component del blat Tri a 18 (isolectina 1 aglutinina) i el component del làtex Hev b 6 comparteixen homologia en la seva seqüència. A més, els anticossos IgE enfront ω -5 gliadina (Tri a 19.0101) s'associa a un major risc de patir reaccions immediates post ingesta de blat [Palosuo, 2001] [Palosuo, 2003] [Ebisawa, 2012b]. Per contra, en adults s'associen a risc de reaccions induïdes per exercici relacionades amb la ingesta de blat (tot i que la presència d'aquests anticossos no és específica d'aquesta patologia) [Gall, 2000] [Jacquenot, 2009].

La glutenina d'alt pes molecular també és un al·lèrgen del blat important i els anticossos IgE enfront aquesta glutenina s'associen a anafilaxi induïda per exercici i dependent de blat [Matsuo, 2005]. Altres al·lèrgens importants, són la proteïna LTP del blat, Tri a 14, de 9 kDa, en la fracció albúmina/globulina i diverses subunitats de glutenina de baix pes molecular en la fracció del gluten. La LTP del blat (Tri a 14) presenta cert grau de RE (figura 12) i homologia de seqüència (figura 16) amb altres LTP alimentàries, tot i que calen més dades sobre la seva prevalença i implicació clínica [Palacín, 2010a].

Tots aquests al·lèrgens han demostrat resistència a la calor i absència de RE amb al·lèrgens del pol·len de gramínies. Remarcar també que la proteïna LTP del blat només es considera un al·lèrgen important en pacients del Sud d'Europa [Pastorello, 2007] i també és un al·lèrgen significatiu en l'asma del forner en aquesta mateixa regió [Palacin, 2007] [Palacin, 2009]. Els pacients que només presenten

sensibilització a les profilines o CCD del blat no acostumen a presentar símptomes o aquests consisteixen en símptomes orals locals, podent tolerar el blat cuinat.

Tri aA_Tl, Tri a 18, Tri a gliadina i Tri a 19.0101 (omega-5 gliadina) són al·lèrgens del blat presents a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia. Posteriorment, la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher va incorporar també l'al·lergen Tri a 14, LTP del blat i va suprimir l'al·lergen Tri a 18 i Tri a gliadina.

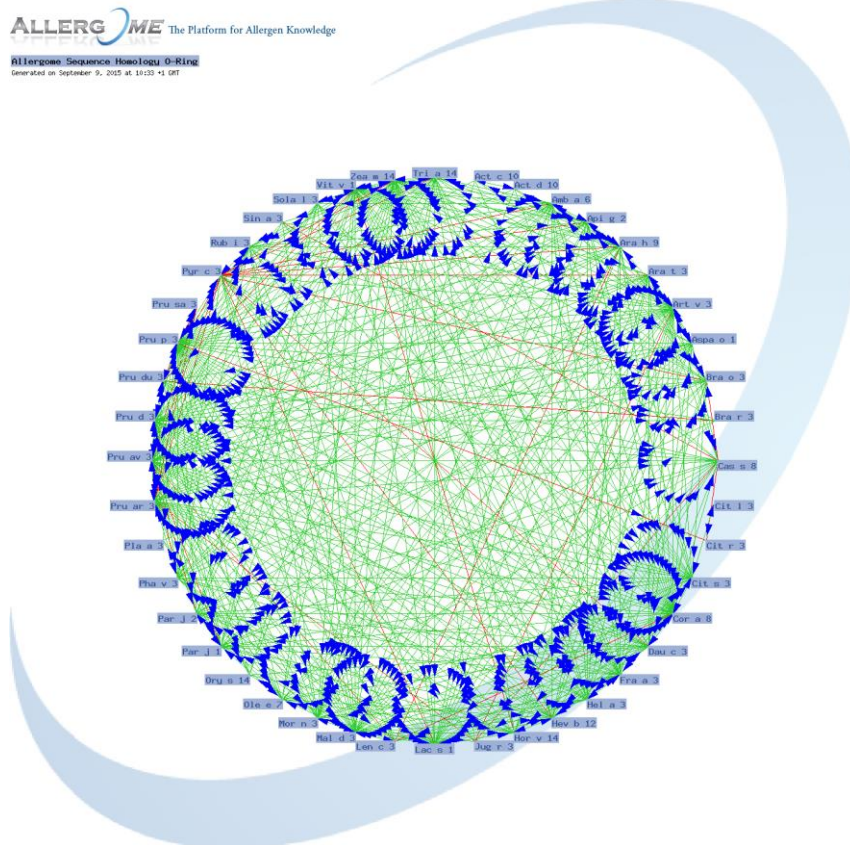


Figura 16. Homologia de seqüència entre molècules de la família de les molècules LTP [www.allergome.org].

Fajol, blat negre o blat sarral (*Fagopyrum esculentum*)

Fag e 2

Tot i no ser propiament un cereal, el fajol, blat sarral o blat negre (**figura 17**) s'inclou dins d'aquest grup per l'ús similar que se l'hi dona a la majoria dels països. Pertany a la família *Polygonaceae*. Els pacients al·lèrgics al làtex poden també presentar símptomes quan ingereixen el fajol, blat sarral o blat negre per RE entre les seves proteïnes.

S'han descrit casos d'al·lèrgia a la farina de fajol, blat negre o blat sarral tant per inhalació de les seves farines com per ingesta alimentària, però, sobretot a països com Japó o Xina, on el seu consum és més abundant, essent un al·lèrgen alimentari freqüent als països asiàtics.

Fag e 2, proteïna d'emmagatzematge de llavors 2S, s'ha implicat com un al·lèrgen important en l'al·lèrgia al fajol. Aquesta molècula mostra homologia de seqüència amb altres aliments vegetals, per la seva similitud estructural, sobretot amb la molècula BW 8 kDa del fajol, Ara h 6 dels cacauets i Ric c 1 de la llavor del ricí [Satoh, 2008], entre d'altres.

albúmina



A més a més, sembla ser el responsable de les reaccions d'anafilaxi ocasionades per la ingesta de fajols [Tanaka, 2002].

Figura 17. Fajol, blat sarral o blat negre.

A l'actualitat Fag e 2 es pot determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher. Aquest al·lèrgen del fajol no estava present a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia.

Avellana (*Corylus avellana*)

Cor a 1.0401, Cor a 2, Cor a 8, Cor a 9, Cor a 11

Les molècules d'avellana que més s'han estudiat durant els últims anys han estat Cor a 1.04 (homòloga de Bet v 1), Cor a 2 (profilina) i Cor a 8 (LTP) [Pastorello, 2002b]. La sensibilització a Cor a 1.04 preval a regions del Nord d'Europa i se sol associar a SAO mentre que la sensibilització a Cor a 8 és més freqüent en pacients del Sud d'Europa [Hansen, 2009].

Tanmateix, hi ha moltes altres molècules que també s'han descrit i relacionat amb l'al·lèrgia a l'avellana com les proteïnes d'emmagatzematge de llavors Cor a 9 (globulina 11S), Cor a 14 (albúmina 2S), Cor a 11 (vicilina 7S), oleosines de l'avellana (Cor a 12, proteïna de 17 kDa; Cor a 13, proteïna de 14-16 kDa), Cor a 2 (profilina) i estructures de carbohidrats específiques (CCD), utilitzant-se com a font la bromelina.

S'ha descrit que els pacients que només presenten sensibilització a la profilina (Cor a 2) o als CCD de l'avellana, generalment no mostren símptomes o presenten símptomes orals locals i poden tolerar les avellanes cuinades. De la mateixa manera, la sensibilització a Cor a 1 (PR-10) està relacionada amb el risc de patir reaccions locals com la SAO, mentre que la sensibilització a Cor a 8 (LTP) i a les proteïnes d'emmagatzematge de llavors (Cor a 9 i Cor a 14) són reconegudes amb més freqüència per anticossos IgE dels pacients amb al·lèrgia a l'avellana i símptomes greus [Flinterman, 2008a] [Verweij, 2011] [Masthoff, 2013].

Sembla, per tant, que els pacients sensibilitzats a Cor a 8 són més susceptibles a presentar reaccions, bé siguin greus o lleus, per al·lèrgia a l'avellana, objectivant-se homologia de seqüència amb altres molècules LTP (figura 18). Per contra, no s'objectivaren diferències estadísticament significatives entre els pacients al·lèrgics a l'avellana i els individus control amb al·lèrgia al pol·len. Tanmateix, encara calen més estudis a la nostra població que puguin acabar de definir el veritable paper dels diferents al·lèrgens de l'avellana a la nostra població [Schocker, 2004] [Akkerdaas, 2005] [Flinterman, 2008b]. Per últim destacar que la polisensibilització als components al·lèrgics de l'avellana s'observa principalment en pacients amb símptomes greus.

Cor a 1.0101, Cor a 1.0401, Cor a 8 i Cor a 9 són els al·lèrgens de l'avellana presents tant a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com a la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

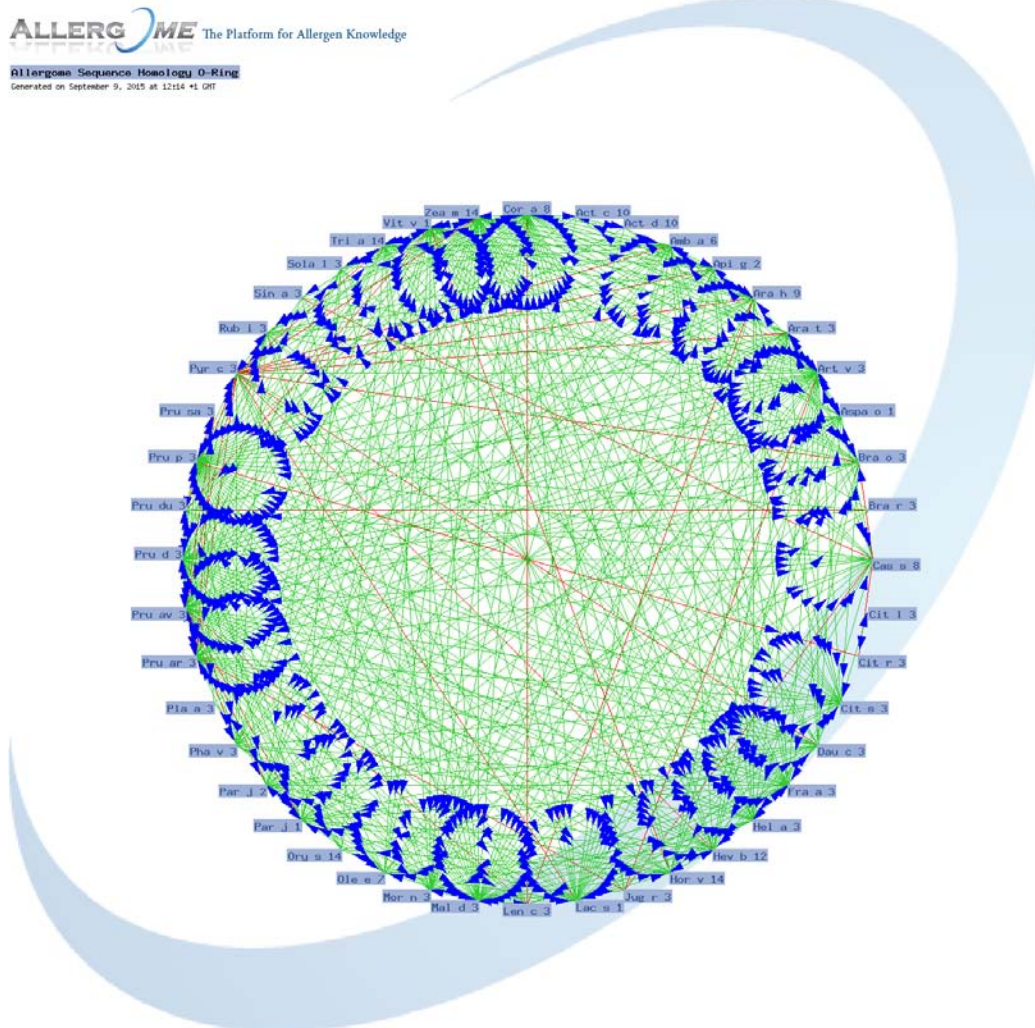


Figura 18. Homologia de seqüència entre la molècula Cor a 8 i altres proteïnes LTP [www.allergome.org].

Sèsam (*Sesamum indicum*)

Ses i 1

Ses i 1 (de 14 kDa de PM i precursor de l'albumina 2S) es considera el principal al·lergen del sèsam. Tanmateix, també s'han aïllat altres al·lèrgens com la vicilina 7S, una proteïna d'emmagatzematge de llavors del sèsam anomenada Ses i 3 i Ses i 2 que correspon a una albumina 2S [Beyer, 2002a]. S'ha demostrat una important correlació entre la unió d'IgE a les proteïnes d'emmagatzematge de llavors i l'anafilaxi induïda per la ingesta de nous de Brasil i les llavors del sèsam [Pastorello, 2001].

Ses i 1, considerat el principal al·lergen del sèsam, està present tant a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com a la micromatriu ISAC® 112 de Thermo-Fisher. De moment aquestes dues micromatrius no disposen d'altres al·lèrgens del sèsam per a la seva determinació.

Nou de brasil (*Bertholletia excelsa*)

Ber e 1

Ber e 1 (albumina 2S) s'ha associat a reaccions clíniques per al·lèrgia a la nou de Brasil [Pastorello, 1998]. Ara h 2, proteïna d'emmagatzematge conglutina del cacauet, comparteix epítops d'unio d'IgE comuns amb al·lèrgens de l'ametlla i Ber e 1. Això podria explicar l'elevada incidència de sensibilització a fruites seques d'arbre en els pacients al·lèrgics al cacauet [De Leon, 2007]. Ber e 1 es pot determinar tant a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com a la micromatriu ISAC® 112 de Thermo-Fisher. De moment aquestes dues micromatrius no disposen d'altres al·lèrgens de la nou de Brasil per a la seva determinació.

Nou de noguera (*Juglans regia*)

Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3 i Jug r 4

La IgE enfront proteïnes d'emmagatzematge de llavors acostuma a associar-se a reaccions greus [Roux, 2003]. A les nous de noguera s'han identificat proteïnes d'emmagatzematge importants com ara Jug r 1 (albúmina 2S) [Teuber, 1998], Jug r 2 (globulina 7S) [Teuber, 1999], i Jug r 4 (globulina 11S) [Wallowitz, 2006]. Les nous de noguera també contenen la molècula LTP, Jug r 3, que mostra certa RE amb altres LTP com ara la molècula Pru p 3 (LTP del préssec) (figura 12) [Pastorello, 2004].

És molt freqüent observar RE i/o cosensibilització entre les nous de noguera, altres fruites seques d'arbre i els cacauets [Roux, 2003]. També remarcar que les nous de noguera i les nous pacanes, pertanyen a la mateixa família i, per tant, la RE entre elles és molt freqüent.

La nou de noguera també conté al·lèrgens PR-10 que poden ocasionar reaccions a aquesta en pacients sensibilitzats al bedoll [Roux, 2003]. Per altra banda, els pacients que només presenten sensibilització a molècules profilines o CCD de la nou de noguera no acostumen a presentar símptomes o aquests acostumen a ser orals i locals, podent tolerar adequadament les nous cuinades.

La micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia) no contenia cap al·lèrgen de la nou. Tanmateix, amb la comercialització de la nova micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher, es varen incorporar tres al·lèrgens de la nou de noguera: Jug r 1, Jug r 2 i Jug r 3.

Anacard (*Anacardium occidentale*)

Ana o 2

Ana o 2 és una proteïna d'emmagatzematge de llavors (globulina 11S) i un dels principals al·lèrgens dels anacards [Teuber, 2002] [Wang, 2003].

S'ha demostrat RE relacionada estructuralment entre proteïnes d'emmagatzematge de la mateixa família de proteïnes en al·lèrgens globulina 11S tipus lleguminosa de cacauets (Ara h 3), anacards (Ana o 2) i altres fruites seques d'arbre (Jug r 4 de la nou o Cor a 9 de l'avellana) (figura 19) [Wang, 2003] [Barre, 2007]. Ana o 2 està present tant a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com a la micromatriu ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

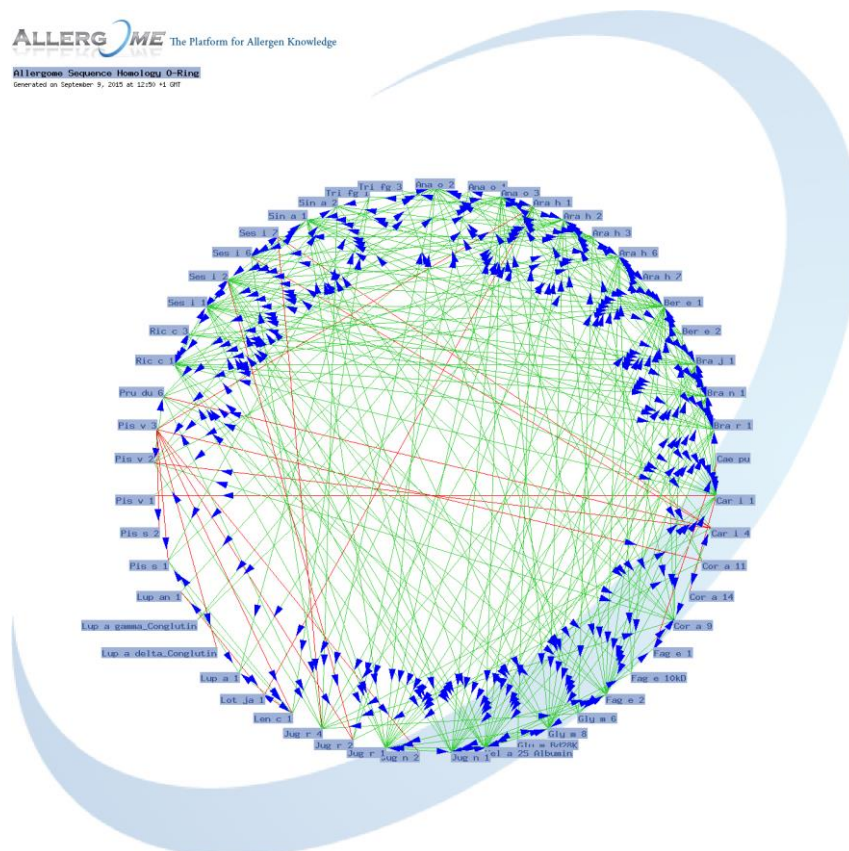


Figura 19. Homologia de seqüència entre la molècula Ana o 2 i altres globulines 11S [www.allergome.org].

Kiwi (*Actidinia deliciosa*)

Act d 1, Act d 2, Act d 3.02, Act d 5 i Act d 8

El kiwi (*Actinidia deliciosa*) pertany a la família *Actinidiaceae* i és originari de Xina. No hi ha un patró de reconeixement al·lèrgic determinat associat al tipus de reaccions al·lèrgiques al kiwi [Aleman, 2004]. Sembla que quan l'al·lèrgia al kiwi no s'associa a l'al·lèrgia al pol·len, els pacients presenten un major risc de reaccions sistèmiques (urticària, angioedema i anafilaxi) degudes al kiwi.

Els dos principals al·lèrgens del kiwi són l'actinidina (Act d 1), una tiolproteasa i una proteïna de tipus taumatina (Act d 2). L'estabilitat d'Act d 1 i Act d 2 explicaria la potència al·lèrgica del kiwi. Un altre al·lèrgen del kiwi descrit és Act d 3.02, una glicoproteïna de 40 kDa. També s'ha descrit la proteïna kiwelina (Act d 5), que és una proteïna de 28 kDa, reconeguda específicament pels pacients al·lèrgics al kiwi [Tamburrini, 2005].

S'ha demostrat una possible associació entre l'al·lèrgia respiratòria a la farina de cereals i l'al·lèrgia al kiwi degut a les proteïnes tiolproteases i també als CCD [Palacin, 2008]. L'al·lèrgia al kiwi també s'ha associat a al·lèrgia al làtex [Hemmer, 2004].

El kiwi, a més a més, conté un enzim proteolític vegetal que pertany al grup de les proteïnes tiolproteases. Aquesta proteasa s'anomena actinidina i sembla que podria ser la responsable del fenomen de RE entre algunes fruites, sobretot les fruites tropicals (papaia, kiwi, avocat, plàtan, pinya, meló i figa) [Hemmer, 2004].

Els al·lèrgens homòlegs a Bet v 1 (PR-10) del kiwi, Act d 8 i també del kiwi daurat, Act c 8 (*Actinidia chinensis*), són reconeguts pels pacients al·lèrgics al pol·len de bedoll i kiwi mitjançant el sistema immunoCAP® [Bublin, 2010] i també a través d'experiments d'ELISA i d'immunotransferència d'IgE [Oberhuber, 2008b].

Tal com alguns autors han fet constar [Sastre, 2010], aquests al·lèrgens podrien ser importants pels pacients sensibilitzats al pol·len d'arbres i al kiwi. Per altra banda, un altre dels al·lèrgens més importants fins a l'actualitat descrits en el kiwi daurat

(*Actinidia chinensis*) és la cisteïna proteasa Act c 1.

Act d 1, Act d 2, Act d 5 i Act d 8 són al·lèrgens presents tant a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com a la micromatriu ISAC® 112 de Thermo-Fisher. Ni la micromatriu ISAC® 103 de Phadia ni la micromatriu ISAC® 112 de Thermo-Fisher contenen cap al·lergen del kiwi daurat (*Actinidia chinensis*).

Api (*Apium graveolens*)

Api g 1

Api g 1, que és una proteïna homòloga de Bet v 1 o també coneguda com PR-10, és el principal al·lergen de l'api tot i que la profilina (Api g 4) i els CCD també són al·lèrgens reconeguts pels pacients amb al·lèrgia a l'api **[Ballmer-Weber, 2000] [Luttkopf, 2000] [Bauermeister, 2009]**.

Api g 1 té la particularitat de ser més estable enfront la calor que moltes altres proteïnes de la família de les PR-10 responsables de la reactivitat encreuada amb el pol·len d'artemísia i de bedoll, entre altres plantes. A més a més, la similitud estructural és menor que amb altres proteïnes homòlogues de Bet v 1 o proteïnes PR-10.

L'únic al·lergen de l'api representat tant a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com a la micromatriu ISAC® 112 de Thermo-Fisher és Api g 1.

Pastanaga (*Daucus carota*)

Dau c 1, Dau c 4

Dau c 1, que és una proteïna homòloga de Bet v 1 o proteïna PR-10, és el principal al·lergen de la pastanaga. També és el responsable de la reactivitat encreuada amb Bet v 1 del pol·len de bedoll (**taula 20**). Tanmateix, en un subgrup de pacients al·lèrgics a la pastanaga, es va veure que els al·lèrgens del bedoll no inhibeixen la unió de la IgE específica a Dau c 1 **[Ballmer-Weber, 2001]**. Per altra banda, Dau c 4 (profilina) i els CCD també són al·lèrgens reconeguts pels pacients al·lèrgics a la pastanaga **[Ballmer-Weber, 2005]**. Sembla que la profilina de la pastanaga podria ser un al·lergen important en l'al·lèrgia a la pastanaga en àrees sense bedolls. L'al·lergen Dau c 1 es trobava representat a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia. Tanmateix, la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher ja no conté cap al·lergen marcador de sensibilització a pastanaga.

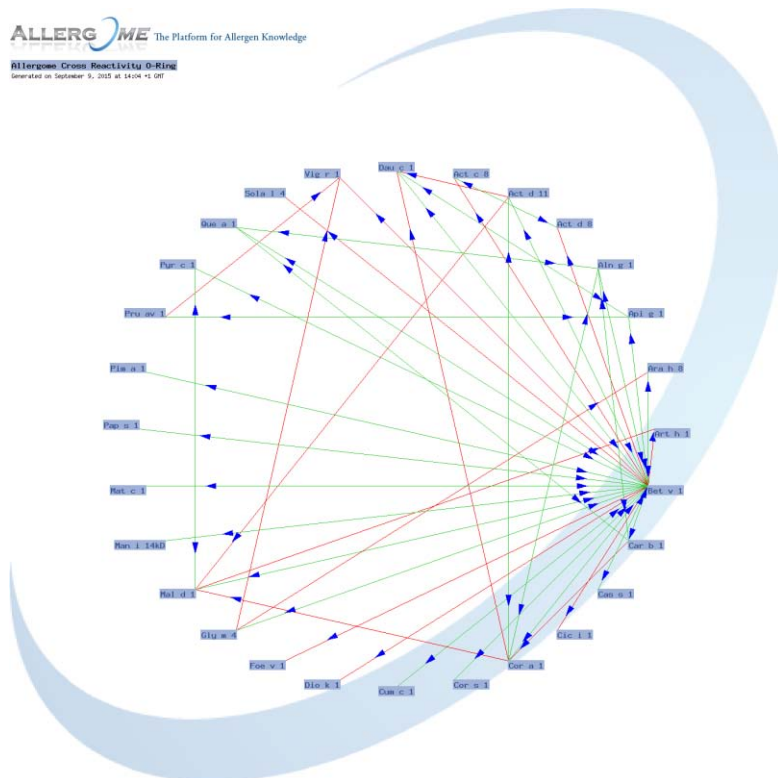


Figura 20. RE entre Dau c 1 i proteïnes de la família PR-10.

Al·lèrgens pol·línics

La investigació de les al·lèrgies pol·líniques ha girat entorn a la diferenciació entre els al·lèrgens genuïns i els causants de reaccions encreuades, havent-se investigat molt poc sobre els marcadors específics de les reaccions greus. La sensibilització a les profilines és comú entre els pacients al·lèrgics al pol·len i generalment comporta símptomes lleus o nuls, tot i que en una minoria pot ser un factor de risc de reaccions més greus [Sastre, 2010] [Hauser, 2010].

Pol·len de maleses

Ambrosia (*Ambrosia artemisifolia*)

Amb a 1

Amb a 1 és el principal component al·lèrgenic de l'ambrosia i es considera que és un bon marcador de sensibilització específica a aquesta, essent un bon indicador de resposta a la ITE. Al voltant del 95% dels pacients al·lèrgics a l'ambrosia estan sensibilitzats enfront aquesta molècula [Mohapatra, 2008]. Presenta homologia de seqüència amb les molècules Cry j 1, Jun a 1 i Cha o 1, marcadores de cupresàcies (figura 21). Amb a 1 és l'únic al·lèrgen d'ambrosia representat tant a la micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia) com a la micromatriu ISAC® 112 (Thermo-Fisher).



Figura 21. Homologia de seqüència entre la molècula Amb a 1 i cupresàcies [www.allergome.org].

Artemísia (*Artemisia vulgaris*)

Art v 1, Art v 3

Art v 1 (proteïna defensina) i Art v 3 (proteïna LTP) són els principals components al·lergènics de l'artemísia (**figura 22**) [Pastorello, 2002a] [Himly, 2003] [Lombardero, 2004] [Mohapatra, 2008]. Els anticossos IgE enfront Art v 1 i/o Art v 3 poden utilitzar-se com a marcadors específics que indiquen si és possible que la ITE amb extractes d'artemísia tingui valor clínic si s'acompanya de símptomes clínics compatibles amb l'exposició. Al voltant del 80-95% dels pacients al·lèrgics a artemísia estan sensibilitzats a Art v 1 [Jimeno, 2004] [Leb, 2008].

Un altre al·lergen a considerar és Art v 3, proteïna LTP i, un important al·lergen a l'àrea Mediterrània, amb una prevalença de sensibilització al voltant del 35-85% en els pacients espanyols al·lèrgics a l'artemísia [Garcia-Selles, 2002] [Lombardero, 2004]. Art v 3 ha demostrat també RE enfront les proteïnes LTP de les fruites rosàcies com Pru p 3 del préssec o Cor a 8 de l'avellana. Sembla que també estaria implicada en les síndromes pol·len-aliment associades al pol·len de maleses [Lombardero, 2004] [Gadermaier, 2009]. Art v 1 i Art v 3 són al·lèrgens de l'artemísia representats tant a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com a la micromatriu ISAC® 112 de Thermo-Fisher.



**Figura 22. Artemísia
(*Artemisia vulgaris*).**

Parietària (*Parietaria judaica*)

Par j 2

Par j 2 (proteïna LTP) és el principal component al·lergènic de la *Parietaria judaica*.

Mostra gran similitud de seqüència amb Par j 1 **[Asturias, 2003a]**. Pot utilitzar-se per identificar la sensibilització primària al pol·len de parietària i consegüentment pot ser útil per valorar la possible indicació d'ITE enfront parietària **[Stumvoll, 2003]**.

Par j 2 és una LTP, però, la seva reactivitat encreuada amb les LTP de fruites i verdures és molt limitada **[Diaz-Perales, 2000] [Asero, 2004]**. Al voltant del 80% dels pacients que viuen a la zona mediterrània al·lèrgics al pol·len de parietària estan sensibilitzats a Par j 2 **[Duro, 1996] [Stumvoll, 2003]**. Par j 2 és l'únic al·lergen de parietària representat tant a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com a la micromatriu ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

Salsola (*Salsola kali*)

Sal k 1

La salsola, coneguda també com el *salicor de la Taca* i *capitana* a la zona d'Aragó, és una planta anual de la família de les quenopodiàcies, que habita terrenys arenosos de tot el món. A causa del seu alt contingut en potassi (fins el 6% de la matèria sòlida) les seves cendres s'utilitzaven en la producció de vidre. Sal k 1 (peptil-metil esterasa) es considera un marcador específic de sensibilització al pol·len de salsola i altres quenopodiàcies (*Chenopodium album*), que indica la idoneïtat del pacient per rebre ITE enfront salsola. Aquest pol·len és més freqüent en àrees semidesèrtiques **[Carnes, 2003] [Barderas, 2007]**. És l'únic al·lergen de la salsola representat tant a la micromatriu ISAC® 103 (Phadia) com a l'ISAC® 112 (Thermo-Fisher).

Plantago (*Plantago lanceolata*)

Pla I 1

El plantatge de fulla estreta o plantatge lanceolat (*Plantago lanceolata*), coneguda a Menorca com herba de cinc nervis i, orella de llebre a Eivissa, és una planta herbàcia perenne de la família de les plantaginàcies present a gairebé tota Europa i, molt comuna a Espanya. Al Principat és freqüent arreu, exceptuant les parts més seques i, és especialment abundant als prat i als herbassars mesòfils. Es troba en prats, pasturatges, rases, terrenys, camps incultes i marges de senders i boscos. Floreix des de mitjans de primavera fins a finals d'estiu. El terme plantago prové dels termes llatins 'planta' i 'agere', que significa planta que fa créixer altres plantes. Pla I 1, principal al·lergen del plantago, és una proteïna relacionada amb Ole e 1 del pol·len d'olivera tot i que aquesta similitud sembla tenir poca rellevància clínica (**figura 23**) [Calabozo, 2001] [Calabozo, 2003]. L'únic al·lergen de *Plantago lanceolata* representat a la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher és Pla I 1. Per contra, la micromatriu ISAC® 103 de Phadia no conté cap al·lergen de *Plantago lanceolata*.

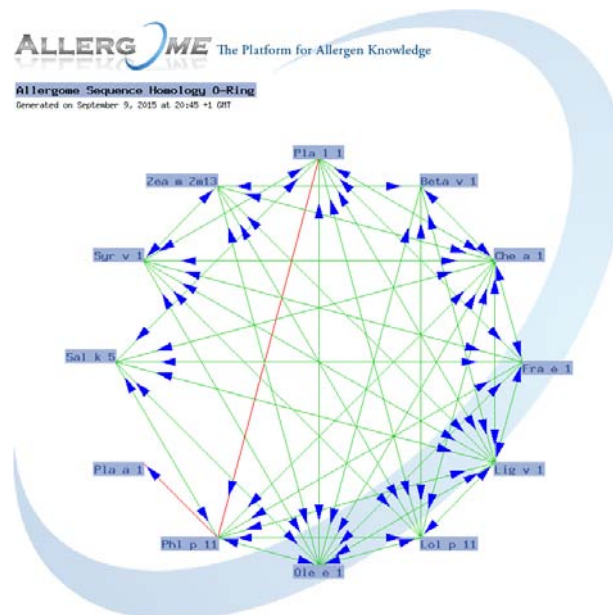


Figura 23. Homologia de seqüència entre la molècula Pla I 1 i proteïnes relacionades amb Ole e 1 [www.allergome.org].

Pol·len de gramínies

Herba timotea (*Phleum pratensis*)

Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 7, Phl p 11, Phl p 12

El grau de RE entre les espècies de pol·len de gramínies és molt elevat [Mohapatra, 2005] [Esch, 2008]. Tanmateix, hi ha algunes diferències entre les subfamílies de gramínies. Phl p 1 i Phl p 5 es consideren els al·lèrgens principals del pol·len d'herba timotea [Andersson, 2003] [Esch, 2008] [Constantin, 2009]. Tenen una gran similitud amb els components al·lèrgènics del pol·len de gramínies del grup 1 i 5 d'altres espècies de gramínies, sobretot les que pertanyen a la mateixa subfamília (*Pooideae*) i al margall o raigràs, que són diverses espècies del gènere *Lolium* (figura 24).

Els anticossos IgE enfront Phl p 1 i/o Phl p 5 poden utilitzar-se com marcadors específics de sensibilització al pol·len de gramínies i, sempre que existeixi una història clínica suggestiva o compatible, la seva sensibilització pot indicar probabilitat de que la ITE amb extractes/al·lèrgens de pol·len de gramínies tingui valor clínic [Hejl, 2009].

Phl p 4 (berberina) és un marcador de sensibilització a gramínies no *Pooideae*. Per contra, Phl p 6 és un component de gramínies *Pooideae* com l'herba timotea o el *Dactylis glomerata*, la *Poa pratensis*, l'*Holeus lanatus* o el *Lolium perenne*. És possible que els pacients sensibilitzats només a Phl p 6 presentin sensibilitat a les *Pooideae*. Els al·lèrgens dels grups 1, 2, 5 i 6 només s'expressen a les gramínies i no en altres plantes pel que aquests al·lèrgens detecten sensibilització genuïna a les gramínies. D'altra banda, un pacient sensibilitzat només a Phl p 1, però, sense IgE enfront Phl p 5 i Phl p 6, probablement estarà sensibilitzat a les gramínies monocotiledònies com són el *Cynodon dactylon* o la *Zea mays*.

Phl p 7 (polcalcina) i/o Phl p 12 (profilina) són al·lèrgens marcadors de RE i si el pacient presenta anticossos IgE enfront aquests components, però, no enfront Phl p 1 i/o Phl p 5, és probable que estigui sensibilitzat de manera primària a altres grups de pol·len [Andersson, 2003] [Esch, 2008] [Constantin, 2009]. En aquest cas la ITE enfront gramínies no estaria indicada i caldria identificar el principal pol·len

sensibilitzador. Les respostes positives a les polcalcines indiquen possible RE entre el pol·len, però, no entre el pol·len i l'aliment vegetal [Valenta, 1998]. Phl p 11 és un al·lergen relacionat amb Ole e 1 i és similar a l'inhibidor de la tripsina de la soja.

Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 7, Phl p 11 i Phl p 12 són els al·lèrgens de gramínies que es poden determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia i/o la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

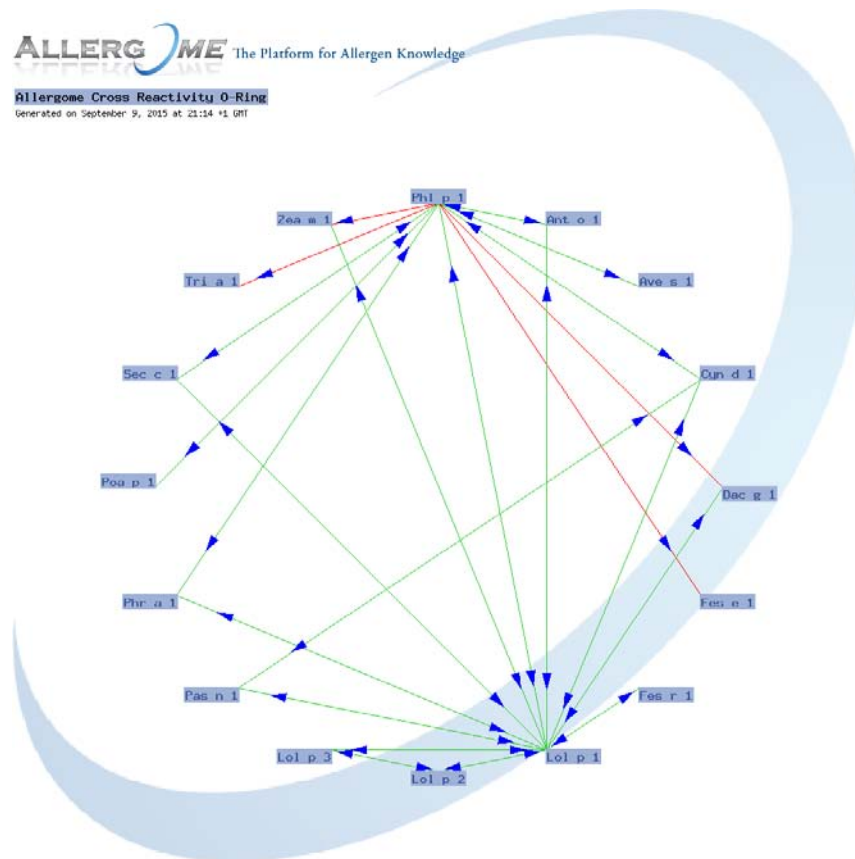


Figura 24. Reactivitat encreuada entre les gramínies del Grup 1 [www.allergome.org].

Grama (*Cynodon dactylon*)

Cyn d 1

Grama, agram o gram (*Cynodon dactylon*) és una mala herba present també a la gespa. Etimològicament *Cynodon dactylon* significa *dent de gos* (en francès “*chiendent*”). Cyn d 1 és l'al·lergen principal de *Cynodon dactylon* el qual pertany al pol·len de gramínies del grup 1 que engloba els al·lèrgens del pol·len de gramínies més freqüentment reconeguts [Mohapatra, 2005] [Andersson, 2003]. Presenta RE parcial amb Phl p 1 (figura 24) [Johansen, 2009]. La monosensibilització a aquest pol·len és freqüent només en determinades àrees. Nivells més elevats de Cyn d 1 que de Phl p 1 indiquen sensibilització primària a la grama. Aquest patró és freqüent en àrees de clima més càlid. Cyn d 1 es pot determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia o mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

Pol·len d'arbres

Bedoll (*Betula verrucosa*)

Bet v 1, Bet v 2, Bet v 4

El bedoll és originari de l'hemisferi nord amb moltes espècies de zones fredes. Al sud de Groenlàndia i Islàndia és pràcticament l'únic arbre silvestre que fa bosc actualment. Es troba també a la taigà i a l'alta muntanya dels Països Catalans prop del límit altitudinal del bosc.

Bet v 1, que és una proteïna PR-10, és el principal al·lergen del pol·len de bedoll ja que al voltant del 90% dels pacients sensibilitzats al pol·len de bedoll presenten IgE específica enfront aquesta molècula [Menz, 1996] [Swoboda, 2008].

Els anticossos IgE enfront Bet v 1 poden utilitzar-se com a marcadors específics de sensibilització primària a aquest pol·len, sobretot al Nord d'Europa on hi ha una elevada prevalença de *Betula verrucosa* [Menz, 1996] [Moverare, 2002]. Aquest fet indica que els pacients amb símptomes clínics que coincideixin amb l'exposició a bedoll i sensibilització a Bet v 1 podrien ser bons candidats a rebre ITE enfront aquest pol·len.

Cal tenir, però, present que la sensibilització a Bet v 1 també pot detectar-se en pacients amb al·lèrgia a altres fagals, ja que els anticossos IgE enfront Bet v 1 presenten RE amb les proteïnes PR-10 presents al pol·len d'altres arbres (per exemple Aln g 1 del vern i Cor a 1.01 del pol·len d'avellaner) i en molts aliments (per exemple Cor a 1.04 de l'avellana, Mal d 1 de la poma, Pru p 1 del préssec, Gly m 4 de la soja, Ara h 8 del cacauet, Act d 8 del kiwi, Api g 1 de l'api i Dau c 1 de la pastanaga) **[Menz, 1996] [Movérare, 2002] [Mothes, 2004b] [Swoboda, 2008]**.

La simptomatologia que ocasiona predominantment la sensibilització a Bet v 1 és de SAO **[Menz, 1996] [Movérare, 2002] [Mothes, 2004b] [Swoboda, 2008]**. Els anticossos IgE enfront Bet v 2 (profilina) i/o Bet v 4 (polcalcines) són marcadors de RE **[Swoboda, 2008]**. Si un pacient presenta anticossos IgE enfront aquests components, però, no enfront Bet v 1, és molt probable que estigui sensibilitzat de manera primària a algun altre pol·len.

Els anticossos IgE enfront Bet v 2 (profilina) són un marcador de RE entre pol·len de diferents tipus i aliments vegetals **[Martinez, 2002]**. Per contra, els anticossos IgE enfront Bet v 4 són un marcador de RE només entre al·lèrgens de pol·len **[Valenta, 1998]**. Bet v 1, Bet v 2 i Bet v 4 són els al·lèrgens de bedoll que es poden determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia i/o la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

Vern negre (*Alnus glutinosa*)

Aln g 1

El vern (*Alnus glutinosa*) és un arbre caducifoli del gènere *Alnus* originari de quasi tota Europa, incloent-hi la Gran Bretanya i Fennoscàndia (àrea nord-oest d'Europa) i, del sud-est d'Àsia. A la toponímia dels Països Catalans apareix en el nom de localitats com Sant Just Desvern o el barri de Barcelona de la Verneda. Altres noms populars pels quals se'l coneix són arbre negre, lladern, morera borda o mosquiter. Un dels principals al·lèrgens del vern negre és l'Aln g 1, una proteïna PR-10 de gran similitud amb Bet v 1, Cor a 1 i Que a 1 (roure blanc, *Quercus alba*) (**figura 25**). Els pacients que reaccionen a al·lèrgens de pol·len d'altres arbres de l'ordre de les fagals ho fan degut a la RE de les IgE específiques amb els principals al·lèrgens del pol·len de bedoll, vern, roure i/o avellaner [**Rodríguez, 2001**]. L'únic al·lèrgen de vern representat tant a la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com a la micromatriu ISAC® 112 de Thermo-Fisher és Aln g 1.

Avellaner (*Corylus avellana*)

Cor a 1.0101

L'avellaner (*Corylus avellana*) és un arbre silvestre o conreat per la seva fruita seca, les avellanes. Pertany a la família *Betulaceae*. El gènere *Corylus* conté unes deu espècies. Tots ells són arbres caducifolis que viuen a l'hemisferi nord en climes temperats. L'avellaner té fulles arrodonides, simples i serrades. Es conrea tant en secà com en regadiu. La pol·linització de l'avellaner és a l'hivern. És tradicional el cultiu a les comarques de Tarragona, principalment a l'Alt i Baix Camp. Cor a 1.0101, tal com s'ha descrit anteriorment [**Lüttkopf, 2002**] [**Hofmann, 2013**], és una proteïna PR-10 de gran similitud amb Aln g 1, Bet v 1 i Que a 1. Cor a 1.0101 es pot determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia així com mitjançant la micromatriu ISAC® 112 de Thermo-Fisher

Olivera (*Olea europea*)

Ole e 1, Ole e 2, Ole e 7, Ole e 9

L'olivera (*Olea europaea*, del llatí *oleum*, oli, i *Europaeus*, d'Europa) és un arbre de la família de les oleàcies originari de l'Àsia Menor que es conrea des de l'antiguitat a tota la conca Mediterrània. També es coneix amb els noms d'oliu, oliver i olivar i, la varietat silvestre rep el nom d'olivera borda o ullastre. L'olivera és un arbre perenne present a tota la regió mediterrània. És molt freqüent a les Illes Balears, Catalunya, el País Valencià i Andalusia, on se'n localitzen les plantacions més extenses. Al Principat es troba bastant estesa per tot el territori, però les comarques de les Garrigues, el Baix Ebre, el Montsià i el Tarragonès són les zones més típiques dedicades a aquest conreu.

Ole e 1, inhibidor de la tripsina, és l'al·lergen més freqüentment sensibilitzant del pol·len d'olivera i es considera un marcador de sensibilització primària a aquest pol·len **[Cardaba, 1998] [Calabozo, 2001] [Rodríguez, 2007] [Swoboda, 2008]**. També es considera un marcador de sensibilització al pol·len de freixe i olivera rusa **[Sastre, 2004] [Palomares, 2006]**. Ole e 7 (LTP) i Ole e 9 (1,3-beta-glucanasa) són al·lèrgens de l'olivera importants en àrees geogràfiques amb una elevada exposició a aquest pol·len **[Rodríguez, 2001]**. En algunes regions s'han considerat marcadors únics de sensibilització al pol·len d'olivera **[Barber, 2009]**. Ole e 9 comparteix alguns epítops comuns amb les beta-glucanases del pol·len de freixe i bedoll, així com del tomàquet, la patata, el pebre, el làtex i el plàtan **[Palomares, 2005]**. Ole e 2 pertany a la família de les profilines i indica RE amb altres profilines **[Swoboda, 2008]**. Ole e 1 i Ole e 2 són els únics al·lèrgens d'olivera presents a la micromatriu comercial ISAC 103® (Phadia). La micromatriu comercial ISAC® 112 (Thermo-Fisher) incorpora també els al·lèrgens Ole e 7 i Ole e 9, però, no Ole e 2.

Cedre Japonès (*Cryptomeria japonica*)

Cry j 1, Cry j 2

Cryptomeria és un gènere de conífera que pertany a la família *Taxodiaceae*. Està format per una única espècie, la *Cryptomeria japonica* o sugi. La designació d'aquest arbre amb el nom de sugi cada cop s'està utilitzant més a occident, essent més correcte que la terminologia cedre japonès, ja que de fet, el sugi no és cap cedre (*Cedrus*).

Els anticossos IgE enfront Cry j 1 són un marcador de sensibilització primària al cedre japonès [Fujimura, 2004]. La sensibilització a Cry j 1 en àrees en les que aquest arbre no creix pot ser un marcador de sensibilització al xiprer i una alternativa representativa al principal sensibilitzador del xiprer (Cup a 1) ja que ambdós són pectat-liases (figura 25) [Arilla, 2004]. Cry j 1 es pot determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia així com mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

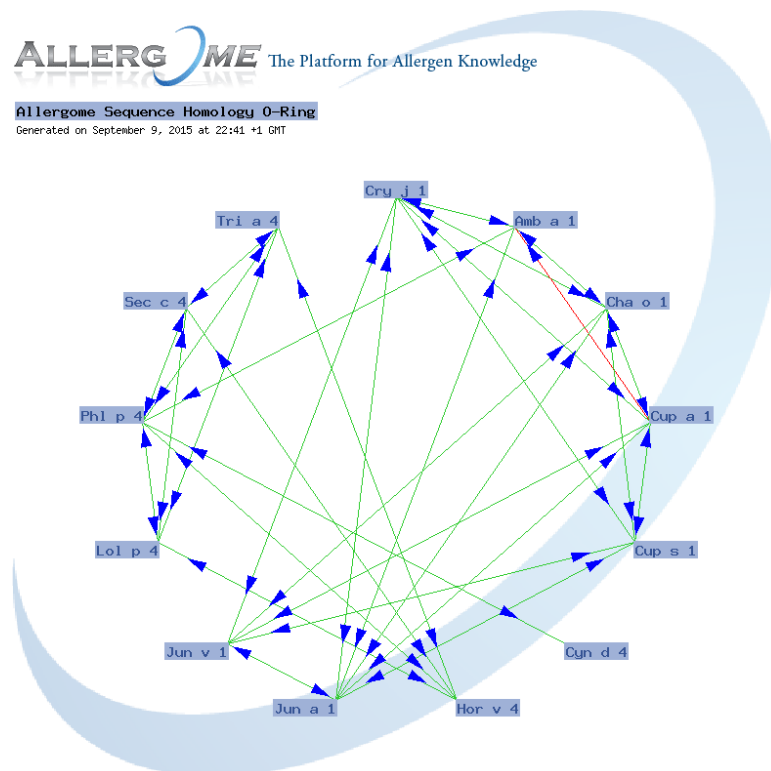


Figura 25. Homologia de seqüència entre Cry j 1 i cupresàcies [www.allergome.org].

Xiprer (*Cupressus arizonica*)

Cup a 1

Cupressus arizonica, el xiprer d'Arizona, és un arbre perenne de la família *Cupressaceae* natural del sud-oest d'Amèrica del Nord, al sud d'Estats Units i al Nord de Mèxic. *Cupressus arizonica* té una gran similitud proteica amb *Cupressus sempervirens*, que és el xiprer mediterrani, conífera originària de l'orient mediterrani (**figura 26**). Els xiprers viuen en llocs que serien massa àrids per a determinats tipus de pins o per a les alzines. Ocupen zones que en llocs més freds i igualment secs ocuparia la savina.

Tal com s'ha comentat anteriorment, Cup a 1 és una peptat-liasa i és el principal marcador de sensibilitzar al xiprer. Les peptat-liases del xiprer no presenten RE amb les peptat-liases d'artemisia (Art v 1) [Arilla, 2004] [Sánchez-López, 2011]. Cup a 1 tant es pot determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.



Figura 26. Xiprer (*Cupressus sempervirens*).

Plataner, plataner d'ombra (*Platanus acerifolia*)

Pla a 1, Pla a 2, Pla a 3

El plataner (**figura 27**) és un arbre caducifoli de la classe de les magnoliòpsides i de la família de les platanàcies. Té una pol·linització anemòfila i produeix una gran quantitat de pol·len, fet que explica l'elevada patologia al·lèrgica que ocasiona aquest pol·len a una part important de la població, sobretot a la zona metropolitana de Barcelona. Els dos principals al·lèrgens del plataner són Pla a 1 (inhibidor de la invertasa) i Pla a 2 (poligalacturonasa). Asturias i col·laboradors van publicar un treball on van objectivar una sensibilitat tant per Pla a 1 com per Pla a 2 del 100% en pacients monosensibilitzats i del 87,5% per pacients polisensibilitzats sense detectar falsos positius [**Asturias, 2006**].

Per altra banda sembla que ni la profilina del *Platanus acerifolia* ni Pla a 1 ni Pla a 2 poden explicar la RE amb altres aliments d'origen vegetal (avellana, plàtan, cacauet, api) [**Enrique, 2004**]. Tanmateix, sí que sembla que l'al·lèrgen Pla a 3 (proteïna LTP del plataner) podria estar implicada amb la RE entre aquest pol·len i alguns aliments, sobretot al Sud d'Europa [**Lauer, 2007**]. Pla a 1 i Pla a 2 tant es poden determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia com mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher. La micromatriu comercial ISAC® 112, a més a més, incorpora l'al·lèrgen Pla a 3.



**Figura 27. Plataner
(*Platanus acerifolia*).**

Làtex (*Hevea brasiliensis*)

Hev b 1, Hev b 2, Hev b 3, Hev b 5, Hev b 6, Hev b 7, Hev b 8, Hev b 13

La detecció d'IgE específiques de l'extracte de làtex utilitzant proves tradicionals és freqüent en persones sense símptomes clínics associats al làtex. La resolució de la sensibilització tipus IgE en components constitueix una manera de diferenciar l'al·lèrgia genuïna al làtex de la sensibilització a profilines.

L'estudi al·lèrgològic convencional amb extractes generalment inclou la molècula profilina (Hev b 8), tot i que aquesta acostuma a tenir una rellevància clínica escassa. Per altra banda, la sensibilització a Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5 i Hev b 6 s'associa a al·lèrgia primària al làtex **[Posch, 1998] [Raulf-Heimsoth, 2007]**. Tanmateix, fins al moment no s'ha descobert cap associació entre els al·lèrgens i la gravetat de la reacció **[Ebo, 2010b] [Ott, 2010b]**.

L'al·lèrgia al làtex apareix sobretot en individus amb exposició professional al làtex (per exemple professionals sanitaris) o en nens exposats al làtex en etapes inicials de la vida com ara per exemple aquells exposats a múltiples operacions (espina bífida). L'al·lèrgia al làtex fou un important problema sanitari fa algunes dècades, però, l'augment de la informació i la conscienciació actual han reduït tant l'exposició al làtex com el nombre de pacients al·lèrgics a aquest.

Hev b 1 (factor d'elongació del cautxú) és un dels principals al·lèrgens del làtex. La sensibilització a Hev b 1 té una elevada prevalença en nens sotmesos a múltiples operacions i amb espina bífida (50-100%) i la seva prevalença és una mica menor entre els professionals sanitaris (10-50%) **[Chen, 1997] [Chen, 1998]**.

Hev b 3 (proteïna de partícules petites del cautxú) és un al·lèrgen secundari del làtex. Hev b 3 i Hev b 1 estan molt relacionats i comparteixen trams d'homologia de seqüència, fet que podria explicar la seva RE **[Yeang, 1996] [Durauer, 2000]**.

Hev b 5 (proteïna acídica) sol associar-se a al·lèrgia professional al làtex **[Sutherland, 2002] [Sastre, 2004] [Sastre, 2006]**. Hev b 5 presenta homologia significativa amb el kiwi i la patata, que se sap que causen reaccions al·lèrgiques en

els pacients al·lèrgics al làtex **[Slater, 1996]** **[Sanchez-Monge, 2006]**.

Hev b 6 (proheveïna) és un al·lergen important del làtex amb una prevalença del 70-90% entre els pacients al·lèrgics al làtex. És una proteïna fixadora de la quitina de 20 kDa de PM i sembla ser l'al·lergen major del làtex. La seva capacitat de fixació de la IgE s'atribueix al seu domini N-terminal, conegut com heveïna (PM 4,7 kDa) **[Chardin, 2002]** **[Sastre, 2003]** **[Drew, 2004]**.

És el principal al·lergen sensibilitzant entre els professionals sanitaris. Hev b 6 també s'ha relacionat amb l'anomenada síndrome làtex-fruita (làtex-avocat-kiwi-plàtan-castanya) ja explicada anteriorment **[Diaz-Perales, 2003]** **[Drew, 2004]** **[Karisola, 2005]**. Hev b 6 comparteix homologia de seqüència amb Hev b 11, una quitinasa que pot presentar RE amb les quitinases d'algunes fruites tropicals (**figura 28**) **[Sastre, 2010]**.

És important puntualitzar que més de la meitat dels al·lèrgens del làtex caracteritzats fins ara tenen funció de defensa enfront a situacions d'estrès i cinc d'ells estan inclosos en diferents grups de proteïnes PR (relacionades amb la patogènesi).

La implicació clínica dels diferents al·lèrgens del làtex varia d'un a altre. Segons estudis clàssics Hev b 1 (factor d'elongació del cautxú) i el seu homòleg Hev b 3 són al·lèrgens principals en nens amb espina bífida mentre que Hev b 5 (proteïna àcida), Hev b 6 (proheveïna/heveïna) i Hev b 7 (homòleg de patatina) són al·lèrgens principals en adults que treballen amb guants de làtex (sector sanitari, hivernacles, laboratoris, entre altres).

Estudis recents utilitzant al·lèrgens purificats també han mostrat la importància clínica d'Hev b 2 i Hev b 13 com al·lèrgens principals en adults. Hev b 8 (profilina) no s'associa a al·lèrgia primària al làtex, i és un panal·lergen pertanyent a la família de les profilines **[Pamies, 2006]**. La sensibilització a profilina podria explicar la RE serològica amb altres fonts d'al·lèrgens d'origen vegetal, i en general, té poca rellevància clínica.

Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5, Hev b 6 i Hev b 8 són els al·lèrgens del làtex que es poden determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia i també mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

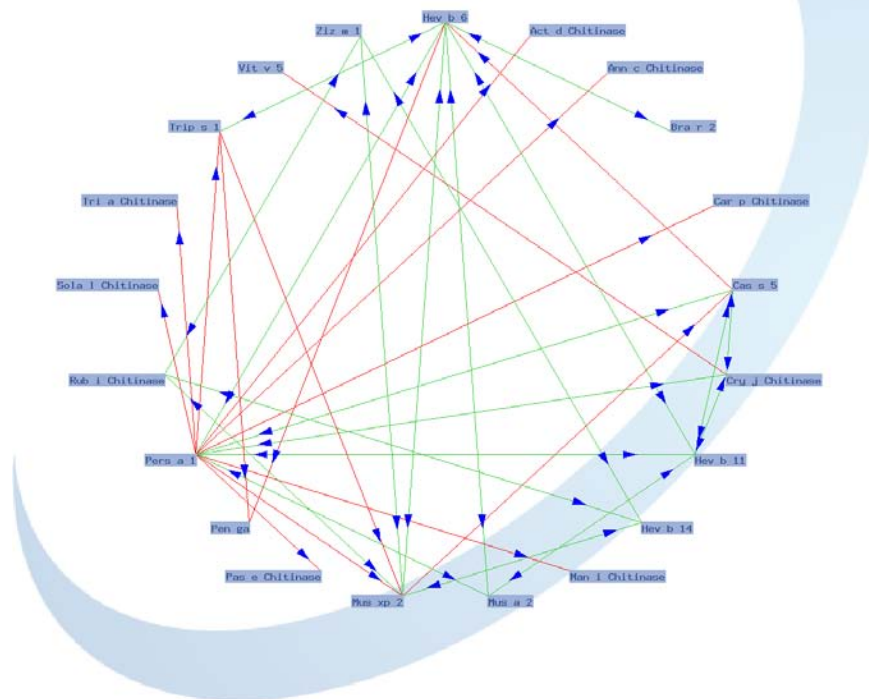


Figura 28. Homologia de seqüència entre Hev b 6 i molècules quitinases [www.allergome.org].

Epitelis i animals amb pèl

El reconeixement de més de tres al·lèrgens animals com les lipocalines (Mus m 1, Equ c 1, Fel d 4, Can f 1, Can f 2), cal·licreïna (Can f 5) i/o secretoglobina (Fel d 1) s'han relacionat amb asma greu a nens suecs **[Nordlund, 2012]**. Tanmateix, calen més estudis en l'àmbit de l'al·lèrgia als animals domèstics, on molts pacients estan polisensibilitzats a vàries espècies i els antecedents clínics sovint són poc concloents, problemes als que se suma que la RE entre, per exemple, el gat, el gos i el cavall no estigui del tot establerta a nivell molecular.

Epiteli de gat (*Felis domesticus*)

Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4

Fel d 1 (uteroglobina) és el principal component al·lèrgic a l'epiteli de gat i indica sensibilització primària a aquest. Al voltant del 60-90% dels pacients amb al·lèrgia a l'epiteli de gat presenten anticossos IgE enfront Fel d 1 **[Kleine-Tebbe, 1993] [Van Ree, 1999] [Grönlund, 2009b]**.

Nivells elevats d'IgE enfront Fel d 1 s'han associat a asma en els individus al·lèrgics als gats **[Gronlund, 2008]**. Per altra banda, els anticossos IgE enfront Fel d 1 poden utilitzar-se com a marcadors específics i, per tant, poden ser útils com a indicador de bona resposta a la ITE enfront l'epiteli de gat **[Ewbank, 2003] [Nanda, 2004] [Grönlund, 2009b]**. La molècula Fel d 1 mostra important homologia de seqüència amb molècules marcadores de sensibilització a epitelis d'altres felins (**figura 29**).

És probable que els anticossos IgE enfront l'albumina sèrica de l'epiteli de gat, Fel d 2, mostrin RE amb la majoria d'altres albúmines de mamífer com Can f 3 de l'epiteli de gos, Equ c 3 de l'epiteli de cavall, Sus s PSA del porc o Bos d 6 de la vaca. Per tant, si un pacient mostra sensibilització exclusivament a Fel d 2 de l'epiteli de gat i no a la resta de molècules del gat, és convenient identificar el sensibilitzador primari abans d'assessorar sobre si és convenient que mantingui el gat o no. També pot causar reaccions quan es menja porc (síndrome gat-porc) **[Hilger, 1997]**.

Al voltant del 15-40% dels pacients amb al·lèrgia a l'epiteli de gat presenten anticossos IgE enfront Fel d 2 [Spitzauer, 1995] [Cabanas, 2000]. Fel d 4 és una proteïna lipocalina que ha demostrat RE amb al·lèrgens del cavall, el gos i la vaca [Smith, 2004].

Fel d 1, Fel d 2 i Fel d 4 són els al·lèrgens del gat que es poden determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia i també mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

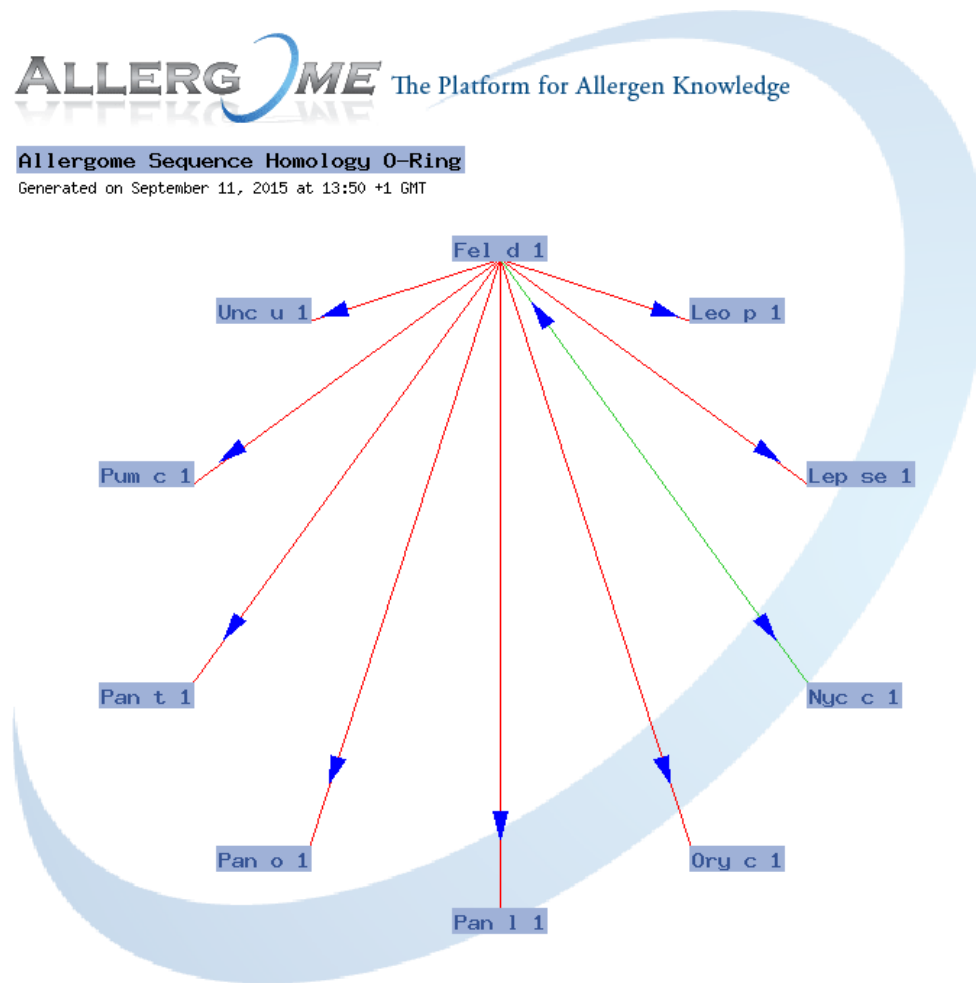


Figura 29. Homologia de seqüència entre Fel d 1 i altres molècules marcadores de sensibilització a epitelis de felins [www.allergome.org].

Epiteli de Gos (*Canis familiaris*)

Can f 1, Can f 2, Can f 3 i Can f 5

Can f 1, Can f 2 i Can f 5 són components al·lèrgics específics que indiquen sensibilització primària a l'epiteli de gos **[Saarelainen, 2004] [Mattsson, 2009]**. Can f 1 i Can f 2 són proteïnes lipocalines molt estables a la calor **[Custovic, 1999]**. Tanmateix, se sap poc sobre la RE d'aquestes dues proteïnes lipocalines. Per contra, Can f 5 ha demostrat RE amb la cal·licreïna prostàtica del líquid seminal humà (Hom s PSA). Entre el 50-90% dels pacients al·lèrgics a l'epiteli de gos presenten anticossos IgE enfront Can f 1; entre el 20-33% enfront Can f 2 i aproximadament un 70% enfront Can f 5 **[Saarelainen, 2004] [Basagaña, 2008] [Mattsson, 2009]**. Can f 1 pot utilitzar-se com a marcador específic a l'hora de decidir una possible prescripció d'ITE **[Lent, 2006]**.

Can f 3 és la proteïna albúmina sèrica del gos i presenta RE amb altres albúmines sèriques bovines **[Cabanas, 2000]**. Així, la majoria de pacients amb al·lèrgia al gos reaccionen enfront l'albúmina sèrica del gos, del gat i del cavall **[Spitzauer, 1995]**. Al voltant del 50% dels pacients al·lèrgics als gossos estan sensibilitzats enfront Can f 3 **[Saarelainen, 2004]**. Així, si un pacient presenta sensibilització a Can f 3 i no a Can f 1, ni Can f 2 ni Can f 5, el més ideal és identificar al sensibilitzador primari abans d'assessorar sobre si és convenient que mantingui el gos o no i en aquest cas la ITE podria no estar indicada. Can f 1, Can f 2 i Can f 3 es poden determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia i també mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher. A més a més, la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher incorpora també l'al·lèrgen del gos, arginina esterasa, Can f 5.

Epiteli de Cavall (*Equus caballus*)

Equ c 1, Equ c 3

Equ c 1 (lipocalina) es considera el principal al·lèrgen de les cèl·lules de l'epiteli del cavall i presenta RE parcial amb Mus m 1 de l'epiteli de rata i el Fel d 4 de l'epiteli de gat (**figura 30**) [Saarelainen, 2008]. Equ c 3 és una albúmina sèrica que, tal com ja s'ha comentat anteriorment, mostra RE amb altres albúmines sèriques de mamífer. L'al·lèrgen del cavall Equ c 3 es pot determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia i també mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher. A més a més, la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher incorpora també l'al·lèrgen del cavall lipocalina Equ c 1.

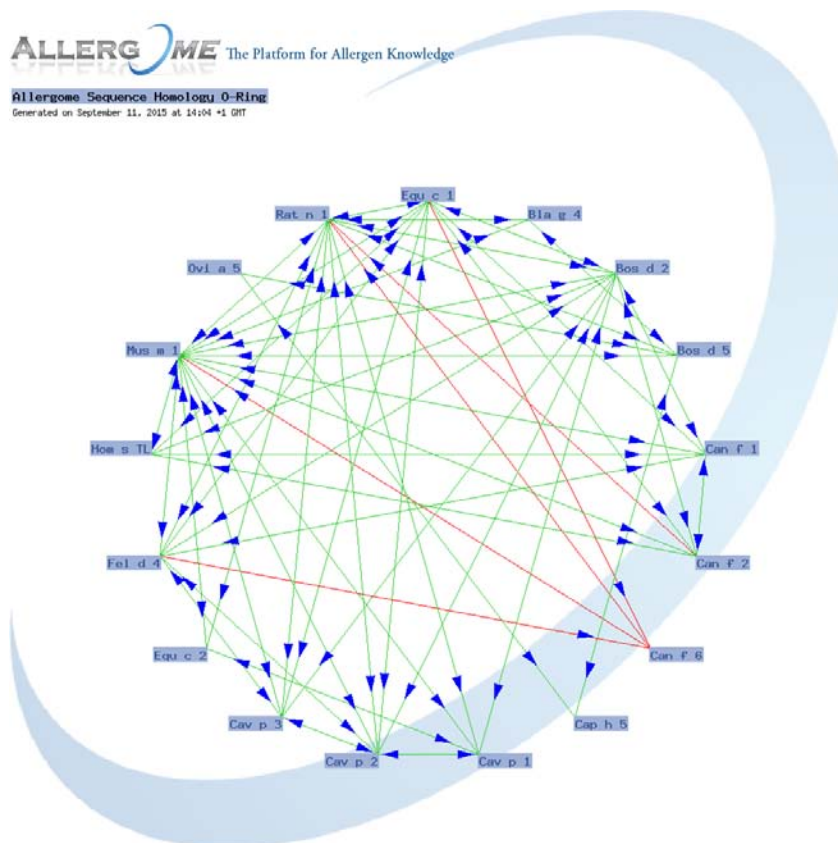


Figura 30. Homologia de seqüència de la molècula Equ c 1 amb molècules d'altres epitelis [www.allergome.org].

Epiteli de Ratolí (*Mus musculus*)

Mus m 1

La sensibilització a Mus m 1 de l'epiteli de ratolí (lipocalina) s'ha associat a asma en algunes ciutats d'Estats Units i es considera un pneumoal·lergen d'interior [Phipatanakul, 2007] [Platts-Mills, 2007] [Salo, 2009]. També és important remarcar que l'al·lèrgia a ratolí és bastant freqüent en professionals que treballen amb animals d'experimentació.

L'al·lergen Mus m 1 mostra homologia de seqüència amb les proteïnes lipocalines d'altres espècies animals (figura 31). L'al·lergen del ratolí Mus m 1 es pot determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia i també mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

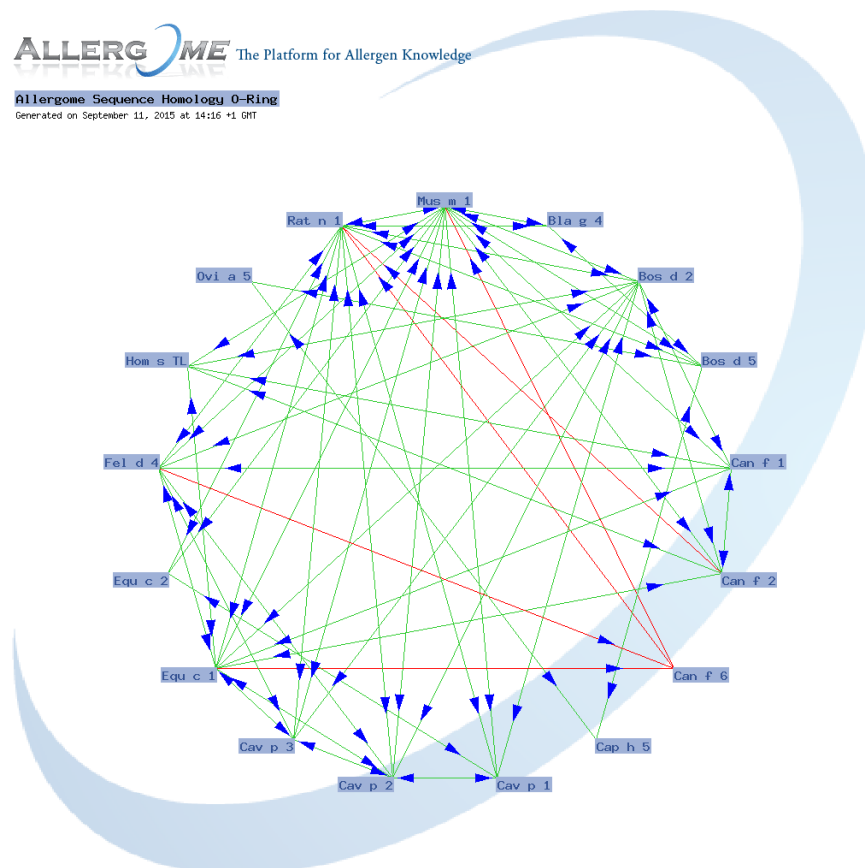


Figura 31. Homologia de seqüència de la molècula Mus m 1 amb molècules d'altres epitelis [www.allergome.org].

Espores de Fongs

Espores d'Alternària (*Alternaria alternata*)

Alt a 1 i Alt a 6

Se sap que la sensibilització a alternària és un factor de risc pel desenvolupament, la persistència i l'exacerbació de l'asma, tant en nens com en adults [Halonen, 1997] [Downs, 2001] [Bush, 2004].

Alt a 1 (glicoproteïna àcida) és un dels principals al·lèrgens reconegut en aproximadament el 80-100% dels pacients al·lèrgics a *Alternaria alternata* [Yunginger, 1980] [De Vouge, 1996] [Unger, 1999]. Alt a 6 pertany a la família proteica de l'enolasa i sembla que podria ser responsable del fenomen de RE entre diferents espècies de fongs (figura 32).

Els al·lèrgens Alt a 1 i Alt a 6 es poden determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia i també mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

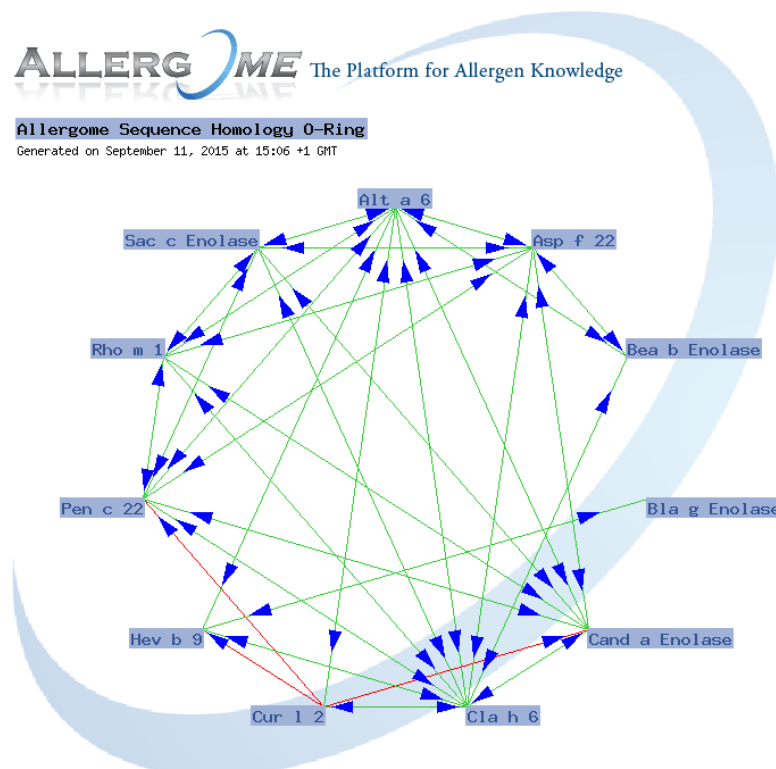


Figura 32. Homologia de seqüència de la molècula Alt a 6 amb altres molècules marcadores de sensibilització a fongs [www.allergome.org].

Espores d'*Aspergillus* (*Aspergillus fumigatus*)

Asp f 1, Asp f 2, Asp f 3, Asp f 4 i Asp f 6

La inhalació de les espores del fong *Aspergillus fumigatus* és responsable de moltes malalties respiratòries al·lèrgiques, essent la més important per la seva gravetat l'Aspergilosis Broncopulmonar Al·lèrgica (ABPA). *Aspergillus fumigatus* preval a climes temperats, objectivant-se un pic màxim d'aquestes espores a principis de la primavera.

Asp f 1 i Asp f 2 s'han identificat com els principals al·lèrgens d'*Aspergillus fumigatus*. Se sap que més del 80% dels pacients sensibilitzats a aquesta espècie presenten positivitat front la molècula Asp f 1 [Cramer, 1998] [Hermann, 1998] [Kurup, 2000] [Casaulta, 2005].

Asp f 2 (ASPND1) i sobretot Asp f 4 i Asp f 6 poden ser marcadors específics d'ABPA [Cramer, 1998] [Hermann, 1998] [Kurup, 2000] [Casaulta, 2005]. Asp f 1 (robotoxina-mitogilina) i Asp f 3 (proteïna perixosomal) podrien ser molècules més indicatives d'asma al·lèrgic [Kurup, 2000] [Casaulta, 2005].

Asp f 6 pertany a la família proteica del manganès superòxid dismutasa i podria ser un dels al·lèrgens responsables de la RE entre les diferents espècies de fongs (**figura 33**) [Kurup, 2003]. Tanmateix, actualment calen més estudis per acabar de definir correctament aquestes associacions.

Els al·lèrgens Asp f 1, Asp f 2, Asp f 3, Asp f 4 i Asp 6 es poden determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia. Per contra la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher només permet la detecció dels al·lèrgens d'*Aspergillus fumigatus* Asp f 1, Asp f 3 i Asp f 6.

Allergome Sequence Homology 0-Ring

Generated on September 11, 2015 at 15:21 +1 GMT

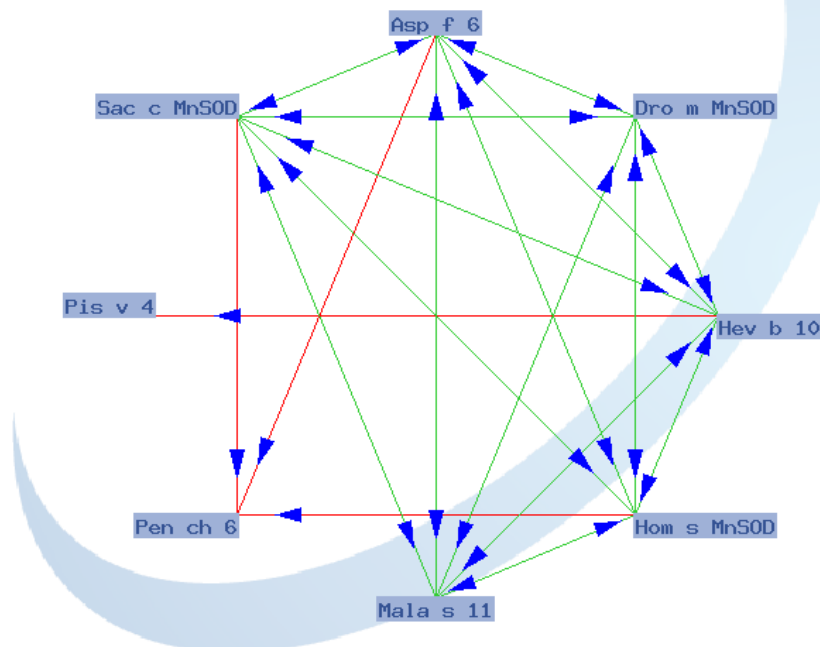


Figura 33. Homologia de seqüència de la molècula Asp f 6 amb altres molècules marcadores de sensibilització a fongs [www.allergome.org].

Espores de Cladosporium (*Cladosporium herbarum*)

Cla h 8

Cladosporium herbarum és una espècie fúngica al·lèrgica important que ha demostrat causar malalties al·lèrgiques a gairebé totes les zones climàtiques. Cla h 8 (manitol deshidrogenasa) és un al·lèrgen reconegut pels anticossos IgE en aproximadament el 50% de tots els pacients al·lèrgics a *Cladosporium* [Simon-Nobbe, 2006]. L'al·lèrgen Cla h 8 es pot determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia i també mitjançant la micromatriu ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

Paràsits

Anisakis (*Anisakis simplex*)

Ani s 1, Ani s 3, Ani s 4 i Ani s 5

L'*Anisakis* és un paràsit del peix que pot causar reaccions greus quan es menja el peix infectat cru [Sastre, 2000] [Lluch-Bernal, 2002]. Les larves que envaeixen la mucosa intestinal segreguen unes proteïnes implicades en la patogènia de l'anisakiasis i poden produir símptomes mitjançant una resposta de tipus IgE.

Els al·lèrgens Ani s 1 (inhibidor de la proteasa serina) i Ani s 4 (inhibidor de la cisteïna proteasa, també coneguda com cistatina) han demostrat la seva utilitat per diagnosticar la sensibilització enfront a les larves del gènere *Anisakis*. Tanmateix, la positivitat sèrica de la molècula Ani s 1 té un valor diagnòstic limitat per discriminar clínicament als pacients amb antecedents d'anisakiasis gastroal·lèrgica [Caballero, 2002].

Per altra banda, Caballero i els seus col·laboradors publicaren un treball on objectivaren que tan sols el 12% dels pacients que havien presentat símptomes clínics compatibles amb anisakiasis gastroal·lèrgica reconeixien Ani s 5 com a únic al·lèrgen de l'anisakis [Caballero, 2008].

Ani s 2 (paramiosina) [Perez-Perez, 2000] i Ani s 3 (tropomiosina) [Asturias, 2000], al·lèrgens d'*Anisakis simplex*, mostren una extensa RE amb altres tropomiosines de nemàtodes i invertebrats.

Ani s 1 i Ani s 3 són els al·lèrgens de l'*Anisakis simplex* que es poden determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia i també mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher.

Insectes

Escarabat (*Blatella germànica*, *Periplaneta americana*)

Bla g 1, Bla g 2, Bla g 4, Bla g 5, Bla g7, Per a 1, Per a 2, Per a 3, Per a 7

L'exposició a nivells elevats d'al·lèrgens d'escarabat a la llar s'ha vist que és un factor de risc important perquè un pacient sensibilitzat acabi presentant símptomes respiratoris. Resultats previs de proves cutànies i estudis serològics "*in vitro*" han determinat que la prevalença d'anticossos IgE enfront Bla g 1 i el seu homòleg Per a 1 (**figura 34**) oscil·la entre el 30% i el 50% en pacients amb proves cutànies positives a l'extracte complet d'escarabat.

Altres al·lèrgens identificats de *Blatella germanica* i *Periplaneta americana* inclouen Bla g 2 (proteïna aspàrtica inactiva), Bla g 4 (calicina), Bla g 5 (glutatió-S-transferasa), Bla g 6 (troponina), Bla g 7 (tropomiosina), Per a 2 (proteasa aspàrtica), Per a 3 (arilforina) i Per a 7 (tropomiosina) **[Arruda, 2005]**.

La sensibilització a Per a 2 s'ha relacionat amb la gravetat de l'al·lèrgia respiratòria (sobretot asma) a pacients al·lèrgics als escarabats **[Lee, 2012]**. Tanmateix, Per a 2, no està disponible comercialment per a la realització de les proves "*in vitro*", però, sí que disposem del seu homòleg Bla g 2.

Bla g 7 (tropomiosina), molècula de RE, és també un bon indicador de risc de reaccions al·lèrgiques al marisc o als cargols i que poden ser greus **[Lopata, 2009]**.

Estudis serològics realitzats a Estats Units suggereixen que la prevalença d'anticossos IgE enfront Bla g 4 i Bla g 5 és del 60% i 70%, respectivament, i que una combinació de Bla g 1, Bla g 2, Bla g 4 i Bla g 5 diagnosticaria al 95% dels casos amb al·lèrgia a l'escarabat **[Arruda, 2001]**.

Bla g 1, Bla g 2, Bla g 4, Bla g 5 i Bla g 7 són els al·lèrgens de *Blatella germanica* que es poden determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia. La micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher manté els mateixos al·lèrgens a excepció de Bla g 4. Cap de les dues micromatrius no conté cap al·lèrgen de l'escarabat *Periplaneta americana*.

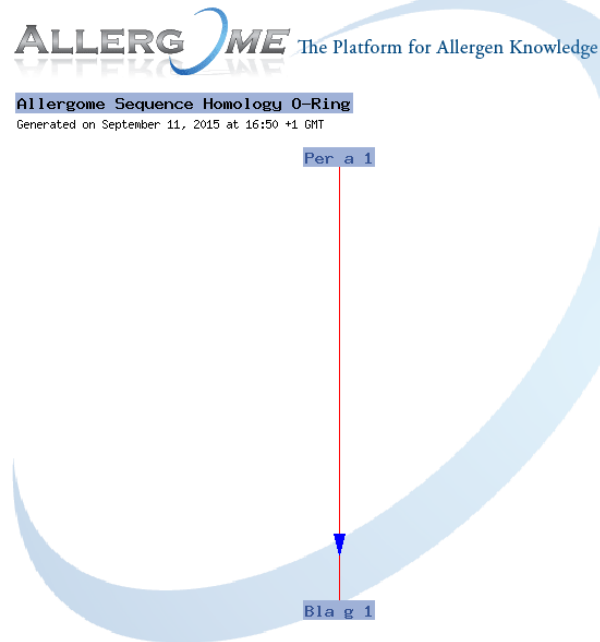


Figura 34. Homologia de seqüència entre la molècula Bla g 1 i Per a 1 [www.allergome.org].

Verí d'himenòpters

El diagnòstic de l'al·lèrgia al verí d'himenòpters constitueix la base de la ITE. La majoria dels verins d'himenòpters contenen CCD que són els responsables d'una part de la RE de tipus IgE sense rellevància clínica en els pacients. Aquesta RE s'observa entre els verins d'abelles i el de les vèspules (**figura 35**). La detecció d'al·lèrgens recombinants del verí d'himenòpters permet diferenciar entre una autèntica sensibilització i el que seria un fenomen de RE deguda als CCD en els pacients que presenten dobles positivitats d'IgE a les proves convencionals amb extractes al·lèrgènics de verí **[Mittermann, 2010]**.

Abella (*Apis mellifera*)

Api m 1, Api m 4

Api m 1 (fosfolipasa A₂) és el principal al·lergen específic del verí de l'abella. Els principals al·lèrgens de diferents abelles de tot el món són molt similars, i l'estructura del principal al·lergen, la fosfolipasa A₂, és pràcticament idèntica (**figura 35**). Api m 4 (melitina) és també un altre dels principals components del verí d'abella, però, només el 28% dels pacients presenten anticossos IgE específics enfront a aquest pèptid [Paull, 1977] [Mittermann, 2010] [Muller, 2012]. Api m 1 i Api m 4, es poden determinar mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia) i ISAC® 112 (Thermo-Fisher).

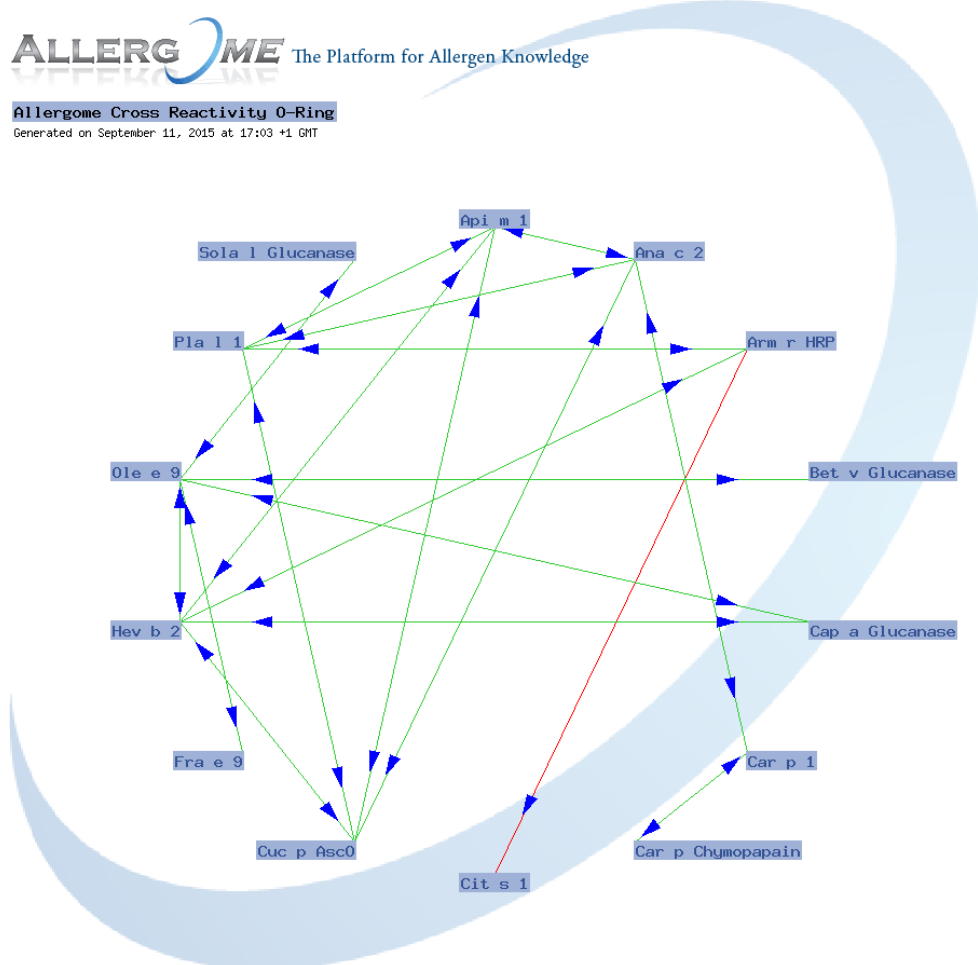


Figura 35. Homologia de seqüència entre la molècula Api g 1 i altres molècules que contenen CCD [www.allergome.org].

Vespa (*Polistes dominulus*, *Vespula vulgaris*)

**Ves v 1, Ves v 2, Ves v 5,
Pol d 5**

Pol d 5 (antigen 5) de polistes, Ves v 1 (fosfolipasa A₁) i Ves v 5 (antigen 5) dels vèspids són els principals al·lèrgens específics dels polistes i vèspids respectivament [De Graaf, 2009]. L'antigen 5 és el principal al·lèrgen en tots els verins de vèspids [Henriksen, 2001].

Existeix una important RE entre els verins de *Vespula*, *Vespa* i *Dolichovespula* (figura 36). La RE dels vèspids (*Vespula*, *Vespa* i *Dolichovespula*) amb les vespes del paper (*Polistes*) acostuma a ser menor que la RE dins dels vèspids. Per altra banda, la RE entre les espècies europees de Polistes (*Polistes dominulus* i *Polistes gallicus*) és realment considerable, mentre que entre les espècies europees i americanes és més escassa [Muller, 2009].

Les hialuronidases del verí (Ves v 2) s'han identificat com els al·lèrgens més importants que contenen CCD, mentre que les reaccions encreuades entre els esquelets peptídics de hialuronidases són menys freqüents. Aquests al·lèrgens tenen poca rellevància clínica.

Els casos de positivitat doble de la IgE específica enfront el verí d'abella i el verí de vespa, a part de la sensibilització doble real, solen ser deguts per reaccions encreuades, especialment per CCD [Bilo, 2005]. Per contra, les IgE específiques enfront Api m 1 i Ves v 5 indica una probable doble sensibilització i, en aquest cas la ITE estaria indicada fer-la a ambdós verins [Muller, 2009].

Per a la determinació d'aquests al·lèrgens cal tenir en compte que la micromatriu comercial ISAC® 103 de Phadia no contenia cap al·lèrgen de vèspid. Per contra, la comercialització de la nova micromatriu comercial ISAC® 112 de Thermo-Fisher sí que incorpora els al·lèrgens Pol d 5 de *Polistes dominulus* i Ves v 5 de *Vespula vulgaris*.

Allergome Cross Reactivity 0-Ring

Generated on September 11, 2015 at 21:51 +1 GMT

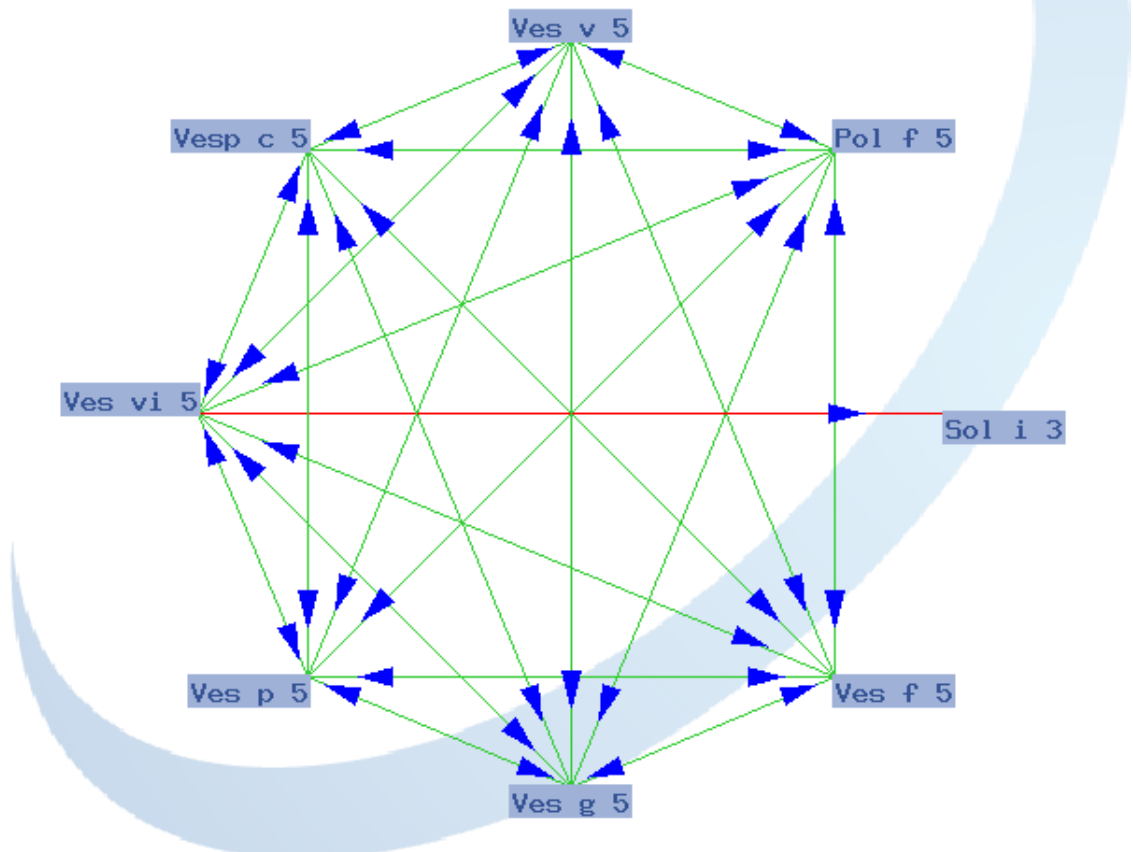


Figura 36. Reactivitat encreuada entre la molècula Ves v 5 i altres vèspids/polistes [www.allergome.org].

Justificació

Fins la data s'han identificat i caracteritzat molts components al·lèrgens de diferents fonts i la llista va augmentant ràpidament. Paral·lelament amb el progrés científic, les tècniques diagnòstiques al·lèrgològiques han millorat considerablement en els últims anys gràcies a la disponibilitat d'aquests al·lèrgens naturals purificats i/o recombinants. L'era de la biologia molecular i l'enginyeria genètica han introduït un nou mètode tant pel diagnòstic com pel tractament de les malalties al·lèrgiques [Tighe, 2000]. Aquesta nova aproximació augmenta les possibilitats d'identificar un gran nombre d'antígens sensibilitzants i proporciona una major especificitat de les tècniques diagnòstiques i terapèutiques, racionalitzant l'ús de la immunoteràpia específica.

Tot això s'aconsegueix gràcies al millor coneixement del perfil de sensibilització a al·lèrgens individuals, el qual permet diferenciar aquells pacients amb sensibilització genuïna a diferents fonts pol·líniques dels que presenten sensibilització per reactivitat encreuada, amb les implicacions diagnòstiques i terapèutiques que aquest fet comporta ja que la sensibilització genuïna sembla que tindria una repercussió clínica i resposta al tractament específic major que la sensibilització per reactivitat encreuada.

L'aplicabilitat d'aquesta tesi doctoral és clínica i de promoció general del coneixement. Entendre les bases moleculars de la sensibilització primària i de la reactivitat encreuada a la nostra població d'estudi és bàsic per aconseguir el control òptim dels nostres pacients al·lèrgics. D'aquesta manera, la interpretació de la informació recopilada de les proves que analitzen els components al·lèrgens suposa un enorme pas cap endavant i l'inici d'una nova era en el camp del diagnòstic al·lèrgològic. Tanmateix, queden encara molts interrogants en aquest entramat de molècules flotants enmig d'una mar moguda, serpent i a la vegada plena de misteri que justifica, com no, la realització de projectes com el que es presenta.

Objectius

Objectius Capítol I

Objectius principals

1. Definir el patró de sensibilització al·lèrgic específic de pacients adults de la nostra àrea geogràfica amb clínica respiratòria (rinoconjuntivitis i/o asma) sensibilitzats a tres o més grups de pol·len de diferents espècies amb o sense sensibilització alimentària concomitant.
2. Comparar els diferents patrons de sensibilització al·lèrgics específics entre els pacients de la nostra àrea geogràfica i els de l'àrea central d'Itàlia.

Objectius secundaris

1. Avaluar si la sensibilització a molècules de reactivitat encreuada es relaciona amb el nombre o els tipus d'espècies botàniques sensibilitzants en pacients amb RC i/o asma de la nostra àrea geogràfica.
2. Avaluar si un determinat patró clínic s'associa a una determinada molècula al·lèrgica.
3. Valorar la sensibilitat i l'especificitat de la micromatriu comercial ImmunoCAP ISAC® 103 en l'al·lèrgia a fonts al·lèrgiques específiques i en la sensibilització a molècules de reactivitat encreuada dels pacients amb patologia respiratòria (rinoconjuntivitis i/o asma) de la nostra població d'estudi.

Objectius Capítol II

Objectius principals

1. Definir els patrons de sensibilització de molècules al·lèrgèniques específiques a pacients pediàtrics amb proves cutànies positives a tres o més grups d'aliments taxonòmicament diferents (excloent llet i ou) amb o sense clínica respiratòria concomitant.
2. Avaluar si un determinat patró clínic s'associa a una determinada molècula al·lèrgènica.

Objectius secundaris

1. Avaluar si la sensibilització a al·lèrgens de reactivitat encreuada es relaciona amb el nombre o els tipus d'aliments sensibilitzants en pacients amb al·lèrgia alimentària de la nostra població d'estudi pediàtrica.
2. Avaluar si la sensibilització a molècules de reactivitat encreuada es relaciona amb el nombre o els tipus de pneumoal·lèrgens sensibilitzants en els pacients de la nostra població diagnosticats de rinoconjuntivitis i/o asma.
3. Definir el perfil molecular de sensibilització enfront l'al·lèrgen *Alternaria alternata* a la nostra població d'estudi.
4. Avaluar la sensibilitat i l'especificitat de les proves cutànies intraepidèrmiques ("skin prick-test") de l'al·lèrgen Alt a 1 en el pacients de la nostra població d'estudi sensibilitzats a l'al·lèrgen complet d'*Alternaria alternata*.

Capítol I

Metodologia

Pacients, material i mètodes del Capítol I

Disseny de l'estudi:

Estudi observacional prospectiu.

Participants:

Centres participants a l'estudi:

1. Hospital Vall d'Hebron (Barcelona)
2. Istituto Dermopatico dell'Immacolata (Roma)

Es varen incloure pacients que complissin les següents característiques:

Criteris d'inclusió:

- Individus amb el diagnòstic establert de rinitis al·lèrgica intermitent o persistent lleu moderada o greu segons els criteris diagnòstics de la guia ARIA modificada [**Bousquet, 2008**] i/o individus diagnosticats d'asma al·lèrgic persistent lleu o moderat segons els criteris diagnòstics i classificació de la guia GEMA, actualització 2015 [**www.gemasma.com**]. Els pacients podien presentar clínica de conjuntivitis associada i/o al·lèrgia a aliments concomitantment.
- Proves cutànies (proves intraepidèrmiques o “*skin prick-test*”) positives a tres o més espècies de pol·len diferents.
- Pacients d'edats compreses entre els 18 anys i els 75 anys, ambdues edats incloses.
- El malalt o en el seu cas el tutor o representant legal havia d'haver firmat el consentiment informat.
- Pacients que haguessin habitat a la mateixa regió geogràfica durant un mínim de 10 anys consecutius. Aquesta regió geogràfica corresponia a la ciutat de Barcelona i la seva àrea d'influència o la ciutat de Roma i la seva àrea d'influència.

Criteris d'exclusió:

- Haver rebut prèviament immunoteràpia específica enfront pol·len i/o aliments.
- Pacients que presentessin alguna malaltia dermatològica, consum d'algun medicament o qualsevol altra condició que impedís la realització de les proves cutànies intraepidèrmiques o “*skin prick-test*” per l'estudi “*in vivo*” o l'extracció sanguínia pels estudis “*in vitro*”.
- Pacients que patissin alguna malaltia inflamatòria sistèmica, autoimmunològica o neoplàsica.

Mida de la mostra:

Es va estimar que el 80% dels pacients que s'atenen a les Consultes Externes d'Al·lèrgologia presenten algun tipus de patologia respiratòria (rinitis i/o asma). D'aquests entre un 30-65% d'ells presenten proves cutànies intraepidèrmiques positives (“*skin prick-test*”) a tres o més al·lèrgens diferents [Bousquet, 2012]. El nombre total de pacients que calia incloure oscil·lava entre un nombre petit de 50 pacients per estudis de sensibilitat, fins a un nombre de 75 pacients per estudis de perfils de sensibilització amb una precisió estadística del 10% i un nivell de confiança del 95%. Per tant, el nombre total de pacients que es varen incloure a l'estudi va ser de 156 pacients. Es va calcular que aquesta mida mostral proporcionaria la suficient precisió estadística pel càlcul dels objectius proposats.

Aspectes ètics:

Aquest projecte ha estat aprovat pel Comitè d'Ètica de l'Hospital Vall d'Hebron [IRB/PR (AG)53/2009].

Metodologia, variables i mesures:

1. **Es van realitzar proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) a una bateria estàndard d'al·lèrgens inhalants [Bousquet, 2012] [Sekerel, 2012].** Aquesta bateria incloïa els al·lèrgens a inhalants que es detallen a la **taula 4**. També incloïa la realització de les proves intraepidèrmiques o “*skin prick-test*” mitjançant fosfat d'histamina (10 mg/mL), la qual es va considerar com a control positiu i, amb sèrum fisiològic estèril al 0,9%, el qual es va considerar com a control negatiu.

Totes les proves cutànies es realitzaren d'acord amb el procediment estàndard [Malling, 1993] a la cara anterior de l'avantbraç amb una llanceta "Prick Lancettes Dome" (Hollister-Stier, Spokane, Washington, EUA). S'usà una llanceta estèril per a cada prova cutània. Es va considerar com a resposta positiva una pàpula mitjana de 7 mm de diàmetre o superior a la produïda pel control negatiu 15 minuts després de la punció. Aquells pacients que paral·lelament referien símptomes alimentaris, se'ls realitzà també proves cutànies intraepidèrmiques o "skin prick-test" a una bateria estàndard d'aliments (taula 5).

Taula 4. Neumoal·lèrgens determinats mitjançant proves cutànies.

**Proves cutànies intraepidèrmiques ("skin prick-test")
enfrent al·lèrgens inhalants**

Àcars (*Dermatophagoides pteronyssinus* i *Dermatophagoides farinae*)

Epitelis (gos, gat)

Gramínies (*Phleum*, *Cynodon*, *Phragmites*)

Maleeses (*Artemisia vulgaris*, *Parietaria judaica*, *Chenopodium album*)

Arbres (*Olea europaea*, *Pinus pinea*, *Platanus acerifolia*, *Cupressus sempervirens*, *Fagus sylvatica*, *Corylus avellana*)

Fongs (*Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*)

Làtex (*Hevea brasiliensis*)

Sulfat d'histamina (control positiu)

Sèrum fisiològic estèril (control negatiu)

Taula 5. Aliments determinats mitjançant proves cutànies.

Proves cutànies intraepidèrmiques (“skin prick-test”) enfront aliments

Llegums (cigrons, lleties, soja)

Cereals (civada, sègol, blat, gluten, arròs, blat de moro)

Mol·luscs (petxines)

Cefalòpodes (calamar)

Peixos (lluç, sardina)

Crustacis (gamba)

Anisakis simplex

Ou (clara, rovell)

Llet

Verdures (patata, tomàquet, pastanaga)

Fruita [fruites cucurbitàcies (meló); **fruites rosàcies** (maduixa, poma, pera, préssec); **altres fruites** (cítrics, kiwi, pinya, plàtan)]

Fruita seca (castanyes, ametlles, avellanes, festucs, nous, pipes de girasol, cacauet, pinyons)

Carn (pollastre, vedella i porc)

2. **Extracció sanguínia de 10,0 mil·lilitres (mL) de sang venosa perifèrica** utilitzant dos tubs d'extracció Vacutest® amb gel i activador de la coagulació. La mostra de sang es va obtenir per punció venosa i es va deixar coagular durant 30 minuts. Posteriorment es va centrifugar a 3000 revolucions per minut durant 7 minuts i, finalment, es va distribuir en alíquotes, les quals van ser codificades i congelades a -20°C fins al moment de l'anàlisi.

3. **Determinació dels següents paràmetres analítics:**

- **IgE total sèrica.**
- **IgE específiques** a les fonts al·lèrgiques completes que van ser positives mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques o “*skin prick-test*” determinades amb el sistema ImmunoCAP® (Phadia-Thermo-Fisher). Per a la seva determinació se segueixen les instruccions del fabricant seguint el procediment habitual de cada consulta. Els resultats de les determinacions s'expressaren en KU/l tal com assenyalen les instruccions del fabricant. Aquells resultats d'IgE específiques (ImmunoCAP®) > 0,35 KU/l varen ser considerats positius.
- **IgE específiques enfront molècules al·lèrgiques recombinants i/o naturals purificades** utilitzant la micromatriu comercial ImmunoCAP ISAC® 103 (Immuno Solid-Phase Allergen Chip, BVC-GENOMICS, Viena, Austria). Els resultats obtinguts s'expressaren en Unitats Estandarditzades d'ISAC (ISU) [Ott, 2008] [Sastre, 2010] [Eller, 2013]. Es consideraren resultats indetectables aquells < 0,3 ISU i positius aquells ≥ 0,3 ISU. A la vegada els resultats positius foren subclassificats en resultats positius baixos, que foren aquells resultats amb valors compresos entre 0,3 i 0,9 ISU; valors positius moderats-alts, que foren aquells resultats amb valors compresos entre 1 i 14,9 ISU i, valors positius molt alts, que foren aquells resultats amb valors ≥ 15 ISU. Seguint les instruccions del fabricant, els llocs de reacció del biochip es van incubar amb 10 µL de sèrum dels pacients al·lèrgics

durant 2 hores a temperatura ambient i, després de realitzar diversos rentats amb tampó TBS-T (clorur de sodi 150 MM, Tris base 10 MM, i Tween 20 0,5%, pH 8,0) durant mitja hora, s'incubaren amb anticòs anti-IgE humà marcat amb el fluoròfor Cy3 durant una altra hora. A continuació s'escanejà el bioxip a l'ScanArray GX Microarray Scanner (Perkin Elmer Waltham, Massachusetts, USA) i l'anàlisi final es va realitzar amb un programa informàtic automatitzat. El programa determina la posició de la senyal fluorescent respecte a l'al·lergen i respecte al lloc que es trobava en cada espai de reacció de l'ISAC® 103 i, va calcular una corba de calibratge mitjançant el calibratge del sèrum analitzat a cadascun dels quatre llocs. Amb aquesta corba, les intensitats fluorescents es transformaren en concentracions d'IgE específica (KU/l). Cada bioxip contenia quatre espais individuals amb 103 al·lèrgens purificats naturals i/o recombinants (**taula 6**). En total es necessitaren 39 bioxips per les 156 mostres de sèrum. Les mostres obtingudes foren analitzades al laboratori d'aplicacions d'Al·lèrgologia Molecular de l'Istituto Dermopatico dell'Immacolata (Roma). Els 103 al·lèrgens que es determinaren es detallen a la **taula 6**.

Taula 6. Al·lèrgens presents a la micromatriu ISAC® 103.

Molècules
Act d 1, Act d 2, Act d 5, Act d 8
Aln g 1
Alt a 1, Alt a 6
Amb a 1
Ana c 2
Ana o 2
Ani s 1, Ani s 3
Api g 1
Api m 1, Api m 4
Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 8
Art v 1, Art v 3
Asp f 1, Asp f 2, Asp f 3, Asp f 4, Asp f 6
Ber e 1
Bet v 1, Bet v 2, Bet v 4
Bla g 1, Bla g 2, Bla g 4, Bla g 5, Bla g 7
Bos d 4, Bos d 5, Bos d 6, Bos d 8, Bos d lactoferrina
Can f 1, Can f 2, Can f 3
Cla h 8
Cor a 1.0101, Cor a 1.0401, Cor a 8, Cor a 9
Cry j 1
Cup a 1
Cyn d 1
Cyp c 1
Dau c 1
Der f 1, Der f 2
Der p 1, Der p 2, Der p 10
Equ c 3
Eur m 2
Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4
Gad c 1
Gal d 1, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 5
Gly m 4, Gly m 5, Gly m 6
Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5, Hev b 6, Hev b 8
Mal d 1
Mer a 1
Mus m 1
Ole e 1, Ole e 2
Par j 2
Pen a 1
Pen i 1
Pen m 1
Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 7, Phl p 11, Phl p 12
Pla a 1, Pla a 2
Pru p 1, Pru p 3
Sal k 1
Ses i 1
Tri a 18, Tri a 19, Tri a 19.0101, Tri a aA TI

4. **Provocació nasal específica:** Es realitzaren proves de provocació nasal específica a extractes complets de gramínies (Laboratorios Leti), mitjançant rinometria acústica tal i com s'ha descrit prèviament [Wihl,

1986] [Gosepath, 2005] [AL, 2007]. Per a la realització de les provocacions nasals se seleccionaren pacients que presentessin positivitat de la IgE específica enfront al·lèrgens del grup 1 i/o 5 de gramínies i que no mostressin sensibilització a proteïnes polcalcines ni profilines així com pacients sensibilitzats a proteïnes profilines i/o polcalcines, però, sense sensibilització als al·lèrgens dels grups 1 i/o 5 de gramínies.

Per a la realització de la prova de provocació nasal específica es varen tenir en compte les següents consideracions prèvies **[Gosepath, 2005]**:

a. Per part del pacient:

Els pacients seleccionats per a la realització de la prova de provocació nasal enfront gramínies havien de tenir el diagnòstic establert de rinitis intermitent o persistent moderada o greu. En el moment de la realització de la prova, el pacient havia d'estar fora de l'estació pol·línica de les gramínies (primavera) i romandre asimptomàtic. Com a mínim havien de transcorre quatre setmanes desde l'última agudització de rinitis (al·lèrgica, bacteriana o vírica) i, prèviament s'havien hagut de retirar tots aquells medicaments que poguessin modificar la resposta nasal (antihistamínics orals, antihistamínics tòpics, corticoesteroides tòpics, corticoesteroides orals, cromoglicat sòdic, antidepressius tricíclics, fàrmacs antiinflamatoris, fàrmacs antihipertensius del tipus reserpina o clonidina). S'evità també la realització de la prova en aquelles pacients que estessin o poguessin estar embarassades en el moment d'haver-la de realitzar així com a tots aquells pacients que haguessin estat sotmesos a cirurgia nasal les vuit setmanes prèvies o tinguessin el diagnòstic d'asma intermitent o persistent lleu, moderat o greu parcialment controlat o mal controlat. Preferiblement la prova es feia durant el matí per tal d'evitar l'efecte potencialment irritant dels estímuls diaris habituals (tabac, fum, contaminació, cafè, exercici físic).

b. Per part de l'habitacle:

Es va mantenir una temperatura i humitat constants que oscil·lava entre

20 i 22 °C i un 40-60% d'humiditat. El pacient va romandre 30 minuts a l'habitació per aclimatar-se amb la finalitat d'evitar reaccions inespecífiques degudes a les condicions ambientals.

c. Característiques de l'al·lergen:

S'utilitzaren extractes estandarditzats complets de gramínies (Laboratorios Leti). La prova s'inicià amb una concentració 1:1000 i, s'incrementà la concentració en base al factor 10. Mitjançant una xeringa s'instil·laven 0,1 ml de l'al·lergen bilateralment segons cada concentració al cornet inferior. Prèviament, s'havia iniciat la prova instil·lant una solució de sèrum fisiològic estèril. Posteriorment, cada 15 minuts després de l'aplicació de la corresponent solució es valorava la resposta nasal.

d. Valoració de la resposta nassal [Wang, 2004]:

- Puntuació de símptomes clínics mitjançant la puntuació d'esternuts, rinorrea aquosa, pruíja a diferents nivells (nasal, ocular, faríngea, laríngea, òtica), obstrucció nasal.
- Exploració clínica mitjançant la realització d'una rinoscòpia anterior.
- Valoració de les modificacions geomètriques de les fosses nasals mitjançant la realització de rinometria acústica. La rinometria acústica és una tècnica no invasiva que mesura l'àrea transversa mínima i el volum dels primers 2-6 centímetres. Com a criteri de positivitat es va establir un descens de l'àrea transversa mínima del 25% amb una reducció del volum nasal (2-6 centímetres) també del 25%.

5. Altres variables de l'estudi:

Es recollien variables demogràfiques, antropomètriques i clíniques de cada pacient que va participar a l'estudi. En els casos en els que el resultat de la determinació d'IgE específiques utilitzant la micromatriu comercial ISAC® 103 fos negativa, havent-se demostrat sensibilització a l'al·lergen tant per prova cutània intraepidèrmica (*“skin prick-test”*) com mitjançant la determinació d'IgE específica a extractes complets (utilitzant el sistema ImmunoCAP®), es realitzaren assaigs

d'inmunodetecció, tal com s'ha descrit prèviament [Luengo, 2008], per a la detecció d'al·lèrgens nous.

6. Anàlisi de les dades:

L'anàlisi estadístic dels resultats es va fer utilitzant el paquet estadístic SPSS versió 17.0 per Windows. Es realitzà un anàlisi descriptiu per conèixer la distribució de freqüències de les variables, així com l'estructura de la població d'estudi. La descripció de les variables quantitatives s'efectuà mitjançant les mesures de centralització i dispersió d'ús (mitjana i desviació típica). Es compararen diferències entre percentatges de variables qualitatives determinant l'interval de confiança del 95% de la diferència de percentatges objectivats o utilitzant la prova estadística de Khi al quadrat (o prova exacta de Fisher), segons ho requerís cada circumstància. També es realitzaren estudis estadístics inferencials per analitzar les relacions entre les variables d'estudi amb l'aplicació de les proves t d'Student i ANOVA. Per les variables que no seguien una distribució normal s'utilitzaren proves no paramètriques. En tots els casos, el nivell de significació estadística fixat prèviament va ser de $p < 0,05$. Les variables categòriques s'expressaren en percentatges i les quantitatives com medianes i valors límit o mitjanes i desviacions estàndard. Pel càlcul de la sensibilitat i l'especificitat dels diferents mètodes diagnòstics (proves cutànies intraepidèrmiques o "skin prick-test", IgE específiques a extractes complets i a molècules al·lèrgèniques naturals purificades i/o recombinants) s'utilitzaren les corbes ROC. A més a més, es feren els gràfics d'interval de confiança de les molècules al·lèrgèniques recombinants o naturals purificades segons el nivells d'IgE específica als seus corresponents extractes complets.

Capítol II

Pacients, material i mètodes del Capítol II

Disseny de l'estudi:

Estudi observacional prospectiu.

Participants:

Centres participants a l'estudi:

1. Hospital Vall d'Hebron (Barcelona)

Es varen incloure pacients que complissin les següents característiques:

Criteris d'inclusió:

- Pacients que consultessin a Consultes Externes d'Al·lèrgologia Pediàtrica per clínica alimentària (síndrome d'al·lèrgia oral, urticària, angioedema, anafilaxi o clínica gastrointestinal) en els que es demostrés sensibilització a tres o més aliments taxonòmicament diferents (quedant exclosos la sensibilització a llet i ou de manera aïllada) mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques (*"skin prick-test"*). Aquests pacients podien o no també tenir clínica respiratòria (rinitis i/o asma) i/o ocular (conjuntivitis) al·lèrgiques.
- Pacients d'edats compreses entre els 0-18 anys, ambdues edats incloses.
- El malalt o en el seu cas el tutor o representant legal havia d'haver firmat el consentiment informat.

Criteris d'exclusió:

- Haver rebut prèviament immunoteràpia específica enfront pol·len i/o aliments.
- Pacients que presentessin alguna malaltia dermatològica, consum d'algun medicament o qualsevol altra condició que impedís la realització de les proves cutànies intraepidèrmiques o *"skin prick-*

test” per l'estudi *“in vivo”* o l'extracció sanguínia pels estudis *“in vitro”*.

- Pacients que patissin alguna malaltia inflamatòria sistèmica, autoimmunitària o neoplàsica.

Mida de la mostra:

S'estima que el 40% dels pacients que s'atenen a Consultes Externes d'Al·lèrgologia Pediàtrica presenten algun tipus de patologia alimentària. D'aquests entre un 30-65% d'ells presenten proves cutànies intraepidèrmiques positives (*“skin prick-test”*) a tres o més al·lèrgens diferents [Bousquet, 2012]. El nombre total de pacients que calia oscil·lava entre un nombre petit de 75 pacients per estudis de sensibilitat, fins a un nombre de 175 pacients per estudis de perfils de sensibilització amb una precisió estadística del 7% i un nivell de confiança del 95%. Per tant, el nombre total de pacients que es varen incloure a l'estudi va ser de 192 pacients. Es va calcular que aquesta mida mostral proporcionaria la suficient precisió estadística pel càlcul dels objectius proposats.

Aspectes ètics:

Aquest projecte ha estat aprovat pel Comitè d'Ètica de l'Hospital Vall d'Hebron [IRB/PR (AG)39/2014].

Metodologia, variables i mesures:

1. **Realització de proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) a una bateria estàndard d'al·lèrgens d'aliments i d'inhalants [Bousquet, 2012] [Sekerel, 2012].** A tots els pacients visitats a Consultes Externes d'Al·lèrgologia Pediàtrica diagnosticats d'al·lèrgia alimentària (síndrome d'al·lèrgia oral, urticària, angioedema, anafilaxi o clínica gastrointestinal) amb o sense clínica respiratòria (rinitis i/o asma) i/o ocular al·lèrgiques se'ls realitzaren proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) a una bateria estàndard d'al·lèrgens alimentaris (**taula 7**) així com a una bateria estàndard d'inhalants (**taula 8**) que s'inclouen de forma rutinària a l'estudi de la malaltia al·lèrgica pediàtrica alimentària i respiratòria, respectivament. Aquestes bateries inclouen els al·lèrgens a

aliments que es detallen a la **taula 7** i els al·lèrgens ambientals que es detallen a la **taula 8**. També es realitzaren proves cutànies intraepidèrmiques o “*skin prick-test*” mitjançant fosfat d’histamina (10 mg/mL), la qual fou considerada com a control positiu i, mitjançant sèrum fisiològic estèril al 0,9%, el qual fou considerat com a control negatiu. Totes les proves cutànies es realitzaren d’acord amb el procediment estàndard **[Malling, 1993]** a la cara anterior de l’avantbraç amb una llanceta “*Prick Lancettes Dome*” (Hollister-Stier, Spokane, Washington, EUA). S’usà una llanceta estèril per a cada prova cutània. Es va considerar com a resposta positiva una pàpula mitjana de 7 mm de diàmetre o superior a la produïda pel control negatiu 15 minuts després de la punció.

Taula 7. Aliments determinats mitjançant proves cutànies.

**Proves cutànies intraepidèrmiques (“skin prick-test”)
enfrent aliments**

Llegums (cigrons, lleties, faves, pèsols, mongetes, soja)

Cereals (civada, sègol, blat, gluten, arròs, blat de moro)

Mol·luscs (petxines, musclos, cargols)

Cefalòpodes (pop, calamar, sèpia)

Peixos (tonyina, bacallà, lluç, rap, salmó, llenguado, sardina)

Crustacis (gamba)

Anisakis simplex

Ou (clara, rovell, ovomucoide, ovoalbúmina)

Llet (alfa-lactoalbúmina, beta-lactoglobulina, caseïna)

Verdures (espinacs, patata, tomàquet)

Fruita [**fruites cucurbitàcies** (síndria, meló); **fruites rosàcies** (maduixa, poma, prunes, nespres, cireres, pera, préssec, préssec pla); **altres fruites** (cítrics, kiwi, figa, alvocat, pinya, coco, plàtan)]

Fruita seca (castanyes, ametlles, avellanes, festucs, nous, pipes de girasol, cacauet, pinyons)

Carn (xai, pollastre, vedella i porc)

Taula 8. Neumoal·lèrgens determinats mitjançant proves cutànies.

Proves cutànies intraepidèrmiques (“skin prick-test”) enfront al·lèrgens inhalants

Àcars (*Dermatophagoides pteronyssinus* i *Dermatophagoides farinae*)

Epitelis (gos, gat)

Gramínies (*Phleum*, *Cynodon*, *Phragmites*)

Maleses (*Artemisia vulgaris*, *Parietaria judaica*, *Chenopodium album*)

Arbres (*Olea europaea*, *Pinus pinea*, *Platanus acerifolia*, *Cupressus sempervirens*, *Fagus sylvatica*, *Corylus avellana*)

Fongs (*Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*)

Làtex (*Hevea brasiliensis*)

Sulfat d’histamina (control positiu)
Sèrum fisiològic estèril (control negatiu)

- Realització de proves cutànies intraepidèrmiques (“skin prick-test”) a molècules recombinants.** Aquells pacients amb proves cutànies intraepidèrmiques (“skin prick-test”) positives enfront l’extracte complet de l’espora de fong *Alternaria alternata*, se’ls realitzà una prova cutània intraepidèrmica (“skin prick-test”) amb la molècula Alt a 1 (considerat al·lèrgen principal de l’espora de fong d’*Alternaria alternata*).
- Extracció sanguínia de 5,0 mil·lilitres (mL) de sang venosa perifèrica** utilitzant un tub d’extracció Vacutest® amb gel i activador de la coagulació. La mostra de sang es va obtenir per punció venosa i es va deixar coagular durant 30 minuts. Posteriorment, es va centrifugar a 3000 revolucions per minut durant 7 minuts i, finalment, es va distribuir en al·lòtotes, les quals foren codificades i congelades a –20°C fins al moment de l’anàlisi.

4. **SDS-PAGE Immunoblotting i immunoblotting inhibició.** Aquells pacients que presentaren proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) positives enfront l’extracte complet d’*Alternaria alternata* se’ls va realitzar un SDS-PAGE segons el mètode de Laemmli [Laemmli, 1970]. Per apilar i separar les proteïnes es van fer servir gels amb el 4% i el 12,5% d’acrilamida, respectivament. Les mostres foren dissoltes en un tampó que contenia 0,125 mol/L HCl-Tris (pH 6,8) i desnaturalitzades amb 0,1% SDS i 5% 2-β-mercaptoethanol (2ME) a 100 °C durant 5 minuts. D’acord amb la tècnica proposada per Bradford, s’aplicaran 20 µg de sèrum de mostra a cada carril [Bradford, 1976].

Després de l’electroforesi, es va procedir a identificar les proteïnes separades mitjançant la tinció d’un gel control amb 0,1% Coomassie Brilliant Blue R-250 dissolt en metanol / àcid acètic / aigua destil·lada (4:1:5). Les bandes proteiques separades (en un altre gel) foren transferides electroforèticament a una membrana de polifluorur de vinilidè o nitrocel·lulosa, tal com descriuen Towbin i els seus col·laboradors [Towbin, 1979] i, bloquejades durant una hora a temperatura ambient amb 0.1% de Tween-20 i 5% de col·lagen de peix en tampó Tris. A continuació les membranes foren incubades durant tota la nit a 4 °C amb el sèrum dels pacients (dilució 1:2- 1:10), seguit per la incubació amb un anticòs de conill o ratolí anti-IgE humana (dilució 1:2.000- 1:10.000) marcat amb peroxidasa de rave (HRP) i detecció mitjançant un mètode de quimoluminiscència tal com recomana el fabricant (ECL-Plus; Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, Buck, Regne Unit).

Pels assaigs d’immunoblotting inhibició, els sèrums dels pacients varen ser prèviament incubats amb l’al·lergen recombinant d’*Alternaria alternata* Alt a 1 (50 µg/ml) (Diater, Madrid) durant tota la nit a 4°C i, posteriorment es va realitzar l’immunoblot tal i com ja s’ha descrit prèviament.

5. Determinació dels següents paràmetres analítics:

- **IgE total sèrica.**
- **IgE específiques** a les fonts al·lèrgiques completes que van ser positives mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques o “*skin prick-test*” determinades amb el sistema ImmunoCAP® (Phadia-Thermo-Fisher). Per a la seva determinació se segueixen les instruccions del fabricant, realitzant-se el procediment habitual de cada consulta. Els resultats de les determinacions s’expressaran en KU/l tal com assenyalen les instruccions del fabricant. Aquells resultats d’IgE específiques (ImmunoCAP®) > 0,35 KU/l es consideraren positius.
- **IgE específiques enfront molècules al·lèrgiques recombinants i/o naturals purificades** utilitzant la micromatriu comercial ImmunoCAP ISAC® 112 (Immuno Solid-Phase Allergen Chip, BVC-GENOMICS, Viena, Austria). Els resultats obtinguts s’expressaren en Unitats Estandarditzades d’ISAC (ISU) [Ott, 2008] [Sastre, 2010] [Eller, 2013]. Es consideraren resultats indetectables aquells < 0,3 ISU i positius aquells ≥ 0,3 ISU. A la vegada els resultats positius foren subclassificats en resultats positius baixos, que foren aquells resultats amb valors compresos entre 0,3 i 0,9 ISU; valors positius moderats-alts, que foren aquells resultats amb valors compresos entre 1 i 14,9 ISU i, valors positius molt alts, que foren aquells resultats amb valors ≥ 15 ISU. Seguint les instruccions del fabricant, els llocs de reacció del bioxip s’incubaren amb 10 µL de sèrum dels pacients al·lèrgics durant 2 hores a temperatura ambient i, després de realitzar diversos rentats amb tampó TBS-T (clorur de sodi 150 MM, Tris base 10 MM, i Tween 20 0,5%, pH 8,0) durant mitja hora, s’incubaren amb anticòs anti-IgE humà marcat amb el fluoròfor Cy3 durant una altra hora. A continuació es va escanejar el bioxip a l’ScanArray GX Microarray Scanner (Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, USA) i, l’anàlisi final es va realitzar amb un

programa informàtic automatitzat. El programa determina la posició de la senyal fluorescent respecte a l'al·lergen i respecte al lloc que es troba en cada espai de reacció de l'ISAC® i, calcula una corba de calibratge mitjançant el calibratge del sèrum analitzat a cadascun dels quatre llocs. Amb aquesta corba, les intensitats fluorescents es transformen en concentracions d'IgE específica (kU/l). Cada bioxip contenia quatre espais individuals amb 112 al·lèrgens naturals purificats i/o recombinants. En total es necessitaren 48 bioxips per les 192 mostres de sèrum. Les mostres obtingudes foren analitzades al laboratori d'aplicacions d'Al·lergologia Molecular de l'Institut de Recerca de l'Hospital Universitari de la Vall d'Hebron (Barcelona). Els 112 al·lèrgens que es determinaren es detallen a la **taula 9**.

Taula 9. Al·lèrgens presents a la micromatriu ISAC® 112.

Molècules
Act d 1, Act d 2, Act d 5, Act d 8
Aln g 1
Alt a 1, Alt a 6
Amb a 1
Ana o 2
Ani s 1, Ani s 3
Api g 1
Api m 1, Api m 4
Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 6, Ara h 8, Ara h 9
Art v 1, Art v 3
Asp f 1, Asp f 3, Asp f 6
Ber e 1
Bet v 1, Bet v 2, Bet v 4
Bla g 1, Bla g 2, Bla g 5, Bla g 7
Blo t 5
Bos d 4, Bos d 5, Bos d 6, Bos d 8, Bos d lactoferrina
Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 5
Che a 1
Cla h 8
Cor a 1.0101, Cor a 1.0401, Cor a 8, Cor a 9
Cry j 1
Cup a 1
Cyn d 1
Der f 1, Der f 2
Der p 1, Der p 2, Der p 10
Equ c 1, Equ c 3
Fag e 2
Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4
Gad c 1
Gal d 1, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 5
Gly m 4, Gly m 5, Gly m 6
Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5, Hev b 6.01, Hev b 8
Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3
Lep d 2
Mal d 1
Mer a 1
Mus m 1
MUXF3
Ole e 1, Ole e 7, Ole e 9
Par j 2
Pen m 1, Pen m 2, Pen m 4
Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 7, Phl p 11, Phl p 12
Pla a 1, Pla a 2, Pla a 3
Pla l 1
Pol d 5
Pru p 1, Pru p 3
Sal k 1
Ses i 1
Tri a 14, Tri a 19.0101, Tri a aA TI
Ves v 5

6. Prova d'exposició oral controlada a aliments:

Aquesta prova es va realitzar a tots aquells pacients inclosos a l'estudi que complien els criteris d'inclusió i les condicions per realitzar-la i que no complien cap criteri d'exclusió.

Es va realitzar en els següents casos:

1. La relació causa-efecte podia resultar equívoca.
2. Els símptomes de la reacció no eren clars i objectivables.
3. La IgE específica (ImmunoCAP® i/o ISAC® 112) era negativa.
4. El pacient estava sensibilitzat a un aliment, però, es desconeixia la seva tolerància.
5. Els tutors i els pacients (si eren ≥ 12 anys) havien d'haver firmat el consentiment informat per tal de realitzar la prova d'exposició oral controlada.

L'exposició oral controlada estava contraindicada si el pacient havia presentat reaccions greus (anafilaxi), repetides i/o inequívokes accidentals per l'aliment al qual estava essent avaluat.

Condicions per realitzar la prova d'exposició oral controlada:

Per a la realització de la prova de tolerància o provocació oberta se segueixen les normes establertes pel Comitè de reaccions al·lèrgiques a aliments de la "Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica" (SEAIC) [SEAIC, 1999] que es resumeixen a continuació:

- El pacient havia de trobar-se asimptomàtic en el moment de realitzar la prova.
- Havia de presentar un bon control de les lesions de dermatitis atòpica (si en tenia).
- Els pacients amb asma havien de trobar-se amb un bon control d'aquest (FEV1 > 80% o flux espiratori màxim dins dels valors normals pel pacient rebent la seva medicació habitual).

- El pacient havia de suspendre el tractament antihistamínic i/o qualsevol tractament sistèmic que pogués interferir amb els resultats de la prova, com a mínim 7 dies abans de la seva realització.
- El pacient no podia haver rebut cap tipus d'immunoteràpia els 7 dies previs de realitzar la prova d'exposició oral controlada.
- El pacient havia d'estar absent d'infeccions o altres malalties intercurrents actives en el moment i els set dies previs de realitzar la prova d'exposició oral controlada.
- La prova d'exposició oral controlada es realitzava sempre a l'hospital, sota supervisió mèdica i amb personal d'infermeria entrenat. En tot moment el pacient estava monitoritzat i es disposaven de tots els medis necessaris per controlar qualsevol reacció al·lèrgica que es produís.
- Les hores posteriors a la prova el pacient no realitzava exercici físic i evitava prendre cap tipus de fàrmac antiinflamatori.
- Si s'havia de fer la prova d'exposició oral a més d'un aliment, aquesta es feia en un dia diferent per cada aliment. En total s'administraren entre tres i cinc dosis de l'aliment (en funció de l'edat i del pes del pacient i del tipus d'aliment) amb intervals de trenta minuts entre cada una d'elles.
- Si el pacient complia algun dels criteris de positivitat de la prova d'exposició, aquesta s'aturava i s'iniciava el tractament necessari per la correcta recuperació del pacient.

Criteris de positivitat de la prova d'exposició oral controlada:

La prova es considerava positiva si apareixia com a mínim un dels següents símptomes:

- Síntomes objectius:
 1. Urticària i/o angioedema.
 2. Síntomes bronquials (tos, sibilants, broncoespasme) i/o descens en el registre del flux espiratori màxim.
 3. Síntomes gastrointestinals (vòmits, diarrea amb dolor abdominal).
 4. Síncope (disminució de la pressió arterial).
- Síntomes subjectius que persistien més de 45 minuts:
 1. Dolor abdominal sense altres símptomes gastrointestinals.

2. Pruija oral sense enantema ni angioedema.
3. Dispnea sense disminució del flux espiratori màxim amb auscultació respiratòria normal.

7. Altres variables de l'estudi:

Es recolliren variables demogràfiques, antropomètriques i clíniques de cada pacient que participava a l'estudi.

8. Anàlisi estadístic:

L'anàlisi estadístic dels resultats es va fer utilitzant el paquet estadístic SPSS versió 22.0 per Windows. Es va realitzar un anàlisi descriptiu per conèixer la distribució de freqüències de les variables, així com l'estructura de la població d'estudi. Es va realitzar un estudi bivariant agafant, per una banda les variables clíniques i, per l'altre, els diferents procediments de diagnòstic al·lèrgològic (proves cutànies intraepidèrmiques o "skin prick-test" i IgE específiques a extractes complets i a molècules al·lèrgèniques recombinants o naturals purificades). Totes les nostres variables eren categòriques i per aquest motiu, els resum de dades es presentaren en percentatges. A més a més, es feren els gràfics d'interval de confiança de les molècules al·lèrgèniques segons el nivells d'IgE específica als seus corresponents extractes complets. També es realitzaren estudis estadístics inferencials per analitzar les relacions entre les variables d'estudi mitjançant l'aplicació d'una regressió logística. Per a valorar la regressió logística es va utilitzar l'*odds ratio*.

Capítol I

Resultats i Discussió del Capítol I

Característiques clíniques i demogràfiques de la població d'estudi.

A la **taula 10** es resumeixen les característiques clíniques i demogràfiques de la població d'estudi que recordem que inclou a 76 pacients adults de la regió geogràfica de Barcelona i 80 pacients també adults de la regió central d'Itàlia (Roma). Ambdós grups de pacients inclouen població amb el diagnòstic establert de rinitis i/o asma d'etiologia al·lèrgiques sensibilitzats mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) a tres o més grups d'al·lèrgens ambientals taxonòmicament diferents.

No es varen observar diferències estadísticament significatives en el perfil clínic dels pacients amb rinitis o asma segons els al·lèrgens als quals estaven sensibilitzats els nostres individus d'estudi en cap dels mètodes diagnòstics utilitzats [proves intraepidèrmiques o *“skin prick-test”*, determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® (Phadia) o la micromatriu comercial ISAC® de 103 molècules (Phadia)]. A la **taula 11** es resumeixen les freqüències pol·líniques de la població d'estudi corresponent a pacients adults de la regió geogràfica de Barcelona.

No es varen observar diferències estadísticament significatives en el perfil clínic dels pacients amb rinitis o asma segons els al·lèrgens als quals estaven sensibilitzats els nostres individus d'estudi en cap dels mètodes diagnòstics utilitzats [proves intraepidèrmiques o *“skin prick-test”*, determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® (Phadia) o la micromatriu comercial ISAC® de 103 molècules (Phadia)]

Taula 10. Característiques demogràfiques i clíniques de la població d'estudi.

	Nombre de Pacients Barcelona	Percentatge (%)	Nombre de pacients Roma	Percentatge (%)
Total	76	100	100	100
Edat, anys				
• 18-50	69 (31±9)	90,8	72 (26±8)	90
• >50	7 (57±5)	9,2	8 (61±4)	10
Sexe				
• Femení	44	58	48	60
• Masculí	32	42	32	40
Antecedents familiars d'atòpia				
• Sí	37	48,7	39	48,7
• No	39	51,3	41	51,3
Rinoconjuntivitis al·lèrgica	76	100	70	87,5
• Intermitent lleu	37	48,7		
• Intermitent moderada-greu	4	5,3		
• Persistent lleu	8	10,5		
• Persistent moderada-greu	27	35,5		
Asma al·lèrgic	34	44,8	41	51,2
• Intermitent lleu	24	31,6		
• Persistent lleu	4	5,3		
• Persistent moderat	6	7,9		
• Persistent greu	0	0		
Altres atòpiques	50	65,8	46	57,5
• Al·lèrgia alimentària	36	47,3	20	25,0
• Dermatitis atòpica	21	27,6	10	12,5
• Al·lèrgia medicaments	1	1,3	2	2,5

Taula 11. Principals freqüències pol·líniques de la població de l'àrea de Barcelona.

Font pol·línica [Total pacients (n=76)]	“Skin prick-test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 103, % i nombre de pacients)
Poaceae			
• Gramínies (<i>Dactylis, Festuca, Lolium, Phleum i Poa</i>)	65,8 (n=50)	84 (n=42)	Phl p 1→ 84 (n=42) Phl p 2→ 32 (n=16) Phl p 4→ 40 (n=20) Phl p 5→ 36 (n=18) Phl p 6→ 22 (n=11) Phl p 7→ 14 (n=7) Phl p 11→ 6 (n=3) Phl p 12→ 18 (n=9)
• <i>Cynodon dactylon</i>	44,7 (n=34)	No realitzat	Cyn d 1→ 97 (n=33)
• <i>Phragmites communis</i>	31,6 (n=24)	95,8 (n=23)	
Platanus acerifolia	61,8 (n=47)	83 (n=39)	Pla a 1→ 29,8 (n=14) Pla a 2→ 38,3 (n=18)
Olea europaea	57,9 (n=44)	79,5 (n=35)	Ole e 1→ 75 (n=33) Ole e 2→ 20,5 (n=9)
Artemisia vulgaris	46 (n=35)	74,3 (n=26)	Art v 1→ 17,1 (n=6) Art v 3→ 45,7 (n=16)
Parietaria judaica	38,2 (n=29)	93,1 (n=27)	Par j 2→ 86,2 (n=25)
Cupressus arizonica	26,3 (n=20)	70 (n=14)	Cry j 1→ 70 (n=14) Cup a 1→ 80 (n=16)
Mercurialis annua	26,3 (n=20)	No realitzat	Mer a 1→ 11,8 (n=9)

Pol·len de gramínies

L'al·lèrgia al pol·len de gramínies té una distribució mundial. A algunes regions, la sensibilització al pol·len de gramínies es pot objectivar en el 40% dels pacients atòpics [Andersson, 2003] [Barber, 2008] [Hatzler, 2012].

A la nostra població d'estudi trobem que la sensibilització al pol·len de gramínies és la primera en freqüència, tal com s'ha descrit prèviament en altres sèries [Panzner, 2014]. La molècula Phl p 1 és la que explicaria un major nombre de pacients positius a aquesta en els que també s'ha demostrat sensibilització mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques o “*skin prick-test*” al grup gramínies o IgE específica positiva a alguna gramínia dels gèneres *Dactylis*, *Festuca*, *Lolium*, *Phleum* o *Poa* de la família de les poàcies ja que marcaria fins a un 84% de positivitat.

Aquests resultats es troben parcialment en concordança amb els de la majoria de treballs publicats fins ara en els que es demostra que els al·lèrgens del grup 1 i del grup 5 (Phl p 1 i Phl p 5) són els principals al·lèrgens del pol·len de gramínies [Andersson, 2003] [Sekerkovala, 2012] [Tripodi, 2012]. A la nostra població d'estudi trobem una elevada prevalença de pacients que mostren positivitat enfront Phl p 1 (primera en freqüència amb un percentatge de positivitat del 84%), però, no tant enfront Phl p 5 (tercera en freqüència amb un percentatge de positivitat del 36%, per darrera de l'al·lèrgen Phl p 1 i Phl p 4).

L'especificitat de la molècula Phl p 1 a la nostra població d'estudi és del 87,5% i la sensibilitat del 90,5% respecte la IgE específica a l'extracte complet. Si per contra, avaluem la sensibilitat i l'especificitat de la molècula Phl p 1 respecte el diagnòstic al·lèrgològic convencional mitjançant proves intraepidèrmiques o “*skin prick-test*” enfront gramínies, es troba una sensibilitat i especificitat del 77,8% i 95,4%, respectivament.

Durant l'any 2011 es varen publicar quatre estudis que estarien en concordança amb els nostres resultats. El primer treball va ser el publicat per Gadisseur R. i els seus col·laboradors els quals troben una concordança entre la determinació d'IgE específica enfront l'extracte complet de gramínies i les

molècules de *Phleum pratense* del 88,9% pel Phl p 1 i Phl p 5, del 92,3% pel Phl p 2, del 83,3% pel Phl p 4, del 75% pel Phl p 6, del 40% pel Phl p 7, del 81,8% pel Phl p 11 i del 62,5% pel Phl p 12 **[Gadisseur, 2011]**. Aquests resultats, per tant, estarien en concordança amb els trobats a la nostra població d'estudi ja que veiem que la molècula Phl p 7 seria la que presentaria una pitjor concordança amb el diagnòstic al·lergològic convencional mitjançant la determinació d'IgE específiques enfront l'extracte comercial de gramínies.

Uns mesos després, Lisazo MT. i els seus col·laboradors van demostrar també una bona correlació entre l'al·lergen Phl p 1 (present a la micromatriu comercial ISAC® 89) i els sistemes ImmunoCAP® enfront l'extracte complet de gramínies i ADVIA-CENTAUR ($r=0,845$, $p<0,01$) **[Lizaso, 2011]**.

Posteriorment, Melioli G. i els seus col·laboradors publiquen un treball en el que troben un percentatge de concordança (entre ISAC® i determinació d'IgE específiques enfront l'extracte complet de gramínies) del 96% pels resultats negatius i del 87% pels resultats positius (prenent com a punt de tall per a la determinació d'IgE específiques el valor de 0,1 KU/L). Aquest valor, però, augmentava a un 100% si el punt de tall de valors positius enfront l'IgE específica de gramínies s'aumentava a 1 KU/L **[Melioli, 2011]**.

Cabrera-Freitag P. i el seu equip publiquen un estudi en el que demostren que el diagnòstic molecular mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103 té una sensibilitat del 97,7% i una especificitat del 92,3% **[Cabrera-Freitag, 2011]**.

Resultats similars foren els que trobaren l'equip de Wöhrl S. I els seus col·laboradors uns anys abans en comparar la micromatriu comercial ISAC® 50 i el sistema ImmunoCAP® enfront l'extracte complet de gramínies. Aquests autors conclouen que la suma de les molècules Phl p 1 + Phl p 2 + Phl p 5 + Phl p 6 + Phl p 7 tenien una sensibilitat del 89,4% i una especificitat del 90,4%. Per contra, si s'utilitzava el sistema ImmunoCAP® enfront l'extracte complet de gramínies s'objectivava una sensibilitat del 87,2% amb la mateixa especificitat que per la suma de les molècules de *Phleum pratense* (90,4%), trobant-se per

tant una millor sensibilitat mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 50. **[Wöhrl, 2006]**.

Un altre interessant treball per comparar és el publicat per Jahn-Schmid B. i els seus col·laboradors fa ja més d'una dècada. En aquest estudi els autors troben una bona correlació entre la suma de les molècules Phl p 1 + Phl p 2 + Phl p 5 + Phl p 6 i el sistema ImmunoCAP® enfront l'extracte complet de gramínies ($r=0,994$, $p<0,01$) així com enfront l'ELISA ($r=0,917$, $p<0,01$) pel que fa a la sensibilitat. Respecte a l'especificitat, la correlació també és molt bona tant comparant la suma de les quatre molècules Phl p 1 + Phl p 2 + Phl p 5 + Phl p 6 amb el sistema ImmunoCAP® enfront l'extracte complet de gramínies ($r=0,914$, $p<0,01$) com enfront l'ELISA ($r=0,937$, $p<0,01$) **[Jahn-Schmid, 2003]**.

Per altra banda, destacar que a totes les sèries presentades, el percentatge de sensibilització a les molècules que marcarien reactivitat encreuada Phl p 12 (profilina) i Phl p 7 (polcalcina) és baix [Phl p 7 (0-11,6%) i Phl p 12 (14-35,1%)] **(taula 12) [Rossi, 2001] [Mari, 2003] [Cabrera-Freitag, 2011] [Bokanovic, 2013] [Moreira, 2015]**.

A la nostra població d'estudi de l'àrea geogràfica de Barcelona es varen trobar correlacions positives altes estadísticament significatives entre la sensibilització a la molècula Phl p 12 (profilina) i la resta de profilines presents a la micromatriu comercial ISAC® 103: Mer a 1 ($r=0,883$, $p<0,001$), Ole e 2 ($r=0,812$, $p<0,001$), Hev b 8 ($r=0,897$, $p<0,001$) i, Bet v 2 ($r=0,885$, $p<0,001$), així com entre les molècules polcalcines Phl p 7 i Bet v 4 ($r=0,987$, $p=0,001$).

Tal com s'ha descrit en altres sèries publicades fins al moment, destacar també que es troba una correlació positiva estadísticament significativa, tot i que moderada, entre la sensibilització a la molècula Phl p 11 i la molècula Ole e 1 ($r=0,550$, $p=0,01$). Tanmateix, cal tenir en compte que fins ara s'han descrit treballs en els que altres autors no troben cap tipus de correlació estadísticament significatives entre aquestes ambdues molècules **[Asero, 2011a]**.

Taula 12. Percentatge de positivitat de les diferents molècules de gramínies segons diferents autors.

Molècula	Garriga (%)	Cabrera Freitag (%)	Bokanovic (%)	Rossi (%)	Mari (%)	Moreira (%)
Phl p 1	60,5	79,1	67,0	93,5	83,0	95,0
Phl p 2	22,4	62,8	43,0	67,5	55,0	76,0
Phl p4	30,3	79,1	22,0	88,3	70,0	64,0
Phl p 5	26,3	69,8	51,0	72,7	50,0	82,0
Phl p 6	17,1	58,1	35,0	68,8	44,0	45,0
Phl p 7	9,2	11,6	4,0	7,8	7,0	0,0
Phl p11	3,9	20,9	12,0	53,2	43,0	18,0
Phl p 12	11,8	25,6	14,0	35,1	15,0	18,0

Fent una revisió de la literatura, trobem que la sensibilització als al·lèrgens de reactivitat encreuada polcalcina i profilina apareix en < 20 % dels pacients al·lèrgics a gramínies [Andersson, 2003] [Hauser, 2010] [Tripodi, 2012]. Destacar que, a més a més, a la nostra població d'estudi Phl p 7 no mostra correlació estadísticament significativa amb cap de la resta d'al·lèrgens de *Phleum pratense* presents a la micromatriu comercial ISAC® 103, el que indica que aquesta sensibilització a polcalcina prové d'una altre font pol·línica.

Per altra banda, sí que trobem una correlació estadísticament significativa entre la molècula Phl p 1 i totes les altres molècules de *Phleum pratense* presents a la micromatriu comercial ISAC® 103 excepte pel Phl p 7 (polcalcina). Remarcar també que així com altres autors han descrit prèviament, trobem una correlació estadísticament significativa entre les molècules Phl p 5 i Phl p 6 ($r=0,627$, $p<0,001$), fet que argumentaria la possible reactivitat encreuada entre aquestes dues molècules. Phl p 6, però, és un al·lèrgen principal del pol·len de *Phleum pratense* limitat a unes poques espècies de gramínies. Per tant, a diferència del que hem vist amb Phl p 1 i Phl p 5, Phl p 6 no seria útil com a marcador general de sensibilització a gramínies [Moreira, 2015].

Subfamília Chloridoideae (pol·len de *Cynodon dactylon*) y Subfamília Arundinoideae (pol·len de *Phragmites communis*)

Els resultats de la **taula 11** són bastant similars als trobats per altres autors **[Feliu, 2013] [Gaspar-López, 2014]**. Tot i que a la literatura s'ha descrit que *Cynodon* i *Phragmites* presenten reactivitat encreuada limitada enfront *Phleum* (com a representant de les gramínies del grup de les poàcies), a la nostra sèrie sí que hem observat una correlació estadísticament significativa entre Phl p 1 i Cyn d 1 i entre Phl p 1 i determinació d'IgE específica a *Phragmites*. Aquestes dades estarien en concordança amb els d'altres treballs publicats durant els últims anys en els què també troben reactivitat encreuada entre la molècula Cyn d 1 i l'al·lergen Phl p 1 **[Rossi, 2008] [Johansen, 2009] [Nony, 2015]**, si bé, existiria certa controvèrsia encara ja que altres treballs han trobat una baixa reactivitat encreuada entre el pol·len del gènere *Cynodon dactylon* i les gramínies de la subfamília *Pooideae* **[Van Ree, 1992] [Duffort, 2008]**.

No es varen trobar associacions estadísticament significatives entre la sensibilització al pol·len de *Cynodon* i *Phragmites* i la sensibilització a les famílies de reactivitat encreuada polcalcina ni proteïnes transferidores de lípids, però, sí amb totes les molècules marcadores de reactivitat encreuada enfront profilines (Bet v 2, Hev b 8, Ole e 2, Mer a 1 i Phl p 12).

Pel que fa a l'estudi comparatiu amb la població de la regió central d'Itàlia (Roma), només es van trobar diferències estadísticament significatives amb la molècula Phl p 11 (positivitat menor a la nostra regió geogràfica) (**taula 13**). Els resultats trobats a la població d'estudi de l'àrea central d'Itàlia (Roma), concorden amb els publicats fins ara per altres autors. **[Cabrera-Freitag, 2011] [Bokanovic, 2013] [Moreira, 2015]**. Per tant, podem considerar que la població d'estudi de la nostra àrea geogràfica (Barcelona) és fins al moment la que presenta un percentatge menor de sensibilització a la molècula Phl p 11.

Taula 13. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de pol·len de gramínies de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Cyn d 1	53,7 (n=43)	44,7 (n=34)	Ns
Phl p 1	60 (n=48)	60,5 (n=46)	Ns
Phl p 2	25 (n=20)	22,4 (n=17)	Ns
Phl p 4	42,5 (n=34)	30,3 (n=23)	Ns
Phl p 5	32,5 (n=26)	26,3 (n=20)	Ns
Phl p 6	25 (n=20)	17,1 (n=13)	Ns
Phl p 7	2,5 (n=2)	9,2 (n=7)	Ns
Phl p 11	22,5 (n=18)	3,9 (n=3)	p=0,001
Phl p 12	21,2 (n=17)	11,8 (n=9)	Ns

ns=no significació

Pol·len de plataner

Els resultats de la **taula 11** ens demostren que tant la molècula Pla a 1 com la molècula Pla a 2 tenen pocs resultats positius ja que cap de les dues molècules supera el 40% de positius respecte les proves intraepidèrmiques o “*skin prick-test*”.

Per altra banda, si avaluem la sensibilitat i l'especificitat de les molècules Pla a 1 i Pla a 2 respecte el diagnòstic al·lèrgològic convencional mitjançant proves intraepidèrmiques o “*skin prick-test*” enfront plataner, s'objectiva una sensibilitat i especificitat del 24,6% i 97,6%, respectivament.

Malgrat que alguns estudis han remarcat la importància dels al·lèrgens Pla a 1 i Pla a 2 com al·lèrgens principals en l'al·lèrgia al pol·len de plataner [Asturias, 2002] [Asturias, 2003b], els resultats trobats per nosaltres suggereixen que les molècules Pla a 1 i Pla a 2 no són suficients pel diagnòstic de sensibilització al plataner a la nostra població d'estudi, bàsicament degut a la seva baixa sensibilitat (24,6%). Aquest possiblement sigui en punt més important a remarcar.

Lauer I. i els seus col·laboradors, l'any 2007, caracteritzaren l'al·lergen de plataner Pla a 3 en una població de l'àrea Mediterrània. Aquest va ser considerat com un al·lergen minoritari que apareixia en el 27,3% del pacients no al·lèrgics a aliments i com a al·lergen principal en els pacients al·lèrgics al plataner i amb al·lèrgia concomitant al préssec amb una prevalença de reactivitat encreuada del 63,8% [Lauer, 2007].

De la poca bibliografia que trobem publicada fent referència al diagnòstic molecular per components en l'al·lèrgia al pol·len de plataner, destaquem també el treball publicat per Asturias JA. i els col·laboradors [Asturias, 2006], els quals conclouen que les molècules Pla a 1 i Pla a 2 serien suficients pel diagnòstic al·lergològic enfront *Platanus acerifolia* en la majoria dels pacients generant resultats comparables al de les proves cutànies intraepidèrmiques o "skin prick-test" amb l'extracte complet de plataner. Aquests autors troben una sensibilitat enfront Pla a 1 + Pla a 2 del 100% en pacients monosensibilitzats i del 87,5% pels pacients polisensibilitzats sense detectar-se cap pacient amb un resultat fals positiu. Tanmateix, aquests resultats, no es troben en absolut en concordança amb els trobats a la nostra població d'estudi.

D'aquesta manera, en adonar-nos que per la nostra població d'estudi les molècules Pla a 1 i Pla a 2 eren insuficients pel diagnòstic de sensibilització al pol·len de plataner, prenent com a referència el treball realitzat per Lauer I. i els seus col·laboradors [Lauer, 2007], ens vam plantejar determinar altres possibles al·lèrgens que poguessin explicar la sensibilització al pol·len de plataner a la nostra població d'estudi de l'àrea Mediterrània. Tenint en compte, doncs, el treball de Lauer I. i els seus col·laboradors així com l'elevada prevalença de sensibilització a la proteïna LTP de la nostra àrea geogràfica d'estudi, vam partir de la hipòtesi que, possiblement, els nostres pacients sensibilitzats al pol·len de plataner mitjançant el diagnòstic al·lergològic convencional, però, amb diagnòstic al·lergològic molecular enfront les molècules Pla a 1 i Pla a 2 negatiu, podrien estar sensibilitzats a la molècula Pla a 3 (LTP del plataner) [Scala, 2015]. Efectivament, els resultats que vàrem obtenir varen ser que el 81.8% (n=18) dels nostres pacients sensibilitzats a plataner mitjançant el diagnòstic al·lergològic convencional (proves cutànies

intraepidèrmiques o “*skin prick-test*” i determinació d'IgE específica enfront l'extracte complet de *Platanus acerifolia*) i amb estudi al·lèrgològic molecular negatiu enfront Pla a 1 i Pla a 2, reconeixien la molècula Pla a 3. No obstant, caldria veure la rellevància clínica de la sensibilització a Pla a 3 (LTP) per la coneguda reactivitat encreuada amb altres molècules de la mateixa família LTP, ja que, el criteri d'inclusió dels nostres malalts, recordem que era sensibilització a tres o més espècies botàniques diferents, objectivant-se sensibilització a la molècula Pru p 3 en un 73,1% del casos.

Respecte a l'estudi comparatiu dels pacients de la nostra regió geogràfica amb els de la regió central d'Itàlia, trobem diferències estadísticament significatives en el patró de sensibilització per la molècula Pla a 1 (major sensibilització a la nostra àrea geogràfica), però, no trobem diferències estadísticament significatives en analitzar la molècula Pla a 2 (**taula 14**).

Taula 14. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de pol·len de plataner de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Pla a 1	5 (n=4)	18,4 (n=14)	p=0,008
Pla a 2	33,7 (n=27)	30,2 (n=23)	ns

ns=no significació

Pol·len d'olivera

A la nostra població d'estudi, en pacients polisensibilitzats, el pol·len de olivera és la tercera sensibilització pol·línica més freqüent per darrera del pol·len de gramínies i de plataner. La sensibilització front el pol·len d'olivera acostuma a oscil·lar entre el 5 i el 40% a les zones on hi ha més oliveres. **[Quiralte, 2007]** **[Barber, 2008]**. Aquesta freqüència està en concordança amb els dades que diferents autors han anat publicant durant els últims anys, **[Lombardero, 1992]** **[Quiralte, 2007]** **[Belver, 2009]**. A més a més, destacar que la sensibilització a Ole e 1 (proteïna inhibidora de la tripsina) de l'olivera és també una de les més prevalents a la nostra població d'estudi podent-se utilitzar com a marcador de sensibilització a altres oleàcies: pòl·lens de freixe

(Fra e 1), aligustre (Lig v 1) o olivereta i pol·len de lilà (Syr v 1), **[Rodríguez, 2007] [Rodríguez, 2007] [García, 2011a]**.

Per altra banda, trobem una correlació estadísticament significativa entre la sensibilització a la molècula Ole e 2 (profilina) i la resta de profilines presents a la micromatriu comercial ISAC® 103: Mer a 1, Phl p 12, Hev b 8 i Bet v 2. I, tal com s'ha descrit en altres sèries publicades fins al moment, destacar que també trobem una correlació positiva estadísticament significativa, tot i que moderada, entre la sensibilització a la molècula Phl p 11 i la molècula Ole e 1 ($r=0,550$, $p=0,01$). Tanmateix, s'han descrit treballs en els que altres autors no troben cap tipus de correlació estadísticament significatives entre aquestes ambdues molècules **[Asero, 2011a]**.

Quiralte J. i col·laboradors, però, van anar més enllà i van trobar que sobretot en aquelles zones d'elevada exposició a olivera, els pacients presentaven una resposta complexa d'anticossos IgE específics enfront a diferents al·lèrgens d'*Olea europaea*. Aquesta resposta incloïa tres o més al·lèrgens d'olivera en el 75% dels casos. Els al·lèrgens majoritaris foren Ole e 1, Ole e 2 (profilina), Ole e 7 (proteïna transferidora de lípids), Ole e 9 (1,3-beta-glucanasa) i Ole e 10 (proteïna amb domini X8). A més a més, aquests autors trobaren que l'existència de l'antigen HLA-DR2 **[Ledesma, 2000]** determinava un major risc de sensibilització a Ole e 10, així com una major tendència al desenvolupament d'asma greu, que augmentava si a més a més coexistia amb una IgE específica anti-profilina. Per contra, la sensibilització a Ole e 7 s'associà de manera significativa amb l'al·lèrgia a fruites manifestada en forma d'anafilaxi **[Quiralte, 2007]**. Una de les limitacions de la micromatriu comercial ISAC® 103 és que només conté els al·lèrgens Ole e 1 i Ole e 2, pel que no es poden determinar la resta d'al·lèrgens majoritaris de l'olivera com ara Ole e 7 (associat a asma greu en pacients amb elevada exposició al pol·len d'olivera i amb reactivitat encreuada limitada amb altres LTP), Ole e 9 (associat també a patologia al·lèrgica respiratòria greu **[Barber, 2008]** o Ole e 10 (associat a l'al·lèrgia a fruites manifestada en forma d'anafilaxi). Finalment, Ole e 6, Ole e 9 i Ole e 10 podrien usar-se per detectar sensibilitzacions a al·lèrgens minoritaris que

podrien passar desapercebuta a l'extracte complet del pol·len d'olivera. **[Rodríguez, 2007].**

Un altre interessant treball a tenir en compte és el que van publicar Quiralte J. i els seus col·laboradors farà ja una dècada. En aquest estudi es va demostrar que els al·lèrgens Ole e 2 i Ole e 10 s'associaven a asma i que aquells pacients que mostraven sensibilització als dos al·lèrgens de manera simultània tenien major risc de patir asma (OR 4,3; p=0,002). **[Quiralte, 2005].**

Per altra banda, si avaluem l'especificitat i la sensibilitat de la molècula Ole e 1 respecte el diagnòstic al·lèrgològic convencional utilitzant la determinació d'IgE específica enfront *Olea europaea*, s'objectiva una especificitat de la molècula Ole e 1 del 55,6% i una sensibilitat del 82,9%. Si per contra, avaluem la sensibilitat i l'especificitat de la molècula Ole e 1 respecte el diagnòstic al·lèrgològic convencional mitjançant proves intraepidèrmiques o “prick-test” enfront olivera, es troba una sensibilitat i especificitat del 64% i 83%, respectivament

Aquests resultats suggereixen que la molècula Ole e 1 té una millor especificitat si es compara amb la prova intraepidèrmica o “skin prick-test” respecte la determinació d'IgE específica i una millor sensibilitat si es compara amb la determinació d'IgE específica respecte la prova intraepidèrmica o “skin prick-test”. Lisazo MT. i col·laboradors van demostrar que la combinació dels al·lèrgens Ole e 1 i Ole e 2 diagnosticaven millor la sensibilització al pol·len d'olivera que els mètodes diagnòstics convencionals (proves intraepidèrmiques o “skin prick-test” enfront olivera i la determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® a l'extracte complet d'olivera) **[Lizaso, 2011].**

Melioli G. i col·laboradors trobaren un percentatge de concordança (entre ISAC® i determinació d'IgE específiques enfront l'extracte complet d'olivera) pel que fa a resultats negatius del 99% amb un percentatge de concordança respecte als resultats positius del 55%. Aquest valor, però, augmentava a un 81% si el punt de tall de valors positius front l'IgE específica d'olivera s'aumentava a 1 KU/L (valor ja en concordança amb els resultats de la nostra

població d'estudi) [Melioli, 2011]. Resultats similars serien els publicats per Gadisseur R. el mateix any, el qual trobaria una concordança entre la determinació d'IgE específica enfront l'extracte complet d'olivera i la molècula Ole e 1 del 84,2% [Gadisseur, 2011].

Respecte a l'estudi comparatiu dels pacients de la nostra regió geogràfica amb els de la regió central d'Itàlia, trobem diferències estadísticament significatives en el patró de sensibilització per la molècula Ole e 2 (major sensibilització a la regió central d'Itàlia), però, no trobem diferències estadísticament significatives en analitzar l'al·lergen principal d'olivera Ole e 1 (taula 15).

Taula 15. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de pol·len d'olivera de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Ole e 1	58,7 (n=47)	52,6 (n=40)	ns
Ole e 2	30 (n=24)	11,8 (n=9)	p=0,005

ns=no significativa

Pol·len d'asteràcies (*Asteraceae*)

Pol·len d'artemísia

Els resultats de la taula 11 demostren que tant la molècula Art v 1 com la molècula Art v 3 tenen pocs resultats positius ja que cap de les dues molècules supera el 50% de positius respecte les proves intraepidèrmiques o "prick-test" (sobretot si ens referim a la molècula Art v 1 en què només s'objectiva positivitat a aquesta en el 17,1% dels pacients sensibilitats a *Artemisia vulgaris* mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques o "prick-test"). Aquests resultats es trobaven en conjunció amb els publicats per Wöhrl i els seus col·laboradors [Wöhrl, 2006]. Wöhrl atribueix aquesta baixa sensibilitat a la possible falta de l'al·lergen Art v 2 a la seva població (PR1 protein) [Wöhrl, 2006]. Resultats similars foren publicats uns anys després per Lizaso MT i els seus col·laboradors. [Lizaso, 2011], així com per Melioli G [Melioli, 2011]. Aquest autor troba un percentatge de concordança (entre ISAC® i determinació d'IgE específiques enfront l'extracte complet d'artemísia) pel que fa a resultats negatius del 99% amb un percentatge de concordança respecte als resultats positius del 47%. Aquest valor, però, augmentava a un 83% si el punt de tall de

valors positius front l'IgE específica d'artemísia s'aumentava a 1 KU/L **[Melioli, 2011]**.

Per altra banda, Gadermaier també va publicar un interessant treball comparant la sensibilitat d'artemísia utilitzant un sistema de micromatrius amb els al·lèrgens Art v 1, Art v 3, Art v 4, Art v 5 i Art v 6 amb l'ELISA i en aquest cas, però, va trobar una bona correlació per tots els al·lèrgens **[Gadermaier, 2008]**. Finalment, Gadisseur R. i els seus col·laboradors troben una millor concordança entre la determinació d'IgE específica enfront l'extracte complet d'artemísia i les molècules Art v 1 i Art v 3 que la resta d'autors, essent del 71,4% per Art v 1 i del 66,7% per Art v 3 **[Gadisseur, 2011]**.

Un altre punt a destacar a la nostra població d'estudi és la correlació estadísticament significativa entre Art v 3 (LTP) i les LTP d'avellana Cor a 8 ($r=0,594$; $p<0,001$) i de préssec Pru p 3 ($r=0,674$; $p<0,001$). Per contra, tal com s'ha ja comentat anteriorment, no trobem correlació estadísticament significativa entre Art v 3 i la proteïna LTP Par j 2, ambdues presents a la micromatriu ISAC® 103. Resultats similars han estat descrits prèviament per altres autors. **[Lombardero, 2004] [Sánchez-López, 2014] [Scala, 2015]**.

Pel que fa a l'estudi dels patrons de sensibilització molecular del pol·len d'artemísia dels pacients de la nostra regió geogràfica (Barcelona) i els de la regió central d'Itàlia (Roma), trobem diferències estadísticament significatives pel que fa a la molècula Art v 3 (major sensibilització a la nostra regió geogràfica), però, no trobem diferències estadísticament significatives en analitzar l'al·lèrgen principal d'artemísia Art v 1 (**taula 16**). El fet de trobar un percentatge de sensibilització a Art v 3 (molècula de la família de les LTP) major a la nostra població d'estudi, estaria relacionat amb el major percentatge de sensibilització a molècules LTP que es troba al Sud d'Europa (descriu fins al moment per nombrosos autors) **[Lombardero, 2004] [Gadermaier, 2011] [Sánchez-López, 2014]**, si bé, la regió central d'Itàlia (Roma) es trobaria en una zona limítrofa del Sud d'Europa.

Taula 16. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de pol·len d'artemisia de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Art v 1	3,75 (n=3)	10,5 (n=8)	ns
Art v 3	18,7 (n=15)	36,8 (n=28)	p=0,009

ns=no significació

Pol·len de parietària

A la nostra població d'estudi, en pacients polisensibilitzats, el pol·len de parietària és la cinquena sensibilització pol·línica (**taula 11**). La sensibilització enfront el pol·len de parietària acostuma a oscil·lar entre el 5 i el 40% a les zones on hi ha més parietària. Segons els resultats de la **taula 11**, la molècula Par j 2, a la nostra població d'estudi, es pot considerar un al·lergen principal de sensibilització a *Parietaria judaica*, de la mateixa manera que ha estat descrit prèviament per altres autors [**González-Rioja, 2007**] [**Bonura, 2012**].

Per altra banda, si avaluem la sensibilitat i l'especificitat de la molècula Par j 2, respecte el diagnòstic al·lergològic convencional mitjançant proves intraepidèrmiques o "prick-test" front *Parietaria judaica*, s'objectiva que Par j 2 tindria una sensibilitat del 78% amb una especificitat del 97,6%. Si comparem els nostres resultats amb els trobats a la literatura, Melioli G. i col·laboradors [**Melioli, 2011**] trobaren un percentatge de concordança (entre ISAC® 103 i determinació d'IgE específica front l'extracte complet de *Parietaria judaica*) pel que fa a resultats negatius del 99% amb un percentatge de concordança respecte als resultats positius del 68%. Aquest valor, però, augmentava a un 89% si el punt de tall de valors positius front l'IgE específica de *Parietaria judaica* s'aumentava a 1 KU/L [**Melioli, 2011**].

Altres autors com González-Rioja R. i els seus col·laboradors [**González-Rioja, 2007**], també troben una correlació positiva alta entre els nivells d'IgE específica a sèrum de l'extracte complet de *Parietaria judaica* i les proves cutànies intraepidèrmiques o "skin prick-test" enfront aquest extracte ($r=0,996$; $p<0,001$) i entre els nivells d'IgE específica a sèrum de l'extracte complet de *Parietaria judaica* i els al·lèrgens Par j 2 ($r=0,982$; $p<0,001$) i Par j 1 ($r=0,887$;

$p < 0.001$). Aquests autors, però, van més enllà i troben que la molècula Par j 2 proporciona una sensibilitat i una especificitat del 100% pels pacients al·lèrgics a *Parietària judaica* tant en les proves “*in vivo*” com per les proves “*in vitro*”. Per tant, aquests autors conclouen, tal com Stumvoll S. i els seus col·laboradors havien fet prèviament [Stumvoll, 2003] que el diagnòstic enfront parietària tant “*in vivo*” com “*in vitro*” es pot simplificar a l’ús de la molècula Par j 2 [González-Rioja, 2007].

No es varen trobar associacions estadísticament significatives entre la sensibilització a Par j 2 (proteïna transferidora de lípids) amb altres proteïnes transferidores de lípids (tal com s’ha ja descrit prèviament) [Tordesillas, 2011] [Morales, 2014]. Per tant, en la sensibilització a Par j 2, és important remarcar que malgrat pertànyer a la família LTP, aquesta molècula al igual que ocorre amb la molècula Ole e 7 (LTP de l’olivera), no es pot relacionar amb la síndrome LTP.

Respecte a l’estudi comparatiu dels pacients de la nostra regió geogràfica amb els de la regió central d’Itàlia, no trobem diferències estadísticament significatives en ambdues poblacions d’estudi pel que fa al percentatge de sensibilitzacions a Par j 2, essent del 38,1% ($n=29$) i del 31,2% ($n=25$) respectivament.

Pol·len de cupressàcies

La sensibilització a pol·len de xiprer es troba entre una de les 10 sensibilitzacions més freqüents a la nostra àrea geogràfica (sisena en freqüència) i és similar als resultats obtinguts per altres grups [Sposato, 2014].

Si avaluem la sensibilitat i l’especificitat de les molècules Cup a 1 i Cry j 1 respecte el diagnòstic al·lergològic convencional utilitzant la determinació d’IgE específica front *Cupressus arizonica*, s’objectiva una especificitat de la molècula Cup 1 del 83,3% amb una sensibilitat del 92,9%, mentre que la molècula Cry j 1 té una especificitat del 66,7% i una sensibilitat del 78,6%. Si per contra avaluem la sensibilitat i l’especificitat de la molècula Cup a 1 respecte el diagnòstic al·lergològic convencional mitjançant la realització de

proves intraepidèrmiques o “*prick-test*”, la sensibilitat que s’assoleix és del 75% amb una millora significativa de l’especificitat del 97,8%.

Aquests resultats són similars als trobats per altres autors [**Cabrera-Freitag, 2011**]. En aquest treball, el diagnòstic molecular mitjançant components (Cup a 1) va demostrar una sensibilitat del 91,7% amb una especificitat del 91,3%. Aquestes dades es relacionarien amb les trobades per Mothes N. i els seus col·laboradors els quals descriuen les molècules Cry j 1 i Cry j 2 com a potencials marcadors d’al·lèrgia al pol·len de coníferes [**Mothes, 2004a**].

Tanmateix, els nostres resultats s’aproximarien més als trobats pel grup Italià de Melioli i els seus col·laboradors [**Melioli, 2011**]. Melioli G. i el seu equip trobaren un percentatge de concordança (entre ISAC® i determinació d’IgE específiques enfront l’extracte complet de xiprer) pel que fa a resultats negatius del 99% amb un percentatge de concordança respecte als resultats positius del 80%. Aquest valor, però, augmentava a un 95% si el punt de tall de valors positius enfront l’IgE específica de xiprer s’augmentava a 1 KU/L (valor ja en concordança amb els resultats de la nostra població d’estudi) [**Melioli, 2011**], així com per Gadisseur R., el qual troba una concordança entre la determinació d’IgE específica enfront l’extracte complet de xiprer i la molècula Cup a 1 del 100% [**Gadisseur, 2011**].

A més a més, es va trobar una correlació positiva alta estadísticament significativa entre les dues molècules Cry j 1 i Cup a 1 ($r=0,954$, $p=0,001$). A la literatura es descriu l’elevada homologia de seqüència entre la molècula Cup a 1 i Cry j 1 [**Taniai, 1988**]. Aquestes dades es correlacionen amb les trobades a la nostra població. De fet, a la nostra població d’estudi, la molècula Cup a 1 és suficient per discriminar l’al·lèrgia a cupressàcies.

No es varen trobar associacions estadísticament significatives entre la sensibilització al pol·len de xiprer i sensibilització a cap de les famílies de molècules de reactivitat encreuada (profilina, polcalcina o proteïnes transferidores de lípids).

Respecte a l'estudi comparatiu dels pacients de la nostra regió geogràfica amb els de la regió central d'Itàlia, trobem diferències estadísticament significatives en ambdues molècules (Cup a 1 i Cry j 1), essent el percentatge de sensibilització a ambdues molècules major a la regió central d'Itàlia (**taula 17**).

Taula 17. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de pol·len de xiprer de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Cry j 1	51,2 (n=41)	32,8 (n=25)	p= 0,015
Cup a 1	65 (n=52)	36,8 (n=28)	p=0,001

ns= no significació

Altres sensibilitzacions pol·líniques

Arbres

Si analitzem el percentatge de sensibilització d'altres molècules d'arbres menys freqüents a la nostra població d'estudi de la regió de Barcelona, trobem diferències estadísticament significatives amb la molècula Aln g 1 [marcadora de sensibilització al vern (*Alnus glutinosa*)] i amb la molècula Bet v 1 [marcadora de sensibilització a bedoll (*Betula verrucosa*)] (**taula 18**).

Coincideix que ambdues proteïnes són proteïnes de la família PR-10 pel que aquestes dades suggereixen que el perfil de sensibilització dels pacients de la regió central d'Itàlia (Roma), malgrat la proximitat geogràfica amb la nostra població d'estudi de l'àrea de Barcelona, presenten un perfil de sensibilització més similar al que trobem al Nord d'Europa, on nombrosos autors han descrit l'elevada prevalença de sensibilització a molècules de la família PR-10. [Ott, 2010a] [Hauser, 2011] [Scala, 2011].

Taula 18. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de pol·len de vern i de bedoll de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Aln g 1	18,7 (n=15)	5,3 (n=4)	p=0,009
Bet v 1	25 (n=20)	7,9 (n=6)	p=0,003
Bet v 2	22,5 (n=18)	11,8 (n=9)	ns
Bet v 4	3,7 (n=3)	9,2 (n=7)	ns

ns=no significació

Maleses

Pel que fa a l'estudi dels patrons de sensibilització d'altres molècules de la família de les maleses no descrites anteriorment, destaquem les molècules Amb a 1, Mer a 1 i Sal k 1, trobant diferències estadísticament significatives entre ambdues poblacions d'estudi amb la molècula Mer a 1 (més prevalent a la regió central d'Itàlia) i amb la molècula Sal k 1 (més prevalent a la nostra regió geogràfica) (**taula 19**).

La major sensibilització de la molècula Mer a 1 a la regió central d'Itàlia sembla que podria estar relacionada amb la major sensibilització a molècules profilines que s'ha descrit en aquella regió [Villalta, 2010] [Villalta, 2010] [Asero, 2011b] [Scala, 2011], a diferència de la nostra àrea geogràfica, on trobaríem un clar predomini de sensibilització a molècules LTP [González-Mancebo, 2011].

Taula 19. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de pol·len d'ambrosia, mercurialis i salsola de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Amb a 1	5 (n=4)	0 (n=0)	ns
Mer a 1	25 (n=20)	11,8 (n=9)	p=0,028
Sal k 1	0 (n=0)	11,8 (n=9)	p=0,001

ns=no significació

Molècules de reactivitat encreuada

Fins ara, el percentatge de sensibilització descrit a la literatura general enfront proteïnes de reactivitat encreuada (majoritàriament profilina, polcalcina, proteïna transferidora de lípids, i CCD) sembla que seria baix (<20%) [Barber, 2007] [Quiralte, 2007] [Barber, 2008] [Tordesillas, 2011] [Villalta, 2011] [Panzner, 2014]. A continuació s'analitzaran els diferents percentatges de sensibilització enfront les diferents molècules de reactivitat encreuada trobats a la nostra població d'estudi.

Profilines

L'11,8% (n=9) de la nostra població d'estudi està sensibilitzada a profilines. Per tant, tenint en compte que el criteri d'inclusió a l'estudi era sensibilització a més de tres espècies botàniques diferents, podem considerar que la majoria dels pacients polisensibilitzats de la nostra àrea presenten sensibilitzacions genuïnes a les diferents espècies botàniques ja que el percentatge de sensibilització a molècules de reactivitat encreuada és baix. Aquest percentatge ha estat similar al trobat a la literatura per altres autors. [Panzner, 2014].

Un altre resultat important a destacar a la nostra població d'estudi és que en tots els casos s'objectivà positivitats a les cinc profilines presents a la micromatriu comercial ISAC® 103: Phl p 12, Mer a 1, Bet v 2, Ole e 2 y Hev b 8, objectivant-se correlació estadísticament significativa entre totes elles ($p < 0,05$). Aquests resultats, tal com han suggerit prèviament altres autors [Rodríguez, 2007], constaten que la sensibilització a qualsevol d'aquestes molècules podria utilitzar-se com a marcadora de sensibilització a profilines.

Per altra banda, també és important destacar que tots els pacients sensibilitzats a profilines presentaven també sensibilització a gramínies (n=9), trobant-se associació estadísticament significativa entre la sensibilització a profilines i al pol·len de gramínies ($p < 0,05$) mitjançant proves intraepidèrmiques ("skin prick-test"). També es va trobar associació estadísticament significativa entre la sensibilització a profilines mitjançant proves intraepidèrmiques ("skin prick-test"). Aquests mateixos resultats han estat descrit ja prèviament per altres

autors [Vallverdú, 1997] [Muehlmeier, 2014]. Això indica que a la nostra població d'estudi les molècules de la família de les profilines es detecten per sensibilització a pol·len de gramínies de forma similar al que altres autors han descrit fins [García Ortiz, 1996] [Asero, 2000].

Polcalcines

Trobem que només el 9,2% (n=7) de la nostra població està sensibilitzada a les polcalcines. Per tant, podem considerar que la majoria dels pacients polisensibilitzats a pò·lens de la nostra àrea geogràfica presenten sensibilitzacions a espècies botàniques diferents ja que el percentatge de sensibilització a molècules de reactivitat encreuada és baix. Remarcar també que dels set pacients que presenten sensibilització a polcalcines, només un presenta també sensibilització a profilines. Tanmateix, altres autors han descrit percentatges de sensibilització a polcalcines encara més baixos a la seva població. [Panzner, 2014].

Un altre punt a tenir en compte és que la sensibilització a polcalcines s'associa a sensibilització a múltiples tipus de pol·len, objectivant-se que en els pacients amb positivitat a polcalcines presenten també sensibilització a més de set espècies botàniques diferents amb resultats estadísticament significatius ($p < 0,05$).

Per altra banda, es va també trobar una correlació positiva alta estadísticament significativa entre la sensibilització a les dues molècules de polcalcina presents a la micromatriu comercial ISAC® (Bet v 4 i Phl p 7) ($r=0,993$; $p < 0,001$) tal com altres autors havien publicat prèviament [Orovitg, 2011]. D'aquesta manera, s'ha suggerit que la sensibilització a aquestes molècules així com a altres molècules de la família polcalcina (com ara per exemple Ole e 3, molècula homòloga de Phl p 7), podrien ser un bon marcador de polisensibilització per prova cutània ("skin prick-test") [Rodríguez, 2007].

Proteïna transferidora de lípids

El 43,4% (n=33) dels pacients polisensibilitzats a pòl·lens de la nostra població d'estudi estan sensibilitzats a proteïnes LTP (Cor a 8, Art v 3, Par j 2 i/o Pru p 3). Aquest percentatge és un percentatge bastant més elevat al descrit per altres autors, sobretot en poblacions nòrdiques (Panzner i els seus col·laboradors descriuen només 6,4% de positivitat enfront LTP) **[Panzner, 2014]**.

Destacar també que a la nostra població d'estudi, es va trobar positivitat de la molècula Pru p 3 a 30 dels 33 pacients sensibilitzats a LTP (90,9%). En els pacients amb al·lèrgia alimentària a aliments vegetals que poguessin contenir proteïnes LTP (n=32), la sensibilització a aquestes proteïnes s'associava amb el risc de patir anafilaxi ($p < 0,05$), tal com han descrit prèviament altres autors **[Pastorello, 2001] [Pastorello, 2002a] [Van Winkle, 2014]**. Tanmateix, no es varen trobar diferències estadísticament significatives en els nivells de Pru p 3 entre els pacients amb clínica d'anafilaxi d'aquells amb síndrome d'al·lèrgia oral. Aquests resultats foren referenciats posteriorment al nostre treball per altres grups **[Novembre, 2012]**.

Per altra banda, la sensibilització a Cor a 8 sempre s'associava a sensibilització a la molècula Pru p 3, trobant-se una correlació positiva moderada entre ambdues molècules ($r=0,655$; $p < 0,001$). A més a més, es varen objectivar correlacions estadísticament significatives entre totes les molècules LTP (Art v 3, Pru p 3, Cor a 8), excepte amb la molècula Par j 2. Par j 2 no va mostrar correlació estadísticament significativa amb Art v 3 (LTP de pol·len) ni amb la resta d'LTP d'aliments presents a la micromatriu comercial ISAC® 103 (Cor a 8 i Pru p 3). Aquests resultats foren descrits posteriorment per altres autors **[Asero, 2013a] [Gadermaier, 2014] [Scala, 2015]**.

CCD

Un altre grup important de molècules de reactivitat encreuada a destacar és el de les CCD. A la nostra població d'estudi de pacients polisensibilitzats a pol·len no trobem positivitat de la molècula Ana c 2 (molècula marcador de CCD) a caps dels nostres pacients. Tanmateix, si analitzem la població del centre d'Itàlia (principalment població de Roma) sí que trobem un percentatge de sensibilització a la molècula Ana c 2 relativament considerable [(11,2% (n=9)], objectivant-se diferències entre ambdues poblacions d'estudi estadísticament significatives ($p=0,002$).

Ara bé, sembla que hi hauria altres proteïnes que també podrien contenir CCD i que, per tant, es podrien també englobar dins d'aquest grup [http://www.allergome.org/script/search_step2.php?action=search&type_archive=&no_unknown=&only_iuis=&no_isoform=&first_archive=3&first_field=CCD-bearing+Protein+%28XF%29] com ara per exemple les molècules Api m 1, Ara h 1, Cry j 1, Cup a 1, Cyn d 1, Ole e 1, Phl p 4 o la molècula Pla a 2, totes elles presents a la micromatriu comercial ISAC® 103.

A la nostra població d'estudi hem observat una correlació positiva estadísticament significativa entre les molècules Cup a 1, Cry j 1, Ole e 1 i Pla a 2 que són totes elles d'origen natiu (ja que les molècules recombinats no contenen CCDs). Per tant, podem especular que la sensibilització aïllada a molècules que contenen CCD podria correspondre a sensibilització encreuada [Villalta, 2013]. Per tant, és de vital importància intentar definir l'al·lergen sensibilitzant primari a tots els pacients en els que s'objectivi positivament enfront a diverses d'aquestes molècules per tal de realitzar un diagnòstic al·lèrgològic el més precís possible.

A la **taula 20** es descriuen els percentatges d'altres molècules de reactivitat encreuada objectivats a la nostra població d'estudi de l'àrea de Barcelona.

Taula 20. Altres molècules de reactivitat encreuada de la població d'estudi de l'àrea de Barcelona.

Família	Molècules	Positivitat (% i nombre de pacients)	Correlació estadísticament significativa
Lipocalines	Bos d 5 Fel d 4 Can f 1, Can f 2 Mus m 1	17,1 (n=13)	Fel d 4, Can f 1
Tropomiosines	Ani s 3 Bla g 7 Der p 10 Pen a 1, Pen i 1, Pen m 1	13,2 (n=10)	Ani s 3, Bla g 7, Der p 10, Pen a 1, Pen i 1, Pen m 1
PR-10	Act d 8 Aln g 1 Api g 1 Ara h 8 Bet v 1 Cor a 1.0101, Cor a 1.0401 Dau c 1 Gly m 4 Mal d 1 Pru p 1	10,5 (n=8)	Api g 1, Aln g 1, Gly m 4, Mal d 1, Pru p 1
Emmagatzematge de llavors	Ana o 2 Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3 Ber e 1 Cor a 9 Ses i 1 Gly m 5, Gly m 6	7,9 (n=6)	Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Gly m 5, Gly m 6
Albúmines sèriques	Bos d 6 Can f 3 Equ c 3 Fel d 2 Gal d 5	5,3 (n=4)	Bos d 6, Can f 3, Equ c 3, Fel d 2
Parvalbúmines	Gad c 1 Cyp c 1	1,3 (n=1)	Gad c 1, Cyp c 1

Neumoal·lèrgens no pol·línics

A la **taula 21** es resumeixen les freqüències dels principals al·lèrgens ambientals no pol·línics.

Àcars de la pols

Les dades descrites a la **taula 21** constatarien que la majoria dels nostres pacients al·lèrgics als àcars de la pols presenten sensibilització genuïna a aquests degut majoritàriament al grup 2 d'àcars, essent la sensibilització a àcars deguda a molècules de RE (tropomiosina) bastant més baixa. A la vegada, aquestes dades també suggereixen que la RE entre les dues espècies d'àcars *Dermatophagoides pteronyssinus* i *Dermatophagoides farinae* i Euroglyphus mannei de la nostra població és molt elevada ja que el percentatge de sensibilització front Der p 1, Der f 1, Der p 2, Der f 2, Eur m 2 és superior al 50% en tots els casos. Aquestes dades coincideixen amb les publicades recentment per altres autors **[Bronnert, 2012]** **[Minami, 2015]** **[Morales, 2015]** **[Villalta, 2015]**.

Si comparem les nostres dades amb les de la població de la regió central d'Itàlia (Roma), tal com es pot observar a la **taula 22**, no trobem diferències estadísticament significatives entre els diferents al·lèrgens d'àcars determinats mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 103, llevat de per la molècula Eur m 2, la qual és més prevalent a l'àrea de Barcelona, objectivant-se a més a més diferències estadísticament significatives respecte la població del centre d'Itàlia (**taula 21**). Tanmateix, el percentatge de sensibilització de la molècula Eur m 2 tant de l'àrea central d'Itàlia com de la nostra àrea geogràfica seria inferior al descrit per altres poblacions **[Zheng, 2011]**.

Taula 21. Al·lèrgens ambientals no pol·línics de la població d'estudi de l'àrea de Barcelona.

Font al·lèrgica [Total pacients (n=76)]	"Skin prick-test" positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 103, % i nombre de pacients)
Àcars			
• <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	57,9 (n=44)	88,6 (n=39)	Der p 1 → 56,8 (n=25) Der p 2 → 63,6 (n=28) Der p 10 → 9,1 (n=4)
• <i>Dermatophagoides farinae</i>	No realitzat	No realitzat	Der f 1 → 52,3 (n=23) Der f 2 → 63,6 (n=28)
• <i>Euroglyphus maynei</i>	No realitzat	No realitzat	Eur m 2 → 61,4 (n=27)
<i>Hevea brasiliensis</i> (làtex)	10,5 (n=8)	50% (n=4)	Hev b 1 → 50 (n=4) Hev b 3 → 0 (n=0) Hev b 5 → 25 (n=2) Hev b 6 → 75 (n=6) Hev b 8 → 100 (n=8)
Epitelis			
• Gat	46 (n=35)	88,6 (n=31)	Fel d 1 → 82,9 (n=29) Fel d 2 → 20,5 (n=9) Fel d 4 → 5,7 (n=2)
• Gos	39,5 (n=30)	70 (n=21)	Can f 1 → 26,7 (n=8) Can f 2 → 0 (n=0) Can f 3 → 13,3 (n=4)
Fongs			
• <i>Alternaria alternata</i>	13,2 (n=10)	60 (n=6)	Alt a 1 → 100 (n=10) Alt a 6 → 30 (n=3)
• <i>Aspergillus fumigatus</i>	1,3 (n=1)	0 (n=0)	Asp f 1 → 100 (n=1) Asp f 2 → 0 (n=0) Asp f 3 → 0 (n=0) Asp f 4 → 0 (n=0) Asp f 6 → 0 (n=0)

Taula 22. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores d'àcars de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Der f 1	30 (n=24)	34,2 (n=26)	ns
Der f 2	36,2 (n=29)	43,4 (n=33)	ns
Der p 1	37,5 (n=30)	38,1 (n=29)	ns
Der p 2	35 (n=28)	43,4 (n=33)	ns
Der p 10	7,5 (n=6)	7,9 (n=6)	ns
Eur m 2	25 (n=20)	42,1 (n=32)	p=0,018

ns=no significativa

Làtex

El làtex pot ocasionar símptomes al·lèrgics per contacte cutani (dermatitis de contacte), per ingesta (la ja descrita prèviament síndrome de làtex-fruites) o per inhalació (símptomes respiratoris, nasals i/o oculars: asma, rinitis i/o conjuntivitis). **[Niggemann, 2000].**

A la nostra població d'estudi, del total de pacients sensibilitzats mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques o “*skin-prick-test*” (n=8), només un pacient de la nostra població va presentar símptomes clínics compatibles amb anafilaxi. En aquest únic pacient amb símptomes clínics compatibles amb anafilaxi es va poder demostrar una monosensibilització a la molècula Hev b 5, molècula ja descrita prèviament per altres autors com a marcadora de sensibilització genuïna a làtex. **[Pamies, 2006] [Ebo, 2010b].**

La resta de pacients presentaren una bona tolerància al làtex sense objectivar-se cap tipus de rellevància clínica a aquesta sensibilització. Aquestes dades estarien en concordància amb el percentatge de sensibilització front la molècula Hev b 8 (molècula profilina i marcadora de reactivitat encreuada tal com s'ha descrit prèviament i referenciat àmpliament a la literatura **[Quercia, 2009]** observat a la nostra població d'estudi. Per tant, les nostres dades suggereixen que en els pacients polisensibilitzats a pol·len, la majoria de sensibilitzacions cutànies que objectivem en proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”), són resultat de

sensibilitzacions per reactivitat encreuada (rellevància clínica nula o escassa) i no pas per sensibilització genuïna, tal com s'ha descrit ja prèviament a la literatura [Ganglberger, 2001] [Ebo, 2010b] [Casquete-Román, 2012] [Schuler, 2013].

Pel que fa a l'anàlisi comparatiu multivariant entre els pacients de la nostra àrea Mediterrània (n=76) i els pacients polisensibilitzats de l'àrea central d'Itàlia, majoritàriament pacients provinents de Roma (n=80), els resultats obtinguts es detallen a la **taula 23**. Es varen trobar diferències estadísticament significatives pel que als al·lèrgens del làtex Hev b 5, Hev b 6 i Hev b 8, totes elles més prevalents a la població del centre d'Itàlia. Aquestes dades suggereixen per una banda una major sensibilització a proteïnes profilines en aquesta població. Tanmateix, tal com s'ha comentat anteriorment, aquesta sensibilització recordem que no tindria cap tipus de rellevància clínica i seria més suggestiva d'al·lèrgia a pòl·lens i/o aliments vegetals que no pas d'al·lèrgia al làtex tal com s'ha descrit prèviament [Ganglberger, 2001] [Nieto, 2002] [Quercia, 2009] [Yagami, 2009] [Villalta, 2010] [Casquete-Román, 2012] [Garnier, 2012] [Nucera, 2012].

Per altra banda, però, la major prevalença de sensibilització als al·lèrgens marcadors de sensibilització genuïna Hev b 5 i Hev b 6 a la població de la regió central d'Itàlia suggereix una major prevalença de sensibilitzacions genuïnes al làtex en aquesta població d'estudi [Bernstein, 2003] [Pamies, 2006] [Raulf-Heimsoth, 2007] [Ebo, 2010b] [Ott, 2010b] [Scala, 2010] [Bueno, 2013].

Taula 23. Freqüències comparatives entre les molècules marcadors de làtex de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Hev b 1	15 (n=12)	6,6 (n=5)	ns
Hev b 3	3,7 (n=3)	0 (n=0)	ns
Hev b 5	10 (n=8)	2,6 (n=2)	p=0,05
Hev b 6	30 (n=24)	7,9 (n=6)	p=0,001
Hev b 8	23,7 (n=19)	11,8 (n=9)	p=0,041

ns=no significació

Epitelis

Epiteli de gat

Les dades de la **taula 21** constaten que la majoria dels nostres pacients sensibilitzats a epiteli de gat mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques positives (“*skin prick-test*”) i/o IgE específica positiva enfront epiteli de gat, reconeixen la molècula Fel d 1. Per contra, les molècules Fel d 2 i Fel d 4 són poc útils pel diagnòstic d'aquest al·lergen a la nostra població ja que el percentatge de positius és molt baix (inferior al 12% en ambdós casos) **[Emara, 2011] [Hales, 2013] [Araujo, 2015] [Ligabue-Braun, 2015]**.

Per altra banda, si avaluem la sensibilitat i l'especificitat de la molècula Fel d 1 respecte el diagnòstic al·lergològic convencional utilitzant la determinació d'IgE específica, s'objectiva una especificitat de la molècula Fel d 1 del 75% amb una sensibilitat del 80,6%.

Fa ja gairebé una dècada Wöhrl i els seus col·laboradors **[Wöhrl, 2006]**, publicarien uns resultats pel que fa a sensibilitat bastant similars als trobats per nosaltres 78,3 (56,3-92,5), però, amb una especificitat bastant superior a la descrita per nosaltres 90,7 (83,1-95,7). Uns anys més tard, Gadisseur i el seu equip **[Gadisseur, 2011]** avaluarien la concordança entre el sistema ImmunoCAP® i el sistema ISAC® trobant un 100% de concordança per la molècula Fel d 1. Tanmateix, per la molècula Fel d 2 aquest resultat seria bastant més inferior (71,4%).

El mateix any, Melioli i el seu equip **[Melioli, 2011]** troben un percentatge de concordança (entre la micromatriu comercial ISAC® de 103 components i la determinació d'IgE específiques enfront l'extracte complet d'epiteli de gat) pel que fa a resultats negatius del 100% amb un percentatge de concordança respecte als resultats positius de només el 67%. Aquest valor, però, augmentava a un 97% si el punt de tall de valors positius front l'IgE específica de gat s'aumentava a 1 KU/L **[Melioli, 2011]**.

Destacar, que a diferència d'alguns resultats publicats prèviament per altres autors **[Van Metre, 1986] [Permaul, 2012] [Bjerg, 2015]**, a la nostra població d'estudi no es va trobar que la sensibilització a alguna o a la suma de les molècules del gat (Fel d 1, Fel d 2 o Fel d 4) s'associés a un major risc de patir asma.

Per últim, remarcar que vàrem trobar una correlació positiva moderada estadísticament significativa entre la sensibilització a l'al·lergen del gat Fel d 1 i Fel d 4 ($p < 0,001$, $r = 0,52$). Tanmateix, malgrat els treballs publicats fins al moment, a la nostra població d'estudi, no vàrem trobar resultats estadísticament significatius entre la sensibilització a cap dels altres al·lèrgens del gat (Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4), de gos (Can f 1, Can f 2, Can f 3), de cavall (Equ c 3) o de ratolí (mus m 1). **[Reininger, 2007] [Saarelainen, 2008]**.

Epiteli de gos

Les dades de la **taula 21** constatarien que les molècules Can f 1, Can f 2 i Can f 3 no són suficients per diagnosticar els pacients amb proves cutànies positives i/o IgE específica enfront l'extracte de gos a la nostra població ja que el percentatge de positivitat per les tres molècules és inferior al 30% en tots els casos **[Polovic, 2013]**.

Si avaluem la sensibilitat i l'especificitat de la suma de les molècules Can f 1 + Can f 2 + Can f 3 respecte el diagnòstic al·lergològic convencional mitjançant les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) enfront l'extracte de gos, trobem una sensibilitat del 30% i una especificitat del 91,9%.

Resultats similars foren descrits per Melioli i el seu equip **[Melioli, 2011]**, els quals troben un percentatge de concordança (entre la micromatriu comercial ISAC® de 103 components i la determinació d'IgE específiques enfront l'extracte complet de gos) pel que fa a resultats negatius del 98% amb un percentatge de concordança respecte als resultats positius de només el 13%. Aquest valor, augmentava a un 29% si el punt de tall de valors positius enfront l'IgE específica de gos

s'augmentava a 1 KU/L (valor pràcticament igual al trobat a la nostra població d'estudi) **[Melioli, 2011]**.

Tots aquests resultats suggereixen que les molècules Can f 1, Can f 2 i Can f 3 són suficients pel diagnòstic de sensibilització al gos a la nostra població d'estudi, bàsicament degut a la seva baixa sensibilitat (30%). Aquest possiblement sigui el punt més important a remarcar. D'aquesta manera, en adonar-nos que per la nostra població les molècules Can f 1, Can f 2 i Can f 3 eren insuficients pel diagnòstic de sensibilització al gos, prenent com a referència el treball realitzat per Mattson L. i els seus col·laboradors **[Mattsson, 2009]**, ens vam plantejar determinar altres possibles al·lèrgens que poguessin explicar la sensibilització al gos a la nostra població d'estudi de l'àrea Mediterrània. Tenint en compte, doncs, aquest treball, vam partir de la hipòtesi que, possiblement, els nostres pacients sensibilitzats al gos mitjançant el diagnòstic al·lèrgològic convencional, però, amb diagnòstic al·lèrgològic molecular enfront Can f 1, Can f 2 i Can f 3 negatiu, podrien estar sensibilitzats a la molècula Can f 5 (cal·licreïna prostàtica del gos) **[Mattsson, 2009]**.

Per tot això, a part dels 35 pacients estudiats inicialment, vàrem ampliar la mostra fins a recollir un total de 70 sèrums de pacients al·lèrgics al gos. A tots aquests pacients se'ls varen determinar els valors d'IgE davant de Can f 1, Can f 2 i Can f 3, amb la plataforma ImmunoCAP ISAC® i també els valors d'IgE davant de Can f 5 recombinant utilitzant el sistema ImmunoCAP® (Phadia) ja que recordem que la micromatriu comercial ISAC® 103 no disposava de l'al·lèrgen Can f 5 per a la seva determinació. Tots els pacients presentaven una història d'al·lèrgia al gos amb símptomes respiratoris (asma o rinoconjuntivitis), junt amb proves cutànies front l'extracte complet de caspa de gos positives així com valors positius d'IgE específica per l'extracte de caspa de gos. D'aquests 70 sèrums, 47 (67%) mostraren reactivitat tipus IgE front Can f 5. Can f 1, Can f 2 i Can f 3 van resultar ser al·lèrgens menors entre els pacients estudiats amb un total de 29 (41,4%) pacients positius front Can f 1, 10 (14,3%) pacients positius front Can f 2 i 14

(20%) pacients positius front Can f 3. A més a més, 27 dels 70 (39%) sèrums no reaccionaren a cap d'aquests tres al·lèrgens i 26 dels 70 (37%) sèrums reaccionaren únicament davant de l'al·lergen Can f 5. Per contra, només 4 dels 70 sèrums no presentaren reactivitat de tipus IgE a cap dels quatre al·lèrgens estudiats. Per tant, de tots aquests resultats podem concloure, que a la nostra població, Can f 1, Can f 2 i Can f 3 són al·lèrgens menors del gos. Per contra, Can f 5 és un al·lergen principal en els pacients al·lèrgics al gos. A més a més, tenint en compte que fins a un 37% dels nostres pacients són monosensibles a aquest al·lergen, seria molt important la seva inclusió a la micromatriu utilitzada pel diagnòstic molecular (ISAC®) [Basañaga, 2010] [Basagaña, 2012]. Remarcar que a partir d'aquestes troballes, la micromatriu comercial ISAC® 112 ja incorpora l'al·lergen Can f 5 del gos, aconseguint, per tant, una major sensibilitat pel diagnòstic de sensibilització a l'epiteli de gos en els pacients de la nostra població al·lèrgics a aquest al·lergen.

Pel que fa a l'anàlisi comparatiu multivariant entre els pacients de la nostra àrea Mediterrània (n=76) i els pacients polisensibilitzats de l'àrea central d'Itàlia (Roma; n=80), tal com es detalla a la **taula 24**, no es varen observar diferències estadísticament significatives pel que fa als al·lèrgens marcadors de sensibilització a epiteli de gos ni tampoc pels al·lèrgens marcadors de sensibilització a epiteli de gat (**taula 24**). Tanmateix, sí que es varen trobar diferències estadísticament significatives entre ambdues poblacions d'estudi pel que fa a l'al·lergen Mus m 1, lipocalina marcadora de sensibilització a ratolí, objectivant-se una major prevalença d'aquest al·lergen a la població del centre d'Itàlia, percentatge similar al descrit prèviament per altres autors [Lorusso, 1986] [Ferrari, 2004] [Peters, 2006] [Norton, 2014].

Taula 24. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores d'epitelis d'animals (gos, cavall, gat i ratolí) de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Can f 1	17,5 (n=14)	15,8 (n=12)	ns
Can f 2	5 (n=4)	1,3 (n=1)	ns
Can f 3	11,2 (n=9)	6,6 (n=5)	ns
Equ c 3	8,7 (n=7)	3,9 (n=3)	ns
Fel d 1	48,7 (n=39)	43,4 (n=33)	ns
Fel d 2	7,5 (n=6)	6,6 (n=5)	ns
Fel d 4	11,2 (n=9)	3,9 (n=3)	ns
Mus m 1	10 (n=8)	1,3 (n=1)	p=0,02

ns=no significació

Espores de fongs

Tal com es pot veure a la **taula 21**, a la nostra població d'estudi, el percentatge de sensibilització a fongs és baix, essent la sensibilització a *Alternaria alternata* i en concret a la molècula Alt a 1 la sensibilització més freqüent en els pacients de la nostra mostra d'estudi tal com altres autors han ja descrit prèviament [Portnoy, 1998] [Asturias, 2005] [Postigo, 2011] [Chruszcz, 2012] [Kustrzeba-Wójcicka, 2014] [Nieto, 2014] [Wagner, 2014].

És important, però, remarcar que a la nostra població d'estudi, tot i que la majoria de pacients sensibilitzats a espores de fongs reconeixen la molècula Alt a 1 (**taula 21**), també trobem un percentatge de pacients que reconeixen la molècula Alt a 6 (**taula 21**). Conèixer la sensibilització d'aquesta molècula Alt a 6 pot tenir implicacions pronòstiques i terapèutiques considerables ja que s'ha descrit un major risc de sensibilitzacions sistèmiques en els pacients que reben immunoteràpia específica enfront l'extracte complet d'*Alternaria alternata* i que presenten cosensibilització a ambdues molècules d'alternària (Alt a 1 i Alt a 6) respecte els pacients monosensibilitzats únicament a l'al·lergen d'*Alternaria alternata* Alt a 1. En els pacients monosensibilitzats a Alt a 1 s'ha vist que el risc de fer reaccions adverses després de rebre immunoteràpia específica enfront l'extracte complet d'*Alternaria alternata* és molt menor [Martínez-Cañavate, 2007] [Lizaso, 2006] [Lizaso, 2008] [Tabar, 2008].

Per contra, la sensibilització a *Aspergillus fumigatus* ha estat menys freqüent a la nostra població d'estudi, objectivant-se només en un pacient sense ABPA, el qual també presentava sensibilització a la molècula Asp f 1. Destacar que no vam trobar sensibilització a cap altre al·lergen d'*Aspergillus fumigatus* present a la micromatriu comercial ISAC® 103 (Asp f 2, Asp f 3, Asp f 4, Asp f 6). [Vailes, 2001b]

Respecte a l'estudi comparatiu dels pacients de la nostra regió geogràfica amb els de la regió central d'Itàlia, no vàrem trobar diferències estadísticament significatives en ambdues poblacions d'estudi pel que fa a cap dels percentatges de sensibilització als al·lèrgens marcadors de sensibilització a les espores de fongs (taula 25).

Taula 25. Freqüències comparatives entre les molècules marcadors d'espores de fongs (alternaria, aspergillus i cladosporium) de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Alt a 1	16,2 (n=13)	13,2 (n=10)	ns
Alt a 6	8,7 (n=7)	3,9 (n=3)	ns
Asp f 1	7,5 (n=6)	1,3 (n=1)	ns
Asp f 2	1,2 (n=1)	0 (n=0)	ns
Asp f 3	2,5 (n=2)	0 (n=0)	ns
Asp f 4	0 (n=0)	0 (n=0)	-
Asp f 6	3,7 (n=3)	0 (n=0)	ns
Cla h 8	2,5 (n=2)	2,6 (n=2)	ns

ns=no significació

Anisakis simplex

Respecte a l'estudi comparatiu dels pacients de la nostra regió geogràfica amb els de la regió central d'Itàlia, no vàrem trobar diferències estadísticament significatives en ambdues poblacions d'estudi pel que fa al percentatge de sensibilitzacions als al·lèrgens d'*Anisakis simplex* (Ani s 1 ni Ani s 3) (**Taula 26**).

Taula 26. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de sensibilització a *Anisakis simplex* de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Ani s 1	0 (n=0)	0 (n=0)	-
Ani s 3	5 (n=4)	7,9 (n=6)	ns

ns=no significació

Insectes

Pel que fa a l'anàlisi comparatiu multivariant entre els pacients de la nostra àrea Mediterrània (n=76) i els pacients polisensibilitzats de l'àrea central d'Itàlia, majoritàriament pacients provinents de Roma (n=80), tal com es detalla a la **taula 27**, no es varen observar diferències estadísticament significatives pel que fa als al·lèrgens marcadors de sensibilització a *Blatella germanica* ni tampoc per l'al·lèrgen Api m 4, marcador de sensibilització a verí d'abella.

Sí que es varen trobar diferències estadísticament significatives entre ambdues poblacions d'estudi pel que fa a l'al·lèrgen Api m 1, fosfolipasa A2 del verí d'abella, objectivant-se una major prevalença d'aquest al·lèrgen a la població del centre d'Itàlia (**taula 27**). Aquest patró geogràfic es trobaria en concordança amb el referenciat prèviament per altres autors [**Hofmann, 2011**] [**Monsalve, 2012**] [**Vidal, 2012**] [**Kohler, 2014**].

Taula 27. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de sensibilització a himenòpters de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Api m 1	7,5 (n=6)	0 (n=0)	p=0,017
Api m 4	0 (n=0)	0 (n=0)	-
Bla g 1	5 (n=4)	1,3 (n=1)	ns
Bla g 2	1,2 (n=1)	0 (n=0)	ns
Bla g 4	1,2 (n=1)	0 (n=0)	ns
Bla g 5	0 (n=0)	0 (n=0)	-
Bla g 7	5 (n=4)	11,8 (n=9)	ns

ns=no significació

Al·lèrgens d'aliments vegetals

S'ha descrit que fins el 30% dels pacients amb polinosis presenta de manera simultània una al·lèrgia a fruites, verdures i/o llegums bé sigui per reactivitat encreuada o per cosensibilització [**Cuesta-Herranz, 2010**].

A la **taula 28** es resumeixen les freqüències dels principals aliments descrits a la nostra població d'estudi que recordem que correspon a pacients sensibilitzats mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) a tres o més grups de diferent pol·len no taxonòmicament relacionat.

Taula 28. Sensibilitzacions alimentàries de la població d'estudi de l'àrea de Barcelona.

Font al·lergènica [Total pacients (n=76)]	“Skin prick-test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 103, % i nombre de pacients)	Clínica amb l'aliment (% i nombre de pacients)
Fruites rosàcies				
• <i>Prunus persica</i> (préssec)	34,2 (n=26)	84,6 (n=22)	Pru p 1 → 7,7 (n=2) Pru p 3 → 73,1 (n=19)	Tolera 72,3 (n=55) SAO 13,2 (n=10) U/AE 6,6 (n=5) Anafilaxi 7,9 (n=6)
• <i>Malus domestica</i> (poma)	27,6 (n=21)	95,2 (n=20)	Mal d 1 → 9,5 (n=2)	Tolera 84,2 (n=64) SAO 10,5 (n=8) Anafilaxi 5,3 (n=4)
Fruites no rosàcies				
• <i>Actinidia deliciosa</i> (kiwi)	14,5 (n=11)	72,7 (n=8)	Act d 1 → 9,1 (n=1) Act d 2 → 54,5 (n=6) Act d 5 → 0 (n=0) Act d 8 → 9,1 (n=1)	Tolera 86,8 (n=66) SAO 3,9 (n=3) U/AE 1,3 (n=1) Anafilaxi 3,9 (n=3) Gastrointestinal 3,9 (n=3)
• <i>Ananas comosus</i> (pinya)	0 (n=0)	No realitzada	Ana c 2 → 0 (0)	Tolera 100 (n=76)
Llegums				
• <i>Arachis hypogaea</i> (cacauet)	26,3 (n=20)	75% (n=15)	Ara h 1 → 5 (n=1) Ara h 2 → 0 (n=0) Ara h 3 → 0 (n=0) Ara h 8 → 0 (n=0)	Tolera 75 (n=57) SAO 9,2 (n=7) U/AE 9,2 (n=7) Anafilaxi 6,6 (n=5)
• <i>Glycine max</i> (soja)	23,7 (n=18)	50 (n=9)	Gly m 4 → 2,6 (n=2) Gly m 5 → 2,6 (n=2) Gly m 6 → 1,3 (n=1)	Tolera 97,4 (n=74) SAO 1,3 (n=1) Anafilaxi 1,3 (n=1)
Fruites seques	25 (n=19)	68,4 (n=13)	Cor a 8 → 73,7 (n=14)	Tolera 78,9 (n=60)

Resultats i Discussió

• <i>Corylus avellana</i> (avellana)			Cor a 9→ 5,3 (n=1) Cor a 1.0101 0 (n=0) Cor a 1.0401 (0 (n=0))	SAO 7,9 (n=6) U/AE 6,6 (n=5) Anafilaxi 6,6 (n=5)
• <i>Sesamum indicum</i> (sèsam)	0 (n=0)	No realitzat	Ses i 1→ 1,3 (n=1)	Tolera 100 (n=76)
• <i>Anacardium occidentale</i> (anacard)	0 (n=0)	No realitzat	Ana o 2→ 0 (n=0)	Tolera 100 (n=76)
• <i>Bertholletia excelsa</i> (nou de brasil)	0 (n=0)	No realitzat	Ber e 1→ 0 (n=0)	Tolera 100 (n=76)
Cereals				
• <i>Triticum aestivum</i> (blat)	5,3 (n=4)	75 (n=3)	Tri a 18→ 25 (n=1) Tri a gliadina (n=0) Tri a 19.0101 (n=0) Tri aA TI (n=0)	Tolera 98,7 (n=75) Gastrointestinal 1,3 (n=1)
Verdura				
• <i>Apium graveolens</i> (api)	No realitzat	No realitzat	Api g 1→ 1,3 (n=1)	Tolera 100 (n=76)
• <i>Daucus carota</i> (pastanaga)	0 (n=0)	No realitzat	Dau c 1→ 0 (n=0)	Tolera 100 (n=76)

Fruites rosàcies

Préssec

Tal com es pot veure a la **taula 28**, a la nostra població d'estudi, la molècula Pru p 3 discriminaria millor entre els pacients sensibilitzats a préssec i els negatius que no pas la molècula Pru p 1 (proteïna PR10) ja que el percentatge de positivitat front Pru p 1 és només del 7,7% front el 73,1% de la molècula Pru p 3. Aquests resultats es trobarien en concordança amb els descrits prèviament per altres autors en el Sud d'Europa on s'objectiva un clar predomini de les LTP en la sensibilització a préssec (a diferència del nord d'Europa on trobaríem un major predomini de proteïnes PR-10) **[Leonart, 1992] [Carnés, 2002] [Schulten, 2009] [Asero, 2011b] [Pastorello, 2011] [Pasini, 2012]**.

Per altra banda, tot i que en aquesta població d'estudi vam observar que la sensibilització a les proteïnes transportadores de lípids (LTP) s'associava amb el risc de patir anafilaxi ($p < 0,05$), tal com altres autors han ja descrit prèviament, **[Fernández-Rivas, 2003b] [Gamboa, 2007] [Gaier, 2009]**, vam observar que molts dels nostres pacients sensibilitzats a proteïnes LTP únicament presentaven símptomes d'urticària/angioedema i/o SAO i no sempre la sensibilització a proteïnes LTP s'associava a clínica d'anafilaxi. Per això, prenent com a referència diferents casos clínics publicats fins al moment, **[Harada, 2001] [Fiedler, 2002] [Nakamura, 2006] [Fujii, 2008] [Gangemi, 2008] [Morita, 2009] [Sato, 2009] [Matsukura, 2010] [Bianchi, 2011]**, ens vam plantejar si realment aquests cofactors com ara l'exercici, els antiinflamatoris o l'alcohol, únicament publicats fins al moment com casos aïllats i estudiats només en grups d'aliments molt concrets (sobretot blat i crustacis), podien actuar també com a cofactors en els pacients sensibilitzats a proteïnes LTP i ser els responsables de la clínica greu d'anafilaxi en aquests pacients.

Per tot això, partint de la nostra població d'estudi i ampliant-la vam seleccionar 74 casos de pacients en els que se sospitès un possible co-factor associat a l'al·lèrgia alimentària (exercici, alcohol o algun fàrmac antiinflamatori). D'aquests

casos, el 85,1% van presentar símptomes clínics compatibles amb anafilaxi i les proteïnes LTP van resultar ser les proteïnes més freqüentment implicades en aquesta població d'estudi [Cardona, 2012]. Posteriorment, altres autors han publicat resultats similars als trobats per nosaltres [Pascal, 2012] [Asero, 2013b] [Zogaj, 2014].

Per altra banda, si avaluem la sensibilitat i l'especificitat de la molècula que millor explicaria el percentatge de sensibilitzacions a préssec de la nostra àrea geogràfica, Pru p 3, respecte el diagnòstic al·lèrgològic convencional utilitzant la determinació d'IgE específica enfront préssec, s'objectiva una especificitat de la molècula Pru p 3 del 75% i una sensibilitat del 68,2%.

Pel que fa a la concordança entre el sistema ImmunoCAP® i el sistema ISAC®, Gadisseur i el seu equip [Gadisseur, 2011] troben un 92,3% de concordança per la molècula Pru p 1. Tanmateix, per la molècula Pru p 3 aquest resultat seria bastant més inferior (61,5%, resultat similar al nostre). Aquesta baixa sensibilitat podria explicar-se per l'existència d'altres proteïnes presents en el préssec com la molècula Pru p 2 (TLP) i/o Pru p 7 "peamacleïna" descrites recentment per Tuppo L. i els seus col·laboradors [Tuppo, 2013]. Ara bé, per contra, Lisazo MT. i el seu equip sí que varen demostrar una correlació positiva alta entre l'al·lèrgen Pru p 3 (present a la micromatriu comercial ISAC® 89) i els sistemes ImmunoCAP® enfront l'extracte complet de préssec i ADVIA-CENTAUR ($r=0,840$, $p<0,01$). [Lizaso, 2011].

Poma

Tal com es pot observar a la **taula 28**, la molècula Mal d 1 només permet diagnosticar un 9,5% dels pacients en els que s'objectiva sensibilització a poma mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques ("skin prick-test"). Aquestes dades suggereixen que, a la nostra població d'estudi, la molècula Mal d 1 no és suficient pel diagnòstic de sensibilització a poma.

Probablement, aquesta baix percentatge de sensibilització a la molècula Mal d 1 sigui degut a què, tal com s'ha comentat prèviament, els pacients del Sud d'Europa presenten majoritàriament sensibilització a les proteïnes LTP, per tant, Mal d 3, i no pas sensibilització a les proteïnes PR-10 (Mal d 1), just al contrari que al Nord d'Europa [Oberhuber, 2008a].

Respecte a l'estudi comparatiu dels pacients de la nostra regió geogràfica amb els de la regió central d'Itàlia, trobem diferències estadísticament significatives en el patró de sensibilització entre ambdues poblacions per les molècules Mal d 1 i Pru p 1 (major sensibilització a la regió central d'Itàlia), essent ambdues proteïnes de la família PR-10, però, no trobem diferències estadísticament significatives en analitzar l'al·lergen Pru p 3 (taula 29). Aquests resultats suggereixen que el perfil molecular dels pacients de l'àrea central d'Itàlia (majoritàriament Roma) presenten una major sensibilització a la família de les proteïnes PR-10 (patró més característic dels pacients del Nord d'Europa [Rossi, 2011] [Scala, 2011] [Westman, 2015]) en comparació amb la nostra població d'estudi.

Taula 29. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de sensibilització a fruites rosàcies de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Mal d 1	22,5 (n=18)	6,6 (n=5)	p=0,004
Pru p 1	22,5 (n=18)	9,2 (n=7)	p=0,020
Pru p 3	35 (n=28)	39,5 (n=30)	ns

ns=no significació

Fruites no rosàcies

Kiwi

Tal com es pot veure a la taula 28, a la nostra població d'estudi, la molècula Act d 2 és la que millor explicaria la positivitat dels nostres pacients sensibilitzats i amb símptomes clínics per al·lèrgia al kiwi. Tanmateix, aquesta molècula, només és positiva en la meitat dels nostres pacients sensibilitzats al kiwi (54,5%). Per tant, podem dir que possiblement caldria incorporar altres al·lèrgens del kiwi a les actuals micromatrius ISAC® comercialitzades ja que per a la població mediterrània

sembla que els actuals al·lèrgens serien insuficients pel diagnòstic de sensibilització al kiwi [Bublin, 2010] [Le, 2013].

Si comparem els perfils de sensibilització a aquesta fruita en els pacients de la nostra població d'estudi de l'àrea de Barcelona i els pacients del centre d'Itàlia (principalment de Roma), no s'observen diferències estadísticament significatives entre ambdues poblacions (**taula 30**). Aquest fet es podria justificar per la relativa proximitat d'ambdues zones geogràfiques. Fins a l'actualitat no es disposa encara de cap estudi comparatiu dels diferents patrons de sensibilització molecular entre aquestes dues poblacions.

Taula 30. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de sensibilització al kiwi de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Act d 1	7,5 (n=6)	1,3 (n=1)	ns
Act d 2	11,2 (n=9)	9,2 (n=7)	ns
Act d 5	1,2 (n=1)	0 (n=0)	ns
Act d 8	0 (n=0)	1,3 (n=1)	ns

ns=no significació

Llegums

Cacauet

Segons els resultats de la **taula 28**, cap de les quatre molècules presents a la micromatriu comercial ISAC® 103 és capaç de diferenciar de manera clara aquells pacients amb IgE específica enfront cacauet d'aquells amb valors negatius ja que la molècula Ara h 1 únicament pot explicar un 5% dels pacients positius enfront l'extracte complet de cacauet i la resta d'al·lèrgens presents a la micromatriu comercial ISAC® 103 (Ara h 2, Ara h 3 i Ara h 8) presenten valors de zero. Per tant, malgrat tots els treballs que s'han publicat fins al moment referenciant el perfil molecular dels pacients al·lèrgics al cacauet [Koppelman, 2001] [Asarnoj, 2010] [Movérare, 2011] [Eller, 2013] [Agabriel, 2014] [Becker, 2014] [Ackerbauer, 2015], a la nostra població d'estudi, cap dels al·lèrgens presents a la micromatriu comercial ISAC® 103 podria explicar els valors positius trobats mitjançant la

determinació de proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) enfront l’extracte complet de cacauet. Per tant, a la nostra població d’estudi de l’àrea de Barcelona sensibilitzada a tres o més grups de diferent pol·len, les molècules Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3 i Ara h 8 no són suficients pel diagnòstic de sensibilització al cacauet.

Per altra banda, si avaluem la sensibilitat i l’especificitat de la suma de les molècules Ara h 1 + Ara h 2 + Ara h 3 + Ara h 8 respecte el diagnòstic al·lergològic convencional mitjançant les proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) enfront l’extracte complet de cacauet, trobem una sensibilitat del 31,8% i una especificitat del 92,8%. El grup de Javaloyes G. i els seus col·laboradors, uns anys més tard i també en població del Sud d’Europa, troben resultats similars als trobats per nosaltres amb una especificitat pels al·lèrgens Ara h 1 + Ara h 2 + Ara h 3 + Ara h 8 del 95% i una sensibilitat encara més baixa que a la nostra població d’estudi, essent només de l’11%, trobant una bona concordança utilitzant el sistema ImmunoCAP® i el sistema ISAC® 103 mitjançant components al·lergènics **[Javaloyes, 2012]**.

Els resultats de Gadisseur R. i els seus col·laboradors **[Gadisseur, 2011]** concorden amb els de Javaloyes, trobant també una bona concordança entre la determinació d’IgE específica enfront l’extracte complet de cacauet i les molècules Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3 i Ara h 8, essent del 81,3%, 77,8%, 70% i 86,7%, respectivament.

D’aquesta manera, en adonar-nos que per la nostra població d’estudi les molècules de la micromatriu comercial ISAC® 103 (Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3 i Ara h 8) eren insuficients pel diagnòstic de sensibilització al cacauet, prenent com a referència el treball publicat feia pocs mesos pel grup d’Adriano Mari i els seus col·laboradors **[Krause, 2009]**, ens vam plantejar determinar altres possibles al·lèrgens que poguessin explicar la sensibilització a l’extracte complet de cacauet a la nostra població d’estudi de l’àrea Mediterrània. Tenint en compte, doncs, el

treball de l'equip d'Adriano Mari, així com l'elevada prevalença de sensibilització a la proteïna LTP a la nostra àrea geogràfica d'estudi, vam partir de la hipòtesi que, possiblement, els nostres pacients sensibilitzats al cacauet mitjançant el diagnòstic al·lèrgològic convencional, però, amb diagnòstic al·lèrgològic molecular enfront les molècules Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3 i Ara h 8 negatiu, podrien estar sensibilitzats a la molècula Ara h 9 (LTP del cacauet).

En 14 dels pacients amb proves intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) i determinació d'IgE específica positiva enfront cacauet de la nostra població d'estudi en els que només es detectà sensibilització enfront la molècula Ara h 1 en un pacient sense trobar-se sensibilització a cap altre dels al·lèrgens presents a la micromatriu comercial ISAC® 103 (Ara h 2, Ara h 3 ni Ara h 8), es detectà sensibilització a la molècula Ara h 9 en un 85,7% (n=12) dels casos. A la **taula 31** es detallen les dades **[Luengo, 2010]**. Aquestes mateixes dades serien corroborades posteriorment per altres autors **[Nicolaou, 2011]** **[Vereda, 2011]** **[Javaloyes, 2012]** **[Suratannon, 2013]** **[Lange, 2014]**.

Taula 31. Taula resum de la clínica i el diagnòstic mitjançant components en els pacients al·lèrgics a cacauet.

Pacient	Clínica	Ara h 1 (ISU-E)	Ara h 2 (ISU-E)	Ara h 3 (ISU-E)	Ara h 8 (ISU-E)	Cor a 8 (ISU-E)	Ara h 9 (ISU-E)
1	AF	0	0	0	0	0,16	2,55
2	AF	0,27	0	0	0	0	0
3	SAO	0	0,12	0	0	1,01	29,3
4	SAO	0	0	0	0,18	0,63	0,73
5	UC	0	0	0	0	2,57	56
6	UC	0	0	0	0	1,1	14,6
7	AF	0	0	0	0	0,9	8,94
8	AE	0	0	0	0	3	5,19
9	SAO	0	0	0	0	0	0,04
10	AF	0	0	0	0	2,7	4,2
11	AF	0	0	0	0	2,7	98,1
12	SAO	0	0	0	0	0	0,82
13	UC	0	0	0	0	6,4	6,63
14	UC	0	0	0	0	0	1,34

Respecte a l'anàlisi comparatiu multivariant entre els pacients de la nostra àrea Mediterrània (n=76) i els pacients polisensibilitzats de l'àrea central d'Itàlia (Roma, n=80), tal com es detalla a la **taula 32**, no s'objectiven diferències estadísticament significatives entre ambdues poblacions d'estudi front cap dels al·lèrgens del cacauet (**taula 32**).

Taula 32. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de sensibilització al cacauet de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Ara h 1	5 (n=4)	6,6 (n=5)	ns
Ara h 2	3,7 (n=3)	1,3 (n=1)	ns
Ara h 3	0 (n=0)	1,3 (n=1)	ns
Ara h 8	12,5 (n=10)	5,3 (n=4)	ns

ns=no significació

Soja

Les freqüències de sensibilitzacions i clínica per al·lèrgia a la soja de la nostra població d'estudi de l'àrea de Barcelona es detallen a la **taula 33**. Respecte a l'estudi comparatiu dels pacients de la nostra regió geogràfica amb els de la regió central d'Itàlia, no vàrem trobar diferències estadísticament significatives en ambdues poblacions d'estudi pel que fa al percentatge de sensibilitzacions als al·lèrgens marcadors de sensibilització a la soja (**taula 33**).

Taula 33. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de sensibilització a la soja de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Gly m 4	10 (n=8)	3,9 (n=3)	ns
Gly m 5	0 (n=0)	2,6 (n=2)	ns
Gly m 6	0 (n=0)	1,3 (n=1)	ns

ns=no significació

Fruites seques

Avellana

Tal com es pot observar a la **taula 28**, la molècula Cor a 8 seria la que explicaria un major nombre de pacients positius a l'avellana en els què també s'ha demostrat sensibilització mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques o “*skin prick-test*” front l'extracte complet d'avellana a la nostra població d'estudi, ja que marcaria fins a un 73,7% de positivitat. Resultats similars han estat descrits per altres autors [Datema, 2015] [Costa, 2015] [Schocker, 2004] [Hansen, 2009] [Hartz, 2010]. Tanmateix, sembla que en altres poblacions d'estudi els principals al·lèrgens marcadors d'al·lèrgia a l'avellana serien Cor a 14 [Faber, 2014] [Masthoff, 2015] i la molècula Cor a 9 [Beyer, 2002a] [Beyer, 2002b] [Flinterman, 2008a] [Guo, 2009] [De Knop, 2011] [Masthoff, 2013].

Per altra banda, si avaluem la sensibilitat i l'especificitat de la molècula que millor explicaria el percentatge de sensibilitzacions a avellana de la nostra àrea geogràfica, Cor a 8, respecte el diagnòstic al·lèrgològic convencional utilitzant la determinació d'IgE específica front avellana, s'objectiva una especificitat de la molècula Cor a 8 del 83,3% i una sensibilitat del 84,6%. Fent una revisió exhaustiva de la literatura, fins al moment no hi ha resultats que ens permetin Gadisseur R. i els seus col·laboradors troben una bona concordança entre la determinació d'IgE específica front l'extracte complet d'avellana i les molècules Cor a 1 i Cor a 8 del 100% i del respectivament [Gadisseur, 2011].

Pel que fa a l'anàlisi comparatiu multivariant entre els pacients de la nostra àrea Mediterrània (n=76) i els pacients polisensibilitzats de l'àrea central d'Itàlia (Roma, n=80), tal com es detalla a la **taula 34**, no s'objectiven diferències estadísticament significatives entre ambdues poblacions d'estudi pel que fa als al·lèrgens d'anacard, nou de Brasil ni sèsam (**taula 34**). Tanmateix, sí que s'objectivaren diferències estadísticament significatives pel que fa als al·lèrgens d'avellana Cor 1.0101 i Cor a 1.0104 (ambdós més prevalents a la regió central d'Itàlia) i per l'al·lèrgen Cor a 8 (més prevalent a la nostra àrea geogràfica de Barcelona).

Aquestes dades corroboren una llarga llista de treballs publicats fins al moment en els què es confirma la major prevalença de sensibilització a proteïnes LTP a les poblacions del Sud d'Europa i una major prevalença de sensibilització a proteïnes PR-10 a les poblacions del Nord d'Europa. Per tant, malgrat la proximitat geogràfica existent entre la nostra regió geogràfica (Barcelona) i la població d'estudi de la regió central d'Itàlia (majoritàriament Roma), aquestes dades suggereixen que el perfil de sensibilització de la població de Roma és més similar a la del Nord d'Europa que no pas a la del Sud d'Europa. [Lüttkopf, 2002] [Schocker, 2004] [Flinterman, 2008] [Flinterman, 2008] [Hansen, 2009] [Ebo, et, al., 2012] [Hofmann, 2013] [Blanc, 2015] [Costa, 2015] [Datema, 2015]

Taula 34. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de sensibilització a les fruites seques d'arbre de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Ana o 2	5 (n=4)	0 (n=0)	ns
Ber e 1	1,2 (n=1)	0 (n=0)	ns
Cor a 1.0101	20 (n=16)	3,9 (n=3)	p=0,002
Cor a 1.0104	20 (n=16)	5,3 (n=4)	p=0,015
Cor a 8	10 (n=8)	28,9 (n=22)	p=0,002
Cor a 9	5 (n=4)	1,3 (n=1)	ns
Ses i 1	1,2 (n=1)	1,3 (n=1)	ns

ns=no significació

Altres vegetals

Verdura

Tal com es pot observar a la **taula 35**, la sensibilització a altres vegetals com ara la sensibilització a pastanaga o a api és poc freqüent a la nostra població d'estudi de l'àrea de Barcelona. Tanmateix, sí que objectivem una major prevalença tant de la molècula de la família PR-10 Dau c 1 (marcadora de sensibilització a pastanaga, *Daucus carota*) com de la molècula també de la família PR-10 Api g 1 (marcadora de sensibilització a api, *Apium graveolens*) a la regió central d'Itàlia en comparació amb la nostra població d'estudi de l'àrea de Barcelona, objectivant-se

diferències estadísticament significatives entre ambdues poblacions d'estudi (**taula 35**).

Aquestes dades suggereixen, tal com ja s'ha discutit prèviament, que el perfil molecular dels pacients de l'àrea central d'Itàlia (majoritàriament Roma) presenten una major sensibilització a la família de les proteïnes PR-10 (patró més característic dels pacients del Nord d'Europa) en comparació amb la nostra població d'estudi [Breiteneder, 1995] [Hoffmann-Sommergruber, 1999a] [Hoffmann-Sommergruber, 1999b] [Hoffmann-Sommergruber, 2000] [Lüttkopf, 2000] [Vieths, 2002] [Wangorsch, 2007] [Bauermeister, 2009] [Ballmer-Weber, 2012] [Wangorsch, 2012] [Gepp, 2014]

Taula 35. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de sensibilització a pastanaga i api de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Dau c 1	8,7 (n=7)	0 (n=0)	p=0,008
Api g 1	12,5 (n=10)	1,3 (n=1)	p=0,006

ns=no significació

Cereals

Respecte a l'estudi comparatiu dels pacients de la nostra regió geogràfica amb els de la regió central d'Itàlia, no vàrem trobar diferències estadísticament significatives en ambdues poblacions d'estudi pel que fa al percentatge de sensibilitzacions a cap dels al·lèrgens marcadors de sensibilització a blat (**taula 36**).

Taula 36. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de sensibilització a blat de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Tri a 18	2,5 (n=2)	1,3 (n=1)	ns
Tri a gliadina	0 (n=0)	0 (n=0)	-
Tri a 19.0101	1,2 (n=1)	0 (n=0)	ns
Tri aA TI	2,5 (n=2)	0 (n=0)	ns

ns=no significació

Al·lèrgens d'aliments no vegetals

A la **taula 37** es descriuen les principals sensibilitzacions a aliments no vegetals de la població d'estudi de l'àrea geogràfica de Barcelona.

Gamba

La gamba, crustaci millor estudiat fins al moment, conté proteïnes tropomiosines considerades fins a l'actualitat els al·lèrgens principals de la gamba. Els estudis publicats fins al moment demostren que més del 85% dels pacients al·lèrgics a la gamba estan sensibilitzats a la tropomiosina [Shanti, 1993] [Daul, 1994]. Aquests mateixos resultats es corroboren a la nostra població d'estudi (**taula 37**) on trobem un percentatge encara més superior, essent del 100% [si bé cal tenir en compte que el nombre de pacients avaluats per al·lèrgia a la gamba a la nostra població d'estudi ha estat baix (n=6)].

Respecte a l'estudi comparatiu dels pacients de la nostra regió geogràfica amb els de la regió central d'Itàlia, no vàrem trobar diferències estadísticament significatives en ambdues poblacions d'estudi pel que fa al percentatge de sensibilitzacions als al·lèrgens marcadors de sensibilització a gamba (Pen a 1, Pen i 1 i Pen m 1) ni tampoc pels al·lèrgens marcadors de sensibilització a peix (Cyp c 1 ni Gad c 1) (**Taula 38**).

Taula 37. Freqüències d'aliments no vegetals a la població d'estudi de l'àrea geogràfica de Barcelona.

Font al·lèrgènica [Total pacients (n=76)]	“Skin prick- test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 103, % i nombre de pacients)	Clínica amb l'aliment (% i nombre de pacients)
Crustacis • <i>Penaeus aztecus</i> (gamba) • <i>Penaeus indicus</i> • <i>Penaeus monodon</i> (gamba)	7,9 (n=6)	1,3 (n=1)	Pen a 1 → 100 (n=6) Pen i 1 → 100 (n=6) Pen m 1 → 100 (n=6)	Tolera 70 (n=92,1) U/AE 2,6 (n=2) Anafilaxi 2,6 (n=2) Gastrointestinal 2,6 (n=2)
Peixos • <i>Gadus callaris</i> (bacallà) • <i>Cyprinus carpio</i> (carpa)	3,9 (n=3)	0 (n=0)	Gad c 1 → 1,3 (n=1) Cyp c 1 → 1,3 (n=1)	Tolera 98,7 (n=75) SAO 1,3 (n=1)
Paràsits • <i>Anisakis simplex</i>	1,3 (n=1)	0 (n=0)	Ani s 1 (n=0) Ani s 3 (n=6)	Tolera 100 (n=76)
Llet	1,3 (n=1)	0 (n=0)	Bos d 4 (n=0) Bos d 5 (n=0) Bos d 6 (n=2) Bos d 8 (n=4) Bos d lactoferrina (n=1)	Tolera 100 (n=76)
Ou	0 (n=0)	0 (n=0)	Gal d 1 → 0 (n=0) Gal d 2 → 0 (n=0) Gal d 3 → 0 (n=0) Gal d 5 → 0 (n=0)	Tolera 100 (n=76)

Taula 38. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de sensibilització a peixos i crustacis de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Cyp c 1	7,5 (n=6)	1,3 (n=1)	ns
Gad c 1	3,7 (n=3)	1,3 (n=1)	ns
Pen a 1	17,5 (n=14)	10,5 (n=8)	ns
Pen i 1	10 (n=8)	11,8 (n=9)	ns
Pen m 1	7,5 (n=6)	11,8 (n=9)	ns

ns=no significació

Altres aliments no vegetals

Pel que fa a l'anàlisi comparatiu multivariant entre els pacients de la nostra àrea Mediterrània (n=76) i els pacients polisensibilitzats de l'àrea central d'Itàlia, majoritàriament pacients provinents de Roma (n=80), tal com es detalla a la **taula 39**, no es varen observar diferències estadísticament significatives ni en els al·lèrgens marcadors de sensibilització a la proteïna de llet de vaca ni tampoc en els al·lèrgens marcadors de sensibilització a l'ou.

Taula 39. Freqüències comparatives entre les molècules marcadores de sensibilització a proteïna de llet de vaca i ou de la regió de Barcelona i de l'àrea central d'Itàlia (Roma).

Molècula	Positivitat Roma (% i nombre de pacients)	Positivitat Barcelona (% i nombre de pacients)	Significació estadística
Bos d 4	1,2 (n=1)	0 (n=0)	ns
Bos d 5	1,2 (n=1)	0 (n=0)	ns
Bos d 6	6,2 (n=5)	3,9 (n=3)	ns
Bos d 8	8,7 (n=7)	5,3 (n=4)	ns
Bos d lactoferrina	10 (n=8)	2,6 (n=2)	ns
Gal d 1	1,2 (n=1)	0 (n=0)	ns
Gal d 2	2,5 (n=2)	0 (n=0)	ns
Gal d 3	2,5 (n=2)	0 (n=0)	ns
Gal d 5	1,2 (n=1)	0 (n=0)	ns

ns=no significació

Provocacions nasals

Tal com s'ha descrit a l'apartat de metodologia, es realitzaren proves de provocació nasal específiques a extractes complets de gramínies (Laboratorios Leti) mitjançant rinometria acústica [Wihl, 1986] [Gosepath, 2005] [Valero, 2007]. Se seleccionaren 10 pacients segons les característiques detallades a la taula 1 i en tots els casos (100%), la provocació nasal va resultar ser positiva (**taula 40**). Inicialment s'havia establert seleccionar 10 pacients amb IgE específica positiva enfront els al·lèrgens del grup 1 i/o 5 de gramínies i que no estessin sensibilitzats a proteïnes polcalcines ni profilines i 10 pacients sensibilitzats a proteïnes profilines i/o polcalcines, però, sense sensibilització als al·lèrgens dels grups 1 i/o 5 de gramínies. Tanmateix, a la nostra població d'estudi tal com es pot veure a la **taula 40**, es va obtenir un menor nombre de pacients amb les característiques detallades anteriorment pel que el nombre de provocacions per a cada grup també va haver de ser menor (**taula 40**).

Taula 40. Patró molecular i resultats dels pacients en els que se'ls va realitzar una provocació nasal específica enfront l'extracte complet de gramínies.

Sensibilitzacions pol·líniques dels pacients	Nombre	Provocació nasal	Resultats
Phl p 7+	2	1	+ 1/1000 (1)
[Phl p 1/Phl p 5] + Phl p 12 +	6	3	+ 1/1000 (1) + 1/100 (2)
[Phl p 1/ Phl p 5] + Phl p 12 -	6	6	+ 1/100 (2) + 1/10 (4)

Altres resultats de l'estudi comparatiu dels patrons moleculars de sensibilització mitjançant l'ús d'al·lèrgens recombinants i naturals purificats en els pacients polisensibilitzats de Barcelona i de la regió central d'Itàlia (Roma).

Pel que fa a l'anàlisi comparatiu multivariant entre els pacients de la nostra àrea Mediterrània (n=76) i els pacients polisensibilitzats de l'àrea central d'Itàlia, majoritàriament pacients provinents de Roma (n=80), els resultats comparatius de les deu molècules més prevalents pel que fa a al·lèrgens marcadors de sensibilització a neumoal·lèrgens pol·línics, es detallen a la **taula**

41 (pels pacients de l'àrea de Roma) i a la **taula 42** (pels pacients de l'àrea de Barcelona).

D'aquests resultats el que podem dir és que respecte als al·lèrgens marcadors de sensibilització pol·línica, veiem que en ambdues poblacions d'estudi, els al·lèrgens més prevalents corresponen a molècules marcadores de sensibilització genuïna a pol·len (sobretot gramínies, olivera, cupressàcies i plataner, **taula 41** i **taula 42**). Aquestes dades reafirmen que a ambdues poblacions d'estudi, la polisensibilització detectada mitjançant proves cutànies és deguda a una veritable sensibilització al pol·len trobat, no essent atribuïble al conegut fenomen de reactivitat encreuada degut a les ja mencionades molècules marcadores de reactivitat encreuada.

Taula 41. Molècules marcadores de sensibilització a neumoal·lèrgens pol·línics més prevalents a la població de Roma.

Molècula al·lèrgènica (de major a menor freqüència)	Població Roma (% i nombre de pacients)
Cup a 1 (pectat liasa)	65 (n=52)
Phl p 1 (grup 1 de gramínies)	60 (n=48)
Ole e 1 (grup 5 d'olivera)	58,7 (n=47)
Cyn d 1 (grup 1 de gramínies)	53,7 (n=43)
Cry j 1 (pectat liasa)	51,2 (n=41)
Phl p 4 (enzim pont berberina)	42,5 (n=34)
Pla a 2 (poligalacturonasa)	33,7 (n=27)
Phl p 5 (grup 5 de gramínies)	32,5 (n=26)
Par j 2 (LTP)	31,2 (n=25)
Ole e 2 (profilina)	30 (n=24)

Taula 42. Molècules marcadores de sensibilització a neumoal·lèrgens pol·línics més prevalents a la població de Barcelona.

Molècula al·lèrgènica (de major a menor freqüència)	Població Barcelona (% i nombre de pacients)
Phl p 1 (grup 1 de gramínies)	60,5 (n=46)
Ole e 1 (grup 5 d'olivera)	52,6 (n=40)
Cyn d 1 (grup 1 de gramínies)	44,7 (n=34)
Par j 2 (LTP)	38,2 (n=29)
Cup a 1 (pectat liasa)	36,8 (n=28)
Art v 3 (LTP)	36,8 (n=28)
Cry j 1 (pectat liasa)	32,9 (n=25)
Pla a 2 (poligalacturonasa)	30,3 (n=23)
Phl p 4 (enzim pont berberina)	30,3 (n=23)
Phl p 5 (grup 5 de gramínies)	26,3 (n=20)

Respecte als al·lèrgens marcadors de sensibilització a neumoal·lèrgens no pol·línics, les deu molècules més prevalents de la regió central d'Itàlia es detallen a la **taula 43** i les deu molècules més prevalents corresponents a neumoal·lèrgens no pol·línics de la regió de Barcelona es detallen a la **taula 44**.

Les dades de la **taula 43** i **taula 44** mostren un perfil de sensibilització molt similar entre ambdues poblacions d'estudi (Roma i Itàlia) pel que fa al patró de sensibilització a neumoal·lèrgens no pol·línics. D'aquesta manera, la sensibilització a les molècules marcadors de sensibilització a epitelis (gat i gos), àcars i fongs (alternària) són les més prevalents en ambdues poblacions d'estudi.

Taula 43. Molècules marcadors de sensibilització a neumoal·lèrgens no pol·línics més prevalents a la població de Roma.

Molècula al·lèrgènica (de major a menor freqüència)	Població Roma (% i nombre de pacients)
Fel d 1 (uteroglobina)	48,7 (n=39)
Der p 1 (cisteína proteasa)	37,5 (n=30)
Der f 2 (família NPC2)	36,2 (n=29)
Der p 2 (família NPC2)	35 (n=28)
Der f 1 (cisteína proteasa)	30 (n=24)
Hev b 6 (heveïna)	30 (n=24)
Hev b 8 (profilina)	23,7 (n=19)
Can f 1 (lipocalina)	17,5 (n=14)
Alt a 1 (glicoproteïna acídica)	16,2 (n=13)
Hev b 1 (factor d'elongació del làtex)	15 (n=12)

Taula 44. Molècules marcadors de sensibilització a neumoal·lèrgens no pol·línics més prevalents a la població de Barcelona.

Molècula al·lèrgènica (de major a menor freqüència)	Població Barcelona (% i nombre de pacients)
Fel d 1 (uteroglobina)	43,4 (n=33)
Der p 2 (família NPC2)	43,4 (n=33)
Der f 2 (família NPC2)	43,4 (n=33)
Eur m 2 (família NPC2)	42,1 (n=32)
Der p 1 (cisteína proteasa)	38,2 (n=29)
Der f 1 (cisteína proteasa)	34,2 (n=26)
Can f 1 (lipocalina)	15,8 (n=12)
Alt a 1 (glicoproteïna acídica)	13,2 (n=10)
Hev b 8 (profilina)	11,8 (n=9)
Bla g 7 (tropomiosina)	11,8 (n=9)

Respecte als al·lèrgens marcadors de sensibilització a aliments, les deu molècules més prevalents d'ambdues regions, Itàlia i Barcelona, es detallen a les **taules 45 i 46**, respectivament. A ambdues poblacions d'estudi, la sensibilització a la molècula Pru p 3 (proteïna LTP del préssec) és la més prevalent. Tanmateix, pel que fa a la resta de molècules, és on possiblement trobem més diferències en els patrons de sensibilització d'ambdues poblacions d'estudi ja que a la població de Roma majoritàriament els pacients presenten sensibilització a la família de les molècules PR-10, responsables del conegut fenomen de reactivitat encreuada entre pol·len i aliments vegetals. Per contra, a la nostra àrea geogràfica (Barcelona), trobem una major prevalença de sensibilització a la família de les molècules tropomiosines, responsables del fenomen de reactivitat encreuada entre els àcars i els crustacis.

Taula 45. Molècules més prevalents marcadors de sensibilització a aliments a la població de Roma.

Molècula al·lèrgènica (de major a menor freqüència)	Població Roma (% i nombre de pacients)
Pru p 3 (LTP)	35 (n=28)
Mal d 1 (proteïna PR-10)	22,5 (n=18)
Pru p 1 (proteïna PR-10)	22,5 (n=18)
Cor a 1.0101 (proteïna PR-10)	20 (n=16)
Cor a 1.0104 (proteïna PR-10)	20 (n=16)
Pen a 1 (tropomiosina)	17,5 (n=14)
Ara h 8 (proteïna PR-10)	12,5 (n=10)
Api g 1 (proteïna PR-10)	12,5 (n=10)
Ana c 2 (CCD)	11,2 (n=9)
Act d 2 (proteïna anàloga de la taumatina)	11,2 (n=9)

Taula 46. Molècules més prevalents marcadors de sensibilització a aliments a la població de Barcelona.

Molècula al·lèrgènica (de major a menor freqüència)	Població Barcelona (% i nombre de pacients)
Pru p 3 (LTP)	39,5 (n=30)
Cor a 8 (LTP)	28,9 (n=22)
Pen i 1 (tropomiosina)	11,8 (n=9)
Pen m 1 (tropomiosina)	11,8 (n=9)
Pen a 1 (tropomiosina)	10,5 (n=8)
Act d 2 (proteïna anàloga a la taumatina)	9,2 (n=7)
Pru p 1 (proteïna PR-10)	9,2 (n=7)
Ani s 3 (tropomiosina)	7,9 (n=6)
Mal d 1 (proteïna PR-10)	6,6 (n=5)
Ara h 1 (proteïna d'emmagatzematge de llavors)	6,6 (n=5)

Capítol II

Resultats i Discussió del Capítol II

Característiques clíniques i demogràfiques de la població d'estudi.

A la **taula 47** es resumeixen les característiques clíniques i demogràfiques de la població d'estudi que recordem que inclou a 192 pacients pediàtrics sensibilitzats mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) a tres o més grups d'aliments diferents (quedant exclosos aquells pacients que només presentin sensibilització a llet i/o ou).

Taula 47. Característiques demogràfiques i clíniques de la població d'estudi.

	Nombre de pacients	Percentatge (%)
Total	192	100
Edat, anys		
• 0-5	7 (1±3)	3,65
• > 5-18	185 (12±3)	96,35
Sexe		
• Femení	78	40,6
• Masculí	114	59,4
Antecedents familiars d'atòpia		
• Sí	76	39,6
• No	25	13,0
• Desconegut	91	47,4
Al·lèrgia alimentària	192	100
• Cofactors (exercici, antiinflamatoris)	9	4,7
Rinoconjuntivitis al·lèrgica	144	75
• Intermitent lleu	27	14,1
• Intermitent moderada	17	8,9
• Intermitent greu	0	0
• Persistent lleu	2	1
• Persistent moderada	54	28,1
• Persistent greu	44	22,9
Asma al·lèrgic	120	62,5
• Episòdic ocasional	67	34,9
• Persistent lleu	28	14,6
• Persistent moderat	21	10,9
• Persistent greu	4	2,1
Altres atòpies		
• Dermatitis atòpica	83	43,2
• Al·lèrgia a medicaments	14	7,3
• Esofagitis eosinofílica	5	2,6
• Al·lèrgia a himenòpters	2	1

Una dada important a remarcar de la nostra població d'estudi és la baixa prevalença de sensibilitzacions a aliments diferents a la llet i/o ou en la població pediàtrica ≤ 5 anys essent de només el 3,65%. Per tant, tal com s'ha descrit prèviament a la literatura, la majoria de pacients sensibilitzats a més de dos aliments diferents a la llet i/o ou mitjançant proves cutànies intraepidèmiques o "skin prick-test" seran > 5 anys [Worm, 2013]. D'aquí que degut al criteri d'inclusió escollit per a seleccionar la nostra població d'estudi, les sensibilitzacions a llet i ou (ambdues més prevalents en poblacions < 5 anys) estiguin infrarepresentades a la nostra població d'estudi i conseqüentment tinguem també pocs pacients d'edat < 5 anys ja que en aquesta edat les sensibilitzacions més prevalents correspondrien a llet i a ou.

Remarcar també que només el 4,7% (n=9) dels nostres pacients pediàtrics presentaren clínica amb aliments associada a algun cofactor. Els cofactors implicats foren exercici en 6 pacients i fàrmacs antiinflamatoris en 3. Les molècules més freqüentment implicades amb aquesta entitat, al igual que ocorre en població adulta, foren les proteïnes LTP, en concret la molècula Pru p 3 del préssec, seguida de la molècula Ara h 9 del cacauet i de la molècula Tri a 14, proteïna LTP del blat. Destacar també que el 56% (n=5) dels pacients que tingueren clínica amb aliments associada a algun cofactor presentaren clínica d'anafilaxi. Per tant, a diferència del que ocorre en els adults, podem dir que a la nostra població d'estudi pediàtrica, la prevalença de clínica al·lèrgica per aliments associada a cofactors és baixa. Aquestes dades concordarien amb els escassos estudis pediàtrics publicats fins al moment referents a aquesta patologia [Inoue, 2011] [Worm, 2013].

Molècules de reactivitat encreuada

Ja que els pacients de la nostra població d'estudi eren pacients sensibilitzats a més de 2 aliments diferents, taxonòmicament no relacionats, una de les primeres dades que vam trobar interessant analitzar va ser el percentatge de molècules de RE de la nostra població d'estudi per tal de poder saber si la majoria de sensibilitzacions eren per molècules de RE o per sensibilitzacions genuïnes de les fonts al·lergèniques originals. Els percentatges de sensibilitzacions a molècules de RE es troben resumides a la **figura 37**.

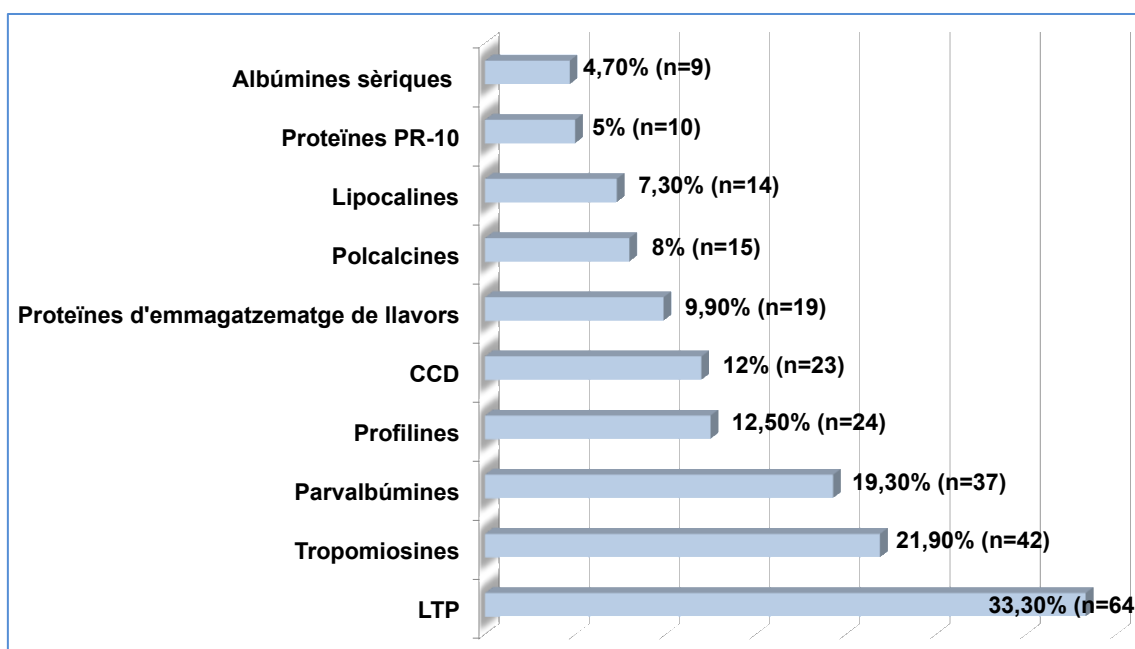


Figura 37. Percentatge de pacients sensibilitzats a molècules de RE

Proteïnes transferidores de lípids

Tenint en compte les dades de la **figura 37** veiem que una tercera part (33,30%, n=64) dels nostres pacients estan sensibilitzats a la família de molècules marcadores de RE conegudes com LTP, seguides de les molècules tropomiosines (21,90%, n=42) i parvalbúmines (19,30%, n=37). Resultats similars pel que fa al percentatge de sensibilització a molècules LTP, s'han descrit prèviament a la literatura en poblacions pediàtriques del Sud d'Europa [Scala, 2010] [Feliu, 2013]. Per contra, el percentatge de sensibilització a aquesta família de proteïnes descrit a altres regions d'Europa (Nord i Centre) seria inferior (entorn del 6,5%) [Panzner, 2014]. Tanmateix, fent una revisió exhaustiva de la literatura, en el moment actual, no es disposa d'estudis que defineixin globalment, però, a la vegada de manera detallada els diferents perfils de sensibilització molecular en població pediàtrica polisensibilitzada. Per aquest motiu, s'ha cregut oportú detallar-ho en aquest capítol.

A la **taula 48** es pot observar que la molècula més prevalent a la nostra població d'estudi és la molècula Pru p 3, LTP del préssec, seguida de la molècula Jug r 3, LTP de la nou i Pla a 3, LTP del plataner. Una altra dada a considerar és que només 5 pacients dels 192 (2,60%) presenten positivitat a les 9 molècules LTP presents a la micromatriu comercial ISAC® 112. Tanmateix, tal i com es pot veure a la **figura 38**, la majoria de pacients presenten sensibilització a dues o més molècules LTP presents a la micromatriu comercial ISAC® 112. En el moment actual no es disposen d'altres dades a la literatura per poder comparar els nostres resultats.

Taula 48. Percentatge de pacients sensibilitzats a molècules LTP.

Proteïnes transferidores de lípids	Positivitat (% i nombre de molècules)
Ara h 9	40,63 (n=78)
Art v 3	36,98 (n=71)
Cor a 8	31,25 (n=60)
Jug r 3	48,44 (n=93)
Ole e 7	22,92 (n=44)
Par j 2	17,19 (n=33)
Pla a 3	42,19 (n=81)
Pru p 3	48,96 (n=94)
Tri a 14	11,46 (n=22)

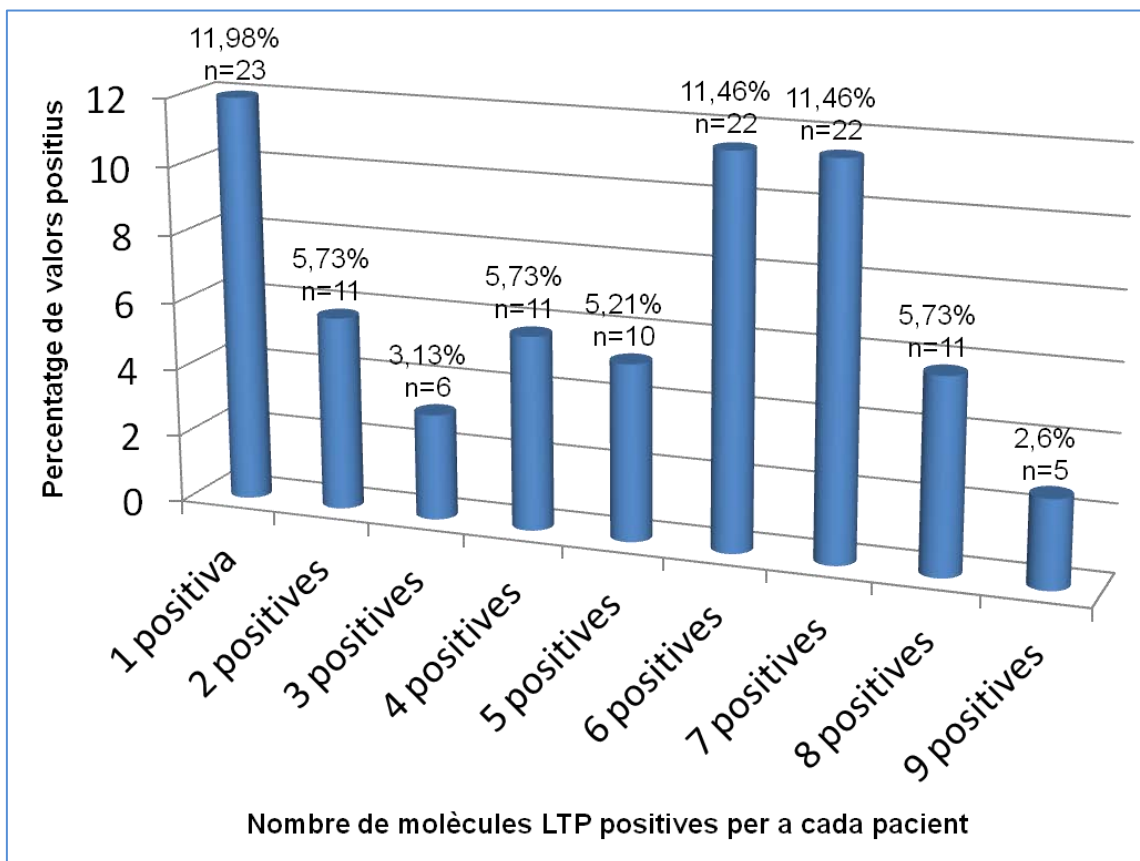


Figura 38. Percentatge de pacients i nombre de molècules de la família de proteïnes LTP positives per cada pacient.

Proteïnes tropomiosines

El millor coneixement dels perfils de sensibilització molecular enfront les molècules de la família de les tropomiosines el trobem en població asiàtica, possiblement per l'elevat consum de crustacis en aquesta regió geogràfica. Tanmateix, a la nostra població d'estudi, el percentatge de sensibilització a aquestes molècules veiem que també és bastant considerable (essent la segona molècula de RE més prevalent per darrera de les molècules LTP, **taula 37**).

Tal com es pot observar a la taula 3, Der p 10 és la molècula més prevalent a la nostra població d'estudi, amb gairebé una quarta part de pacients sensibilitzats (22,92%, n=44, **taula 49**). Si bé podríem pensar que aquesta elevada prevalença de sensibilització a molècules tropomiosines es podria explicar pel gran percentatge de sensibilització que trobem als àcars de la pols domèstica en població pediàtrica de l'àrea geogràfica de Barcelona, sembla que els

estudis publicats més recentment atribueixen la RE entre la sensibilització a crustacis i àcars de la pols domèstica a les molècules hemocianines i arginines quinases més que no pas a les molècules tropomiosines [Giuffrida, 2014]. Per tant, l'elevada prevalença de sensibilització a molècules tropomiosines de la nostra població d'estudi podria ser deguda al consum de crustacis i ser marcadors d'al·lèrgia a aquests tal com ha estat descrit prèviament per altres autors [Pascal, 2015].

Un altre punt important a considerar en aquest grup de molècules és que, a diferència dels resultats trobats amb les molècules LTP, en aquest cas, la majoria de pacients sensibilitzats a aquest grup de molècules, presenten positivitats a les 4 molècules tropomiosines presents a la micromatriu comercial ISAC® 112 (19,79%, n=38 del total de 192 pacients estudiats) pel que podem dir que l'homologia de seqüència d'aquestes quatre molècules és elevat [Fernandes, 2003] [Boquete, 2011] [Resch, 2011] [Thalayasingam, 2015] [Vidal, 2015].

Taula 49. Percentatge de pacients sensibilitzats a molècules tropomiosines.

Proteïnes Tropomiosines	Positivitat (% i nombre de molècules)
Ani s 3	20,83 (n=40)
Bla g 7	22,40 (n=43)
Der p 10	22,92 (n=44)
Pen m 1	22,40 (n=43)

Proteïnes parvalbúmines

La única parvalbúmina present a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 correspon a la molècula Gad c 1. Aquesta molècula, avui per avui, es considera un dels principals al·lèrgens responsables de l'al·lèrgia al peix, sobretot pel diagnòstic al·lèrgològic enfront el peix blanc (el qual conté més quantitat d'aquesta proteïna que no pas el peix blau [Tsabouri, 2012]). Tal com diversos autors han descrit fins al moment, sembla que la RE entre les diferents molècules d'aquesta família és bastant elevat pel que una única molècula marcador de sensibilització a parvalbúmines seria suficient per diagnosticar aquells possibles pacients al·lèrgics al peix per sensibilització a alguna de les

molècules parvalbúmines [Swoboda, 2002a] [Swoboda, 2002b] [James, 1997] [Van Do, 2005a] [Lim, 2008] [Thalayasingam, 2015]. D'aquí que l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 contingui una única molècula Gad c 1 d'aquesta família. A la **taula 50** s'objectiva el percentatge de pacients de la nostra mostra d'estudi sensibilitzats a aquesta molècula (19,27%, n=37), essent positiva en aproximadament un de cada cinc pacients, percentatge similar al descrit prèviament per altres autors [Tsabouri, 2012] [Nwaru, 2014].

Taula 50. Percentatge de pacients sensibilitzats a molècules parvalbúmines.

Proteïnes Parvalbúmines	Positivitat (% i nombre de molècules)
Gad c 1	19,27 (n=37)

Proteïnes profilines

La sensibilització a molècules profilines és la quarta sensibilització més freqüent a molècules de RE de la nostra població d'estudi (**figura 37**), essent Hev b 8 la molècula profilina més prevalent (**taula 51**). Aquest percentatge és similar al trobat recentment per altres autors com ara Panzner i els seus col·laboradors [Panzner, 2014], els quals troben un percentatge de sensibilització a molècules de la família de les profilines del 12,4%. Aquest percentatge, però, és lleugerament superior al trobat en altres treballs publicats prèviament [Scala, 2010] a regions pròximes a la nostra regió geogràfica (àrea central d'Itàlia).

Ara bé, si enlloc de realitzar l'anàlisi mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 es procedeix a estudiar la prevalença de sensibilització a molècules de la família de les profilines mitjançant la realització de proves intraepidèrmiques ("skin prick-test"), aquest percentatge podria ser major (20%) [Asero, 2010].

Respecte a aquestes molècules també destacar que trobem una correlació positiva alta estadísticament significativa entre les 4 molècules presents a la micromatriu comercial ISAC® 112 ($r=0,821$, $p<0,05$) fet que estaria en conjunció amb la majoria de dades publicades fins ara [Villalta, 2010] llevat d'un estudi realitzat recentment per Panzner el qual troba una millor correlació

entre la sensibilització a molècules marcadores de sensibilització genuïna i les seves respectives profilines que entre les mateixes profilines [Panzner, 2014].

Taula 51. Percentatge de pacients sensibilitzats a molècules profilines.

Proteïnes Profilines	Positivitat (% i nombre de molècules)
Bet v 2	12,50 (n=24)
Hev b 8	15,10 (n=29)
Mer a 1	13,02 (n=25)
Phl p 12	10,42 (n=20)

Sensibilització a molècules profilines i dermatitis atòpica

Una altra dada important a destacar de la família de molècules profilines és l'associació entre aquestes molècules i el fet de patir dermatitis atòpica. Analitzant les dades de la nostra població d'estudi s'ha objectivat una major probabilitat de patir dermatitis atòpica en els pacients sensibilitzats a les molècules profilines Mer a 1 i Hev b 8 (**equació 1**). Aquesta predicció s'ha trobat aplicant el model de regressió logística segons el mètode d'avançar condicional. Aquests resultats són importants, ja que fent una revisió de la literatura, fins al moment, no trobem estudis que hagin establert encara aquesta possible relació.

Equació 1

$$P(\text{dermatitis atòpica}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -0,373 + 0,583 * \text{Mera1} - 0,335 * \text{Hervb8}$$

Proteïnes CCD

Tal com es pot veure a la **taula 52**, a la nostra població d'estudi, la sensibilització a la única molècula de la família de proteïnes CCD, MUXF 3, és relativament freqüent, objectivant-se en més del 10% dels nostres pacients. Aquest fet té unes implicacions diagnòstiques i terapèutiques considerables ja que se sap que aquesta molècula és la responsable d'ocasionar "falses" sensibilitzacions a múltiples al·lèrgens i, per tant, sense cap tipus de rellevància clínica. Alguns autors com Panzner i els seus col·laboradors han descrit una major prevalença de sensibilització a la molècula MUXF 3 en aquells pacients sensibilitzats a components al·lèrgens naturals purificats no recombinants ja

que els components naturals purificats, a diferència dels recombinants, són els que poden contenir els CCD [Mari, 1999] [Aalberse, 2001] [Mari, 2002] [Panzner, 2014].

Taula 52. Percentatge de pacients sensibilitzats a proteïnes CCD.

Proteïnes CCD	Positivitat (% i nombre de molècules)
MUXF 3	11,98 (n=23)

Proteïnes d'emmagatzematge de llavors

La majoria de molècules presents a la micromatriu comercial ISAC® 112 de la família de les proteïnes d'emmagatzematge de llavors corresponen a fruites seques i llegums. La sensibilització a aquestes molècules de RE limitada és la sisena sensibilització més prevalent a la nostra població d'estudi (9,90%, (n=19), (taula 53).

Les molècules Jug r 1 i Jug r 2, ambdues proteïnes d'emmagatzematge de llavors de les nous de nogal, són les dues molècules d'aquest grup més freqüents a la nostra població d'estudi pediàtrica (21,88%, n=42 i 31,25%, n=60, respectivament).

El gràfic següent (**figura 39**) il·lustra molt bé l'escassa reactivitat encreuada (ja descrita prèviament per altres autors [Kulis, 2009] d'aquestes molècules, objectivant que la majoria de pacients presenten positivitat únicament a una, dues o tres molècules a la vegada i no a totes o a la majoria de molècules dels grup de les proteïnes d'emmagatzematge de llavors presents a la micromatriu comercial ISAC® 112 (a diferència del que ocorre amb altres grups de proteïnes com ara les proteïnes de la família tropomiosines o profilines).

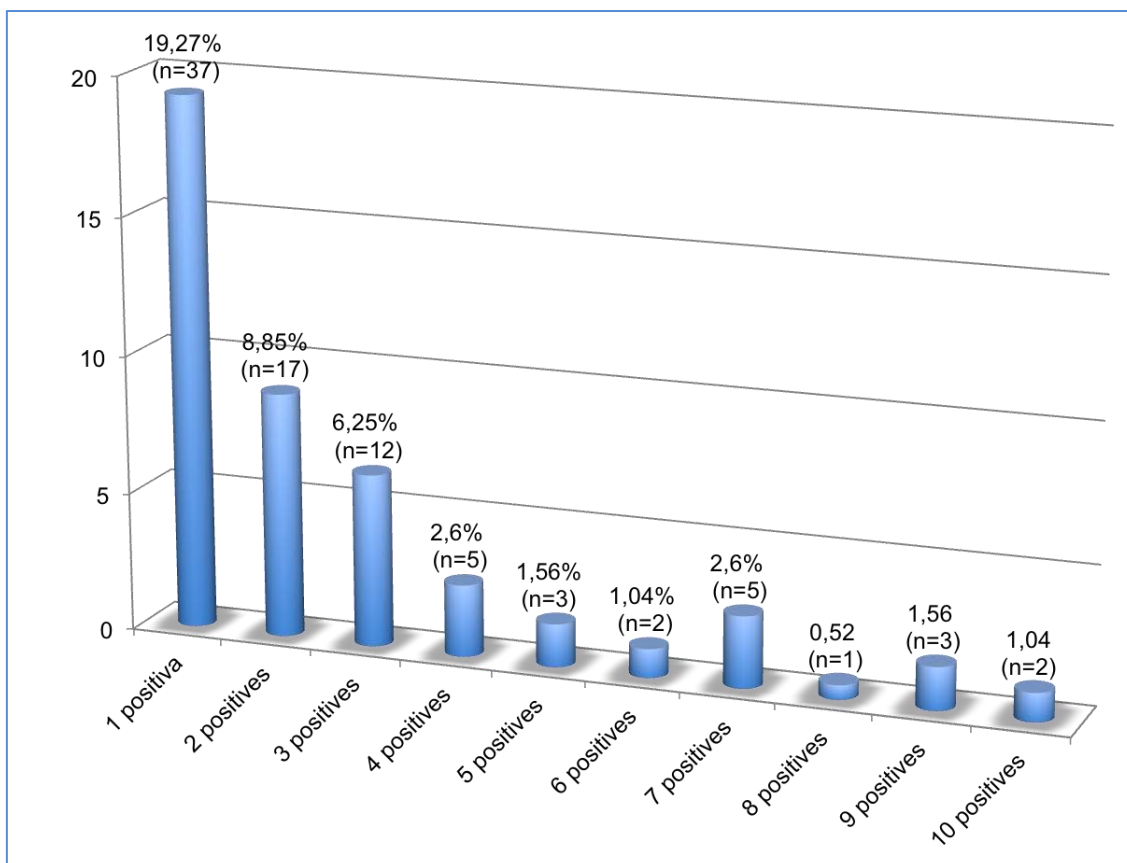


Figura 39. Percentatge de pacients i nombre de molècules de la família de proteïnes d'emmagatzematge de llavors positives per cada pacient.

Taula 53. Percentatge de pacients sensibilitzats a proteïnes d'emmagatzematge de llavors.

Proteïnes d'emmagatzematge de llavors	Positivitat (% i nombre de molècules)
Ara h 1	4,69 (n=9)
Ara h 2	8,33 (n=16)
Ara h 3	3,13 (n=6)
Ara h 6	8,33 (n=16)
Ana o 2	10,42 (n=20)
Ber e 1	2,08 (n=4)
Cor a 9	11,98 (n=23)
Fag e 2	0,52 (n=1)
Gly m 5	5,21 (n=10)
Gly m 6	10,94 (n=21)
Jug r 1	21,88 (n=42)
Jug r 2	31,25 (n=60)
Ses i 1	8,33 (n=16)

Proteïnes polcalcines

Les proteïnes polcalcines o també conegudes per proteïnes d'unió a calci, bàsicament, com s'ha descrit prèviament a la introducció, són molècules marcadores de RE entre pol·len. Per tant, això podria explicar el baix percentatge de sensibilització a aquestes proteïnes a la nostra població d'estudi (**figura 37** i **taula 54**). D'aquestes molècules bàsicament destacar que a la nostra població d'estudi, el 6,25% (n=12) dels 192 pacients estudiats presenten cosensibilització a ambdues molècules presents a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 (Bet v 4 i Phl p 7), mentre que només en el 3,65% (n=7) dels 192 pacients estudiats s'objectivaria una monosensibilització a Bet v 4 o Phl p 7 [Asero, 2011b] [Orovitg, 2011] [Villalta, 2011].

Taula 54. Percentatge de pacients sensibilitzats a proteïnes polcalcines.

Proteïnes Polcalcines	Positivitat (% i nombre de molècules)
Bet v 4	8,33 (n=16)
Phl p 7	7,81 (n=15)

Proteïnes lipocalines

Una de les dades més importants a destacar d'aquest grup de molècules és el clar predomini de sensibilització a la molècula Can f 1, lipocalina del gos (**taula 55**) a la nostra població d'estudi. Aquest al·lergen també ha estat descrit com un dels al·lèrgens principals en l'al·lèrgia a l'epiteli de gos en altres poblacions [Arbes, 2004] [Immonen, 2005] [Immonen, 2007]. Una altra dada important a considerar a la nostra població d'estudi, la qual divergiria de les dades trobades per altres autors fins al moment [Saarelainen, 2008] [Nilsson, 2012], és l'escassa reactivitat encreuada de les diferents molècules lipocalines entre elles (al igual que hem vist que passava amb les proteïnes d'emmagatzematge de llavors) ja que la majoria de pacients sensibilitzats a molècules lipocalines, presenten sensibilització a només una molècula lipocalina (16,15%, n=31). Per contra, únicament s'ha pogut objectivar sensibilització concomitant a les 5 lipocalines presents a la micromatriu comercial ISAC® 112 en un pacient (0,52%).

Taula 55. Percentatge de pacients sensibilitzats a proteïnes lipocalines

Proteïnes Lipocalines	Positivitat (% i nombre de molècules)
Bos d 5	7,29 (n=14)
Can f 1	17,19 (n=33)
Can f 2	5,73 (n=11)
Equ c 1	6,25 (n=12)
Fel d 4	4,69 (n=9)
Mus m 1	2,60 (n=5)

Proteïnes PR-10

Tal com es pot veure a la **figura 37**, el percentatge de sensibilització a aquesta família de proteïnes a la nostra població d'estudi pediàtrica és relativament baix. Cor a 1.0401 és la molècula més prevalent, seguida de la molècula Mal d 1 (**taula 56**). Aquestes dades estarien en concordança amb les descrites prèviament per altres autors, objectivant-se una major prevalença de sensibilització a aquesta família de proteïnes a les poblacions del Nord d'Europa [**Westman, 2015**]. Per altra banda, també destacar que la majoria de pacients sensibilitzats a aquest grup de molècules, presenten sensibilització a únicament una proteïna PR-10 (7,29%, n=14), mentre que únicament 3 pacients (1,56%) estan sensibilitzats a totes les proteïnes PR-10 presents a la micromatriu comercial ISAC® 112. Per tant, sembla que malgrat els estudis publicats fins al moment, a la nostra població d'estudi la RE entre aquest grup de molècules seria limitada.

Taula 56. Percentatge de pacients sensibilitzats a proteïnes PR-10.

Proteïnes PR-10	Positivitat (% i nombre de molècules)
Act d 8	2,08 (n=4)
Aln g 1	4,17 (n=8)
Api g 1	5,21 (n=10)
Ara h 8	4,69 (n=9)
Bet v 1	5,73 (n=11)
Cor a 1.0101	2,60 (n=5)
Cor a 1.0401	8,85 (n=17)
Gly m 4	5,21 (n=10)
Mal d 1	7,29 (n=14)
Pru p 1	4,17 (n=8)

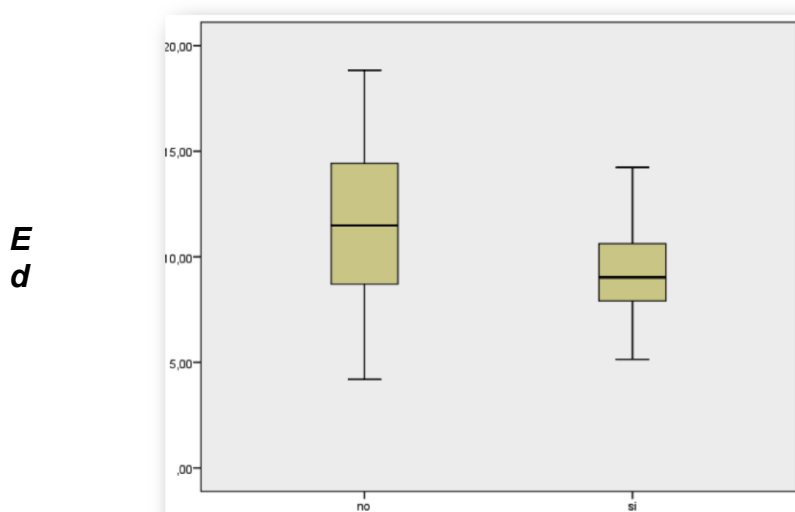
Proteïnes albúmines sèriques

La primera dada a destacar d'aquest grup de proteïnes és que a la nostra població d'estudi el percentatge de sensibilització és baix (**figura 37**). Aquest fet possiblement sigui degut al criteri d'inclusió de la població estudiada en la qual els pacients havien d'estar sensibilitzats mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques (*"skin prick-test"*) a com a mínim dos grups d'aliments diferents que no fossin llet ni ou. A la **taula 57** es resumeixen les principals sensibilitzacions de cada molècula corresponents a aquest grup.

Taula 57. Percentatge de pacients sensibilitzats a proteïnes albúmines sèriques.

Proteïnes albúmines sèriques	Positivitat (% i nombre de molècules)
Bos d 6	6,77 (n=13)
Can f 3	5,21 (n=10)
Equ c 3	2,60 (n=5)
Fel d 2	6,77 (n=13)
Gal d 5	3,13 (n=6)

Respecte a la sensibilització a proteïnes albúmines sèriques, una dada important a destacar de la nostra població d'estudi és que a major edat del pacient, menor és la sensibilització a proteïnes albúmines sèriques trobant diferències estadísticament significatives en funció de l'edat d'aquest ($p < 0,05$) (**figura 40**). Per tant, aquesta dada està clarament en conjunció amb el fet de que el percentatge de molècules albúmines sèriques a la nostra població d'estudi sigui baix ja que el nombre de pacients inclosos d'edat < 5 anys és també baix (3,65%, $n=7$).



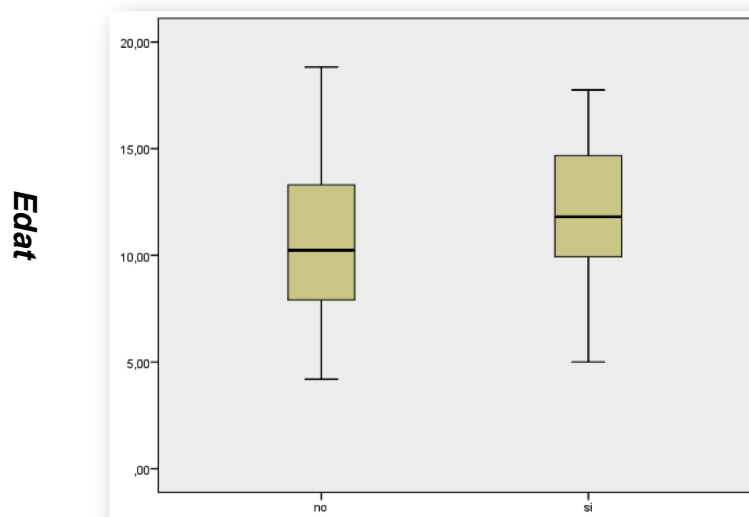
Sensibilització a proteïnes albúmines sèriques

Figura 40. Sensibilització a proteïnes de la família de les albúmines sèriques en funció de l'edat.

Una altra dada a considerar és que malgrat que la majoria d'autors han descrit important RE entre les molècules d'aquesta família [Cabanas, 2000], [Restani, 2002] [Restani, 2004], a la nostra població d'estudi, la majoria de pacients sensibilitzats a alguna de les molècules d'aquesta família presenten positivitat a una única molècula (6,77%, n=13) i en només un baix percentatge de pacients (1,56%, n=3) s'objectiva positivitat a les cinc molècules presents a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112.

Al·lèrgens d'aliments vegetals

Una de les dades més importants pel que fa a l'al·lèrgia a aliments vegetals de la nostra població d'estudi és que en el cas dels aliments vegetals, a major edat del pacient trobem un major nombre d'episodis d'anafilaxi per al·lèrgia a aquest grup d'aliments ($p < 0,05$) (figura 41).



Anafilaxi per al·lèrgia a aliments vegetals

Figura 41. Anafilaxi per al·lèrgia a aliments vegetals en funció de l'edat.

Llegums

A la **taula 58** es resumeixen els resultats de les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*), determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® i mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 així com la clínica dels dos llegums presents a la micromatriu comercial ISAC® 112 corresponents a cacauet i soja. D'ambdues lleguminoses, destacar la major prevalença de sensibilització a cacauet que a soja, malgrat que el consum de soja a la nostra població sembla ser cada vegada més elevat.

Taula 58. Sensibilitzacions mitjançant proves cutànies, determinació d'IgE específica (ImmunoCAP® i ISAC 112®) i clínica amb la ingesta dels llegums presents a la micromatriu comercial ISAC® 112.

Font al·lèrgica [Total pacients (n=192)]	“Skin prick- test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 112, % i nombre de pacients)	Clínica amb l'aliment (% i nombre de pacients)
Llegums				
• <i>Arachis hypogaea</i> (cacauet)	44,8 (n=86)	37 (n=71)	Ara h 1→4,7 (n=9) Ara h 2→ 8,3 (n=16) Ara h 3→3,1 (n=6) Ara h 6→8,4 (n=16) Ara h 8→ 4,7 (n=9) Ara h 9→ 40,6 (n=78)	Tolera 60,4 (n=116) SAO 5,2 (n=10) U/AE 10,9 (n=21) Anafilaxi 7,8 (n=15) Gastrointestinal 2,1 (n=4) Aliment no introduït 13,5 (n=26)
• <i>Glycine max</i> (soja)	8,3 (n=16)	9,9 (n=19)	Gly m 4→ 5,2 (n=10) Gly m 5→ 5,2 (n=10) Gly m 6→ 10,9 (n=21)	Tolera 94,3 (n=181) SAO 1 (n=2) U/AE 2,6 (n=5) Anafilaxi 1,6 (n=3) Gastrointestinal 0,5 (n=1)

Soja

Respecte a la sensibilització a soja, una de les dades que més ens crida l'atenció a la **taula 59** és l'elevat nombre de pacients amb valors positius de les molècules Gly m 4, Gly m 5 i Gly m 6 amb bona tolerància d'aquesta lleguminosa. El mateix ocorre si ens fixem amb els valors positius de les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) i de la determinació d'IgE específiques a l'extracte complet de soja. Aquestes dades corroboren que en població pediàtrica, al igual que s'ha vist en població adulta, sensibilització no sempre és sinònim d'al·lèrgia. Una altra dada important a considerar és que tots els pacients amb clínica per ingesta de soja (SAO, UC/AE, anafilaxi o clínica gastrointestinal) presenten valors indetectables de les molècules Gly m 4, Gly m 5 i/o Gly m 6.

Aquests resultats suggereixen que aquestes molècules presents a la micromatriu comercial ISAC® 112 sembla que, malgrat el que han publicat prèviament altres autors [Ito, 2011], els quals han considerat les molècules Gly m 5 i Gly m 6 com les més importants pel que fa a marcadors d'al·lèrgia a soja, podrien no ser bones marcadors de sensibilització a soja a la nostra població d'estudi. Un punt a tenir en compte en referència a aquesta consideració és que fins al moment no s'ha encara descrit la LTP de la soja, la qual podria estar implicada en la sensibilització a soja en els pacients de la nostra població d'estudi, per una banda, per ser una proteïna present a la majoria de lleguminoses i per altra banda per l'elevada prevalença de sensibilització a aquest grup de proteïnes a la nostra mostra d'estudi, essent la molècula Ara h 9 (LTP del cacauet), tal com es pot veure a la **taula 58**, la molècula a la que més freqüentment estan sensibilitzats els pacients sensibilitzats al cacauet de la nostra població d'estudi.

Taula 59. Clínica dels pacients segons els valors de les proves cutànies intraepidèrmiques (“skin prick-test”) i segons la determinació d’IgE específiques de la soja mitjançant el sistema ImmunoCAP® i la micromatriu comercial ISAC® 112.

Soja (IgE específica, SPT, molècula)	No clínica	SAO	UC/ AE	Anafilaxi	Gastro- intestinal	No introduït
Gly m 4						
• Indetectable	171	2	5	3	1	0
• Baix	5	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	2	0	0	0	0	0
• Molt alt	3	0	0	0	0	0
Gly m 5						
• Indetectable	171	2	5	3	1	0
• Baix	5	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	4	0	0	0	0	0
• Molt alt	1	0	0	0	0	0
Gly m 6						
• Indetectable	160	2	5	3	1	0
• Baix	9	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	11	0	0	0	0	0
• Molt alt	1	0	0	0	0	0
IgE específica						
• Negativa	3	0	0	0	1	0
• Positiva dèbil	1	0	0	0	0	0
• Positiva	13	1	2	2	0	0
“Skin prick-test”						
• Negatiu	134	2	2	2	1	0
• Positiu	12	0	3	1	0	0

Cacauet

Respecte a l'altra lleguminosa presenta actualment a la micromatriu comercial ISAC® 112, és la quarta sensibilització més prevalent a la nostra població d'estudi, per darrera de l'avellana, la nou del noguera i el préssec. A la taula 11 es pot observar que la majoria dels pacients amb proves cutànies positives front cacauet presenten positivitat de la molècula Ara h 9 (40,6%, n=78), molècula LTP del cacauet. A més a més, tal com es pot veure a la **taula 60**, a la nostra població d'estudi, la majoria de pacients amb clínica per ingesta de cacauet presenten valors majoritàriament positius front aquesta molècula (65,7%, n=23), objectivant-se un menor nombre de pacients amb clínica per ingesta de cacauet i positivitat a la resta de molècules presents a la micromatriu comercial ISAC® 112 (Ara h 1 2,85%, n=1; Ara h 2 11,4%, n=4; Ara h 3 2,85%, n=1; Ara h 6 8,6%,n=3; Ara h 8 8,6%, n=3). Aquestes dades estarien en contraposició amb les trobades fins ara per la majoria d'autors. D'aquesta manera, fins ara, sembla que les molècules Ara h 1, Ara h 2 i Ara h 3 serien les que més s'han relacionat amb l'al·lèrgia al cacauet **[Moverare, 2011]** **[Ebisawa, 2012a]** **[Lin, 2012]** **[Rosenfeld, 2012]**. Tanmateix, sembla que aquestes dades podrien ser cada cop més controvertides ja que pocs anys després d'aquests primers estudis i bastant recentment, altres autors com Agabriel **[Agabriel, 2014]**, Klemans **[Klemans, 2014]** o Pedrosa **[Pedrosa, 2015]**, descriurien els al·lèrgens Ara h 2 i Ara h 6 de cacauet com els millors predictors d'al·lèrgia a aquest i García-Blanca A. i el seu equip aniria encara una mica més enllà publicant un treball en pacients pediàtrics al·lèrgics al cacauet en el qual conclouen que els dos al·lèrgens més importants marcadors d'al·lèrgia al cacauet són Ara h 2 i Ara h 9, trobant, però, un predomini de l'al·lèrgen Ara h 2 sobre l'Ara h 9 en els pacients pediàtrics de menor edat **[García-Blanca, 2015]**. Aquest últim treball, per tant, estaria ja més en concordança amb les dades que hem trobat a la nostra població d'estudi pediàtrica on sembla que la sensibilització a Ara h 9 podria ser un al·lèrgen important i a tenir en especial consideració en els pacients al·lèrgics al cacauet **(taula 60)**.

Una altra dada important a considerar de la **taula 60** és que, tal com altres autors també han descrit prèviament **[Nicolaou, 2010]** **[Lin, 2012]** un elevat

percentatge (33,3% n=28) de pacients tolerants al cacauet presenten valors positius a les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) així com de les IgE específiques determinades mitjançant el sistema ImmunoCAP® i/o mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112. Per tant, sembla que un cop més, igual que altres autors han suggerit [Kim, 2011], ni les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) ni les proves realitzades *“in vitro”* (sistema ImmunoCAP® i/o ISAC® 112), poden avui per avui substituir la prova d'exposició oral controlada per confirmar una possible al·lèrgia o tolerància a l'aliment al qual els nostres pacients estiguin sensibilitzats degut al seu escàs valor predictiu positiu.

Taula 60. Clínica dels pacients segons els valors de les proves cutànies intraepidèrmiques (“skin prick-test”) i segons la determinació d'IgE específiques del cacauet mitjançant el sistema ImmunoCAP® i la micromatriu comercial ISAC® 112.

Cacauet (IgE específica, SPT, molècula)	No clínica	SAO	UC/ AE	Anafilaxi	Gastro- intestinal	No introduït
Ara h 1						
• Indetectable	109	10	20	15	4	25
• Baix	4	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	2	0	1	0	0	1
• Molt alt	1	0	0	0	0	0
Ara h 2						
• Indetectable	107	10	18	14	4	23
• Baix	0	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	8	0	3	1	0	3
• Molt alt	1	0	0	0	0	0
Ara h 3						
• Indetectable	111	10	21	14	4	26
• Baix	4	0	0	1	0	0
• Moderat-alt	1	0	0	0	0	0
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
Ara h 6						
• Indetectable	107	10	18	14	4	23
• Baix	0	0	0	0	0	1
• Moderat-alt	8	0	2	1	0	1
• Molt alt	1	0	1	0	0	1
Ara h 8						
• Indetectable	111	9	20	14	4	25
• Baix	2	1	1	0	0	0
• Moderat-alt	3	0	0	1	0	1
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
Ara h 9						
• Indetectable	73	7	12	7	1	14
• Baix	17	1	7	2	1	1
• Moderat-alt	25	2	2	6	2	10
• Molt alt	1	0	0	0	0	1
IgE específica						
• Negativa	1	1	1	1	0	0
• Positiva dèbil	0	0	0	0	0	0
• Positiva	23	6	12	11	1	18
“Skin prick-test”						
• Negatiu	56	2	8	1	0	4
• Positiu	28	8	12	13	4	21

Un altre punt a destacar a la nostra població d'estudi, és que, aplicant el model de regressió logística d'avançar condicional, trobem que el fet d'estar sensibilitzat a la molècula Ara h 9 (LTP del cacauet) predispesa a una major probabilitat de ser al·lèrgic als llegums en general (**equació 2**) i en concret també a la lletia (**equació 3**) i a la soja (**equació 4**). Tanmateix, pel diagnòstic d'al·lèrgia al cacauet, si s'aplica aquest mateix model, trobem que a part de la molècula Ara h 9, sembla que hi hauria també altres molècules (majoritàriament molècules de la família proteica d'emmagatzematge de llavors i molècules de la família de les LTP) que podrien conferir també un major risc de ser al·lèrgic a aquesta lleguminosa (**equació 5**).

Segons aquest anàlisi, veiem que, a part de la molècula Ara h 9, tal com han descrit prèviament altres autors a la literatura, sembla que altres molècules com ara Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3 i Ara h 6 també estarien relacionades al fet de presentar clínica al·lèrgica per la ingesta de cacauet [Nicolaou, 2010] [Movérare, 2011] [Ebisawa, 2012a] [Lin, 2012] [Pedrosa 2012] [Rosenfeld, 2012] [Hurlburt, 2013] [Agabriel, 2014] [Klemans, 2014] [Pedrosa, 2015] [García-Blanca, 2015]. A més a més, a l'**equació 5** també s'objectiva la implicació de la molècula Ara h 8 al fet de tenir un major risc per patir una reacció al·lèrgica amb la ingesta de cacauet, bé sigui manifestada en forma de SAO, descrit prèviament ja per altres autors [Hurlburt, 2013], com mitjançant reaccions sistèmiques [Glaumann, 2015]. Ara h 8 també podria estar relacionada amb la clínica per cacauet especialment a zones on l'al·lèrgia a l'abedul és prevalent [Ackerbauer, 2015].

Un altre fet que podria condicionar el patró molecular en els pacients al·lèrgics al cacauet, és que malgrat taxonòmicament està englobat dins de les lleguminoses, el fet de que contingui menys d'un 50% d'aigua i de que sigui molt ric en lípids fa que la majoria de les vegades s'englobi dins de les fruites seques i, que per tant, molts pacients i/o pares d'aquests (en el cas de la nostra població pediàtrica) considerin el cacauet com una fruita seca i no com una lleguminosa. Per tant, tal com es veurà més endavant quan s'exposin els resultats de les fruites seques, és d'esperar que els resultats trobats al nostre

estudi pel que fa al perfil molecular dels pacients al·lèrgics al cacauet s'assimili més al de les fruites seques que no pas al de les lleguminoses (**equació 5**).

Equació 2

$$P(\text{llegums}) = \frac{1}{1+e^x} \text{® On } x = -1,835 + 0,069 * \text{Arah9}$$

Equació 3

$$P(\text{lletia}) = \frac{1}{1+e^x} \text{® On } x = -2,083 + 0,084 * \text{Arah9}$$

Equació 4

$$P(\text{soja}) = \frac{1}{1+e^x} \text{® On } x = -2,971 + 0,073 * \text{Arah9}$$

Equació 5

$$P(\text{cacauet}) = \frac{1}{1+e^x} \text{® On } x = -1,032 + 0,064 * \text{Anao2} - 0,065 * \text{Cora9} + 0,025 * \text{Cora8} \\ + 0,003 * \text{Cora10} + 0,006 * \text{Jugr1} + 0,140 * \text{Jugr2} + 0,027 * \text{Jugr3} - 0,094 * \text{Sesi1} \\ - 0,255 * \text{Arah1} - 0,020 * \text{Arah2} + 0,104 * \text{Arah6} - 0,092 * \text{Arah8} - 0,130 * \text{Arah9}$$

Cereals i verdures

A la **taula 61** es resumeixen els resultats de les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*), determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® i mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 així com la clínica del blat, el fajol i l'api (respectivament els dos cereals i la única verdura) presents a la micromatriu comercial ISAC® 112. La primera dada a destacar és la baixa prevalença de sensibilització al fajol a la nostra població d'estudi amb només un pacient sensibilitzat a la molècula Fag e 2. Això possiblement sigui degut per una banda al seu escàs consum a la nostra regió geogràfica i, per tant, la baixa probabilitat de sensibilitzar-se a aquesta molècula i, per altra banda, a què és probable que sigui necessari incorporar més al·lèrgens marcadors de sensibilització del fajol a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 la qual només conté la molècula Fag e 2 (albúmina 2S de la família de les proteïnes d'emmagatzematge de llavors). Per contra, la sensibilització al blat, un cereal de major consum a la nostra regió geogràfica, és ja força més elevada i, per tant, a tenir sempre en compte quan realitzem l'estudi al·lèrgològic per aliments als pacients pediàtrics de la nostra regió geogràfica. A la **taula 61** es pot veure que la molècula més prevalent és Tri a 14, LTP del blat (11,5% i n=22). Tanmateix, val la pena examinar amb detall les dades que es descriuen a la **taula 62** (proves cutànies intraepidèrmiques, IgE

específiques i molècules del blat i del gluten). La principal dada a tenir en compte és que dels sis pacients que havien presentat algun tipus de simptomatologia per al·lèrgia al blat, únicament es va trobar positivitat a títol baix de la molècula Tri a 14 en un únic pacient que havia presentat clínica gastrointestinal. A la resta de pacients (n=5) en els què es va confirmar la simptomatologia per al·lèrgia al blat mitjançant proves d'exposició oral controlada (SAO en un pacient, UC/AE en dos pacients, anafilaxi en un pacient i clínica gastrointestinal en un altre pacient), no s'objectivà positivitat a cap de les molècules presents a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 (Tri a 14, Tri a 19.0101 ni Tri aA TI). Per tant, malgrat que tradicionalment la molècula Tri a 19.0101 (omega-5 gliadina) s'ha associat a sensibilització genuïna al blat [Battais, 2003] [Ito, 2008], a la nostra mostra d'estudi, al igual que altres autors han suggerit molt recentment [Samasca, 2015] és important investigar l'existència d'altres molècules que puguin estar implicades en la patogènia d'al·lèrgia al blat no representades a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 [Wolthers, 2012].

Una altra dada important a considerar si tenim en compte les dades descrites a la **taula 62** és que dels 22 pacients amb valors positius de la molècula Tri a 14, 21 toleren i només 1 va presentar símptomes clínics (clínica gastrointestinal). El mateix ocorre amb la resta de molècules marcadores de blat que conté la micromatriu comercial ISAC® 112 (els dos pacients sensibilitzats a Tri a 19.0101 toleren el blat sense problemes i els 8 pacients sensibilitzats a la molècules Tri aA TI també). Per tant, és molt important realitzar sempre proves d'exposició oral controlada a blat malgrat que els pacients estiguin sensibilitzats a alguna de les tres molècules del blat anteriorment descrites si poden existir dubtes diagnòstics. Si ens fixem en l'estudi al·lèrgològic realitzat als pacients de la nostra població d'estudi utilitzant les proves diagnòstiques convencionals (proves cutànies intraepidèrmiques i/o determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP®) s'observen també resultats similars als trobats en el diagnòstic molecular (valors positius en pacients que toleren el blat i el gluten) pel que aquestes dades confirmen novament l'escàs valor predictiu positiu d'aquestes proves [Ballmer-Weber, 2014] [Imai, 2014].

Finalment, destacar que tenint en compte els resultats descrits a la literatura fins ara, sembla que Tri a 14 pot ser positiva en dues situacions:

1. Per una banda a malalts amb LTP positiva a títols alts es detecta com una molècula de RE (última en freqüència dels aliments, **taula 48 [Palacin, 2012] [Pascal, 2012]**).
2. Per altra banda, en alguns pacients, Tri a 14 presenta una positivitats independent de la resta de molècules de la família LTP, essent aquesta situació a la nostra població d'estudi molt menys freqüent que la primera (n=1). Respecte a aquest segon cas, destacar que, si fem una revisió exhaustiva de la literatura, fins al moment no es disposen d'estudis que detallin els mecanismes fisiopatogènics d'aquesta situació.

Taula 61. Sensibilitzacions mitjançant proves cutànies, determinació d'IgE específica (ImmunoCAP® i ISAC 112®) i clínica amb la ingesta de la verdura i els cereals presents a la micromatriu comercial ISAC® 112.

Font al·lèrgica [Total pacients (n=192)]	“Skin prick- test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 112, % i nombre de pacients)	Clínica amb l'aliment (% i nombre de pacients)
Cereals				
• <i>Triticum aestivum</i> (blat)	3,6 (n=7)	6,8 (n=13)	Tri a 14→11,5 (n=22) Tri a 19.0101→ 1 (n=2) Tri aA TI 4,2 (n=8)	Tolera 96,4 (n=185) SAO 0,5 (n=1) U/AE 1 (n=2) Anafilaxi 0,5 (n=1) Gastrointestinal 1 (n=2) Aliment no introduït 0,5 (n=1)
• <i>Fagopyrum esculentum</i> (fajol)	No realitzat	No realitzat	Fag e 2→0,52 (n=1)	No realitzat
Verdura				
• <i>Apium graveolens</i> (api)	No realitzat	No realitzat	Api g 1→ 5,2 (n=10)	No realitzat

Taula 62. Clínica dels pacients segons els valors de les proves cutànies intraepidèrmiques (“skin prick-test”) i segons la determinació d'IgE específiques del blat i del gluten mitjançant el sistema ImmunoCAP® i la micromatriu comercial ISAC® 112.

Blat (IgE específica, SPT, molècula)	No clínica	SAO	UC/ AE	Anafilaxi	Gastro- intestinal	No introduït
Tri a 14						
• Indetectable	164	1	2	1	1	1
• Baix	13	0	0	0	1	0
• Moderat-alt	8	0	0	0	0	0
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
Tri a 19.0101						
• Indetectable	183	1	2	1	2	1
• Baix	1	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	1	0	0	0	0	0
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
Tri aA TI						
• Indetectable	177	1	2	1	2	1
• Baix	5	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	3	0	0	0	0	0
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
IgE específica gluten						
• Negativa	5	0	0	0	1	0
• Positiva dèbil	10	1	1	1	0	1
• Positiva						
IgE específica blat						
• Negativa	2	0	0	0	0	0
• Positiva dèbil	8	1	0	1	1	1
• Positiva						
“Skin prick-test” blat						
• Negatiu	157	1	1	0	2	1
• Positiu	5	0	1	1	0	0

Tanmateix, malgrat l'escassa positivitat de la molècula Tri a 14 en els pacients pediàtrics al·lèrgics al blat de la nostra població (**taula 62**), aplicant el model de regressió logística a la nostra població d'estudi utilitzant el mètode d'introduir, trobem que la molècula Tri a 14 és la que més es relacionaria amb el fet de ser al·lèrgic als cereals en general (**equació 6**) i en concret al gluten (**equació 7**) i al blat de moro, que malgrat ser un cereal sense gluten, tindria un perfil de sensibilització molecular similar a la resta de cereals (**equació 8**), probablement perquè el que ens està detectant l'ISAC® 112 són els pacients sensibilitzats a LTP a títols alts per l'elevada concentració d'LTP que conté el blat de moro [Pastorello, 2009].

Esquació 6

$$P(\text{cereals}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -2,796 - 0,022 * \text{Tri}a14$$

Equació 7

$$P(\text{gluten}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -3,611 - 0,059 * \text{Tri}a14$$

Equació 8

$$P(\text{blat de moro}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -3,449 + 0,066 * \text{Tri}a14$$

Fruites

A la **taula 63** es resumeixen els resultats de les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*), determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® i mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 així com la clínica de les tres fruites presents a la micromatriu comercial ISAC® 112 corresponents a préssec, sensibilització més prevalent a la nostra població, seguida del kiwi i de la poma (**taula 63**), amb un clar predomini de la sensibilització a la molècula Pru p 3 (LTP del préssec). Resultats similars han estat publicats prèviament per altres autors que han estudiat també població sensibilitzada al préssec del Sud d'Europa (Portugal) [**Rodrigues-Alves, 2009**]. La simptomatologia més freqüent presentada pels pacients de la nostra població d'estudi al·lèrgics a fruites va ser UC/AE seguida de la clínica d'anafilaxi (**taula 63**).

Taula 63. Sensibilitzacions mitjançant proves cutànies, determinació d'IgE específica (ImmunoCAP® i ISAC 112®) i clínica amb la ingesta de les fruites (préssec, poma i kiwi) presents a la micromatriu comercial ISAC® 112.

Font al·lèrgica [Total pacients (n=192)]	“Skin prick- test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 112, % i nombre de pacients)	Clínica amb l'aliment (% i nombre de pacients)
Fruites rosàcies				
• <i>Prunus persica</i> (préssec)	46,4 (n=89)	27,6 (n=53)	Pru p 1→ 4,2 (n=8) Pru p 3→ 49 (n=94)	Tolera 64,6 (n=124) SAO 7,3 (n=14) U/AE 15,6 (n=30) Anafilaxi 6,8 (n=13) Gastrointestinal 3,6 (n=7) Aliment no introduït 2,1 (n=4)
• <i>Malus domestica</i> (poma)	16,1 (n=31)	9,9 (n=19)	Mal d 1→7,3 (n=14)	No realitzat
Fruites no rosàcies				
• <i>Actinidia deliciosa</i> (kiwi)	33,9 (n=65)	18,2 (n=35)	Act d 1→ 17,2 (n=33) Act d 2→ 11,5 (n=22) Act d 5→ 1,5 (n=3) Act d 8→ 2,0 (n=4)	Tolera 66,1 (n=127) SAO 8,3 (n=16) U/AE 9,4 (n=18) Anafilaxi 5,2 (n=10) Gastrointestinal 2,1 (n=4) Aliment no introduït 8,9 (n=17)

Fruites rosàcies

Malgrat que la sensibilització a proteïnes LTP és la més prevalent en els pacients al·lèrgics a fruites rosàcies de la nostra població d'estudi, no es va trobar associació estadísticament significativa entre la sensibilització a la molècula Pru p 3 (LTP del préssec) i el fet de presentar clínica d'anafilaxi per aliments vegetals ($p=0,37$). Per altra banda, la majoria dels pacients amb positivitat a la molècula Pru p 3 (LTP del préssec) no només no presenten anafilaxi sinó que de fet no presenten cap tipus de simptomatologia amb la ingesta d'aquest aliment (**taula 64**). Per tant, la simple sensibilització a la molècula Pru p 3 per sí sola sembla que no seria suficient per explicar el risc de patir una reacció al·lèrgica greu (anafilaxi). Això explicaria la probable i de fet ja descrita existència d'altres factors que podrien ser els responsables de la inducció de reaccions al·lèrgiques greus en pacients sensibilitzats a molècules de la família de les proteïnes LTP. Aquest fet podria ser degut al postulat per diferents autors i pel nostre mateix grup de treball en els què sembla que la sensibilització a LTP seria un factor de risc per patir anafilaxi en presència d'altres factors com ara l'exercici, els fàrmacs antiinflamatoris i/o el consum d'alcohol, reacció que es coneix amb el nom d'anafilaxi induïda per cofactors [Bianchi, 2011] [Romano, 2012] [Cardona, 2012] [Pascal, 2012] [Miceli, 2013]

Taula 64. Clínica dels pacients segons els valors de les proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) i segons la determinació d'IgE específiques del préssec mitjançant el sistema ImmunoCAP® i la micromatriu comercial ISAC® 112.

Préssec (IgE específica, SPT, molècula)	No clínica	SAO	UC/ AE	Anafilaxi	Gastro- intestinal	No introduït
Pru p 1						
• Indetectable	122	12	30	9	7	4
• Baix	0	0	0	1	0	0
• Moderat-alt	2	1	0	1	0	0
• Molt alt	0	1	0	2	0	0
Pru p 3						
• Indetectable	66	8	15	5	1	3
• Baix	18	1	4	1	0	0
• Moderat-alt	37	5	11	7	6	1
• Molt alt	3	0	0	0	0	0
IgE específica						
• Negativa	1	2	0	2	0	0
• Positiva dèbil	0	0	0	0	0	0
• Positiva	14	7	17	8	5	2
“Skin prick-test”						
• Negatiu	67	1	5	1	0	0
• Positiu	30	13	24	11	7	4

Respecte a les fruites rosàcies, a l'anàlisi multivariant (model de regressió logística segons el mètode d'avançar condicional) s'objectiven resultats similars als descrits anteriorment: Pru p 3 no va ser rellevant respecte a la clínica per al·lèrgia a fruites rosàcies i únicament s'objectiva que el fet d'estar sensibilitzat a la molècula Mal d 1, predisposaria a una major probabilitat de ser al·lèrgic a alguna d'aquestes fruites (**equació 9**). Mal d 1 és una proteïna PR-10 de la poma, però, a la nostra població d'estudi té una prevalença de positivitat relativament baixa (n=14) pel que els resultats obtinguts en aquest anàlisi s'han d'interpretar en cura a l'hora d'extrapolar les dades.

Equació 9

$$P(\text{rosàcies}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -0,653 + 0,724 * \text{Mal d1}$$

Fruites no rosàcies

Kiwi

La única fruita no rosàcia representada a la micromatriu comercial ISAC® 112 correspon al kiwi (**taula 63**). A diferència del que han descrit prèviament altres autors [**Bublin, 2010**], a la nostra població d'estudi, malgrat ser una població polisensibilitzada, la molècula Act d 1 del kiwi és la més prevalent [17,2% (n=33)] i la que més s'associa a clínica (**taula 65**), seguida de la molècula Act d 2 [11,5% (n=22)]. Tanmateix, és important remarcar que en aquesta micromatriu comercial ISAC® 112, la molècula Act d 2 (proteïna anàloga a la taumatina del kiwi) presenta RE amb la molècula Alt a 1 de l'alternària. De fet, en només tres pacients d'aquests 22 (13,6%) la molècula Act d 2 presenta uns nivells superiors a la molècula Alt a 1. Per tant, la rellevància clínica de la molècula Act d 2 a la nostra població d'estudi es podria considerar limitada. Per altra banda, la prevalença de sensibilització a la resta de molècules marcadores de sensibilització al kiwi presents a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 també és baixa ja que s'objectiven només tres pacients (1,5%) positius a la molècula Act d 5 (kiwelina del kiwi) i quatre pacients (2%) positius a la molècula Act d 8 (molècula de la família PR-10 del kiwi).

Ara bé, segons dades publicades en un interessant estudi de Le i els seus col·laboradors [**Le, 2013**] realitzat en població de tot Europa, sembla que a la nostra regió geogràfica (Sud d'Europa), la sensibilització més prevalent hauria de ser front les molècules Act d 9 (profilina del kiwi amb un percentatge mig de positivitat en població del Sud d'Europa del 31%), seguida de la molècula Act d 10 (LTP del kiwi amb un percentatge mig de positivitat en aquesta mateixa població del 22%) [**Le, 2013**]. Per tant, donat que l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 disposa d'altres molècules profilines i LTP, de manera indirecta ja estaríem detectant la sensibilització a aquestes molècules profilines (Act d 9) i LTP (Act d 10) [**Le, 2013**] [**Nilsson, 2015**]. Una altra molècula a tenir en compte que podria ser interessant incorporar és la molècula Act d 3 (funció biològica desconeguda a l'actualitat) ja que, conjuntament amb l'Act d 1, són les que s'han associat més freqüentment a reaccions al·lèrgiques greus per kiwi [**Palacin, 2008**] [**Ballmer-Weber, 2011**].

Respecte a la taula 18, també és important remarcar la baixa sensibilitat de les proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) ja que el 21% (n=10) dels pacients al·lèrgics al kiwi presente proves cutànies negatives. Resultats similars han estat descrits prèviament per altres autors [Bublin, 2010] [Le, 2013]. Per tant, la baixa sensibilitat dels mètodes diagnòstics convencionals justificaria encara més definir de manera molt concreta el perfil molecular de sensibilització al kiwi a la nostra àrea geogràfica per tal d’aconseguir la màxima sensibilitat diagnòstica.

Taula 65. Clínica dels pacients segons els valors de les proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) i segons la determinació d’IgE específiques del kiwi mitjançant el sistema ImmunoCAP® i la micromatriu comercial ISAC® 112.

kiwi (IgE específica, SPT, molècula)	No clínica	SAO	UC/ AE	Anafilaxi	Gastro- intestinal	No introduït
Act d 1						
• Indetectable	105	13	15	7	4	15
• Baix	4	1	2	2	0	0
• Moderat-alt	18	1	1	1	0	2
• Molt alt	0	1	0	0	0	0
Act d 2						
• Indetectable	109	15	16	10	3	17
• Baix	6	1	1	0	1	0
• Moderat-alt	12	0	1	0	0	0
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
Act d 5						
• Indetectable	126	15	18	9	4	17
• Baix	0	1	0	1	0	0
• Moderat-alt	1	0	0	0	0	0
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
Act d 8						
• Indetectable	125	15	17	10	4	17
• Baix	0	1	1	0	0	0
• Moderat-alt	2	0	0	0	0	0
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
IgE específica						
• Negativa	1	2	0	0	0	2
• Positiva dèbil	0	0	0	0	0	0
• Positiva	7	6	9	7	0	6
“Skin prick-test”						
• Negatiu	82	4	3	3	0	5
• Positiu	15	12	15	7	4	12

En el cas del kiwi, s’ha també procedit a la realització de l’anàlisi multivariant mitjançant el model de regressió logística utilitzant el mètode per introduir. Les

dades obtingudes es resumeixen a l'**equació 10**. Sembla que les molècules que millor marcarien la probabilitat de ser al·lèrgic al kiwi serien la pròpia molècula del kiwi Act d 1, però, també altres molècules com Api g 1 i Pru p 1 (ambdues molècules de la família de les proteïnes PR-10) i Pru p 3 (molècula de la família de les proteïnes LTP).

Equació 10

$$P(\text{kiwi}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -1,208 + 0,084 * \text{Actd1} \\ + 0,019 * \text{Apig1} - 0,008 * \text{Prup1} + 0,030 * \text{Prup3}$$

Per altra banda, si analitzem quines molècules estarien més implicades en la clínica al·lèrgica per fruites no rosàcies en general (és a dir, no centrant-nos només amb el kiwi), aplicant novament el model de regressió logística utilitzant el mètode per introduir a la nostra població d'estudi, es troba que són les molècules de reactivitat encreuada: proteïnes LTP i les PR-10, junt amb les molècules del kiwi Act d 1 (cisteïna proteasa) i Act d 2 (proteïna anàloga de la taumatina) les que més predisposen a patir al·lèrgia a alguna fruita no rosàcies (**equació 11**).

Equació 11

$$P(\text{fruites no rosàcies}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -0,496 + 0,029 * \text{Actd1} - 0,467 * \text{Actd2} \\ - 0,053 * \text{Apig1} - 0,506 * \text{Mald1} + 0,839 * \text{Prup1} + 0,034 * \text{Prup3}$$

Cucurbitàcies

Altres fruites no rosàcies no representades a la micromatriu comercial ISAC® 112, però, no per això no importants a la nostra població d'estudi són les fruites de la família cucurbitàcia. Tot i que la micromatriu comercial ISAC® 112 no disposa de cap molècula pròpiament marcadora de sensibilització a aquest grup de fruites, per la no despreciable prevalença d'al·lèrgia a aquestes fruites a la nostra població d'estudi, es va creure oportú realitzar un anàlisi multivariant per intentar definir quines molècules presents a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 podrien ser predictives d'al·lèrgia a les fruites cucurbitàcies. Amb aquesta finalitat, es va aplicar el model de regressió logística segons el mètode d'avançar condicional, objectivant-se que el fet d'estar sensibilitzat a la molècula Pru p 3, predisposa a una major probabilitat de ser al·lèrgic al meló (**equació 12**). I, si a aquesta molècula l'hi afegim les molècules Act d 5 i Mal d 1, l'associació d'aquestes tres molècules predisposaria a una major probabilitat de ser al·lèrgic a la síndria (**equació 13**).

Equació 12

$$P(\text{meló}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -1,604 + 0,044 * \text{Pr up3}$$

Equació 13

$$P(\text{síndria}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -2,584 + 4,158 * \text{Actd5} + 0,072 * \text{Mald1} + 0,049 * \text{Pr up3}$$

Malgrat que la clínica deguda a la ingesta de fruites de la família de les cucurbitàcies (meló i síndria) s'ha associat sobretot a sensibilització a molècules de la família de les profilines [Vieira, 2014], els nostres resultats es poden justificar degut a què la nostra població d'estudi, en ser població pediàtrica d'una mostra de pacients del Sud d'Europa, on s'ha demostrat una major sensibilització a molècules de la família LTP [Boyano-Martínez, 2013], essent també a la nostra població major la sensibilització a molècules LTP que no pas profilines [33,3% (n=64) i 12,5% (n=24), respectivament], és possible que la LTP que ens està detectant la micromatriu comercial ISAC® 112 (Pru p 3) sigui deguda al fenomen de RE d'aquesta LTP amb l'LTP del meló (Cuc m LTP) o de la síndria (fins a l'actualitat encara no descrita). Tanmateix, tal com es pot veure a la **taula 66**, en no disposar d'un elevat de nombre de pacients sensibilitzats a aquestes fruites, els resultats obtinguts en aquest anàlisi s'han

d'interpretar en cura a l'hora d'extrapolar les dades. De totes maneres, si analitzem en detall la **taula 66**, s'observa que la majoria de pacients amb clínica al·lèrgica per ingesta de meló presenten una major positivitat de proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) enfront la molècula LTP (Pru p 3, 30 µg/mL; n= 17, 77%) que enfront la molècula profilina (Pho d 2, 50 µg/mL, n=8, 38%). Per tant, aquestes dades també estarien en concordança amb les trobades a l'**equació 12**.

Taula 66. Clínica dels pacients segons els valors de les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) i segons la determinació d'IgE específiques del meló mitjançant el sistema ImmunoCAP® i la micromatriu comercial ISAC® 112.

Meló (IgE específica, SPT, molècula)	No clínica	SAO	UC/ AE	Anafilaxi	Gastro- intestinal	No introduït
IgE específica meló						
• Negativa						
• Positiva	2	2	0	2	0	0
• Positiva dèbil	2	0	0	0	0	0
• Positiva	8	7	1	1	1	3
<i>“Skin prick-test”</i> meló (Pho d 2, 50 µg/mL)						
• Negatiu	107	8	5	2	0	2
• Positiu	16	12	3	3	1	3
<i>“Skin prick-test”</i> profilina						
• Negatiu	56	8	4	1	0	3
• Positiu	16	4	1	2	1	1
<i>“Skin prick-test”</i> LTP (Pru p 3, 30 µg/mL)						
• Negatiu	28	3	2	0	0	1
• Positiu	44	9	3	4	1	3

Fruites seques

A la **taula 67** es resumeixen els resultats de les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*), determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® i mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 així com la clínica de les cinc fruites seques presents a la micromatriu comercial ISAC® 112 corresponents a la nou de noguera, avellana, nou de Brasil, anacard i sèsam.

La principal dada a tenir en compte en analitzar l'al·lèrgia a fruites seques és que bàsicament ens podem trobar davant de dos patrons de sensibilització diferents:

1. Per una banda, els pacients al·lèrgics a fruites seques poden estar sensibilitzats predominantment a molècules de les fruites seques de la família de proteïnes LTP. Se sap que aquests pacients és més probable que presentin al·lèrgia a més d'una fruita seca per la RE existent entre les molècules de la família LTP de les diferents fons al·lèrgèniques (en aquest cas fruites seques) **[Scala, 2015]**.
2. Per altra banda, els pacients al·lèrgics a fruites seques poden estar sensibilitzats majoritàriament a molècules de la família de proteïnes d'emmagatzematge de llavors **[Rosenfeld, 2012]**. En aquest cas s'ha vist que, ja que sembla que aquestes molècules presenten una RE limitada entre elles, és probable que un pacient al·lèrgic a fruites seques en el que s'objectivi un patró molecular de sensibilització majoritàriament degut a aquestes proteïnes, pugui tolerar altres fruites seques a les quals no estigui sensibilitzat.

Fruites seques

Taula 67. Sensibilitzacions mitjançant proves cutànies, determinació d'IgE específica (ImmunoCAP® i ISAC 112®) i clínica amb la ingesta de fruites seques (avellana, sèsam, anacard, nou del Brasil i nou de la noguera) presents a la micromatriu comercial ISAC® 112.

Font al·lergènica [Total pacients (n=192)]	“Skin prick- test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 112, % i nombre de pacients)	Clínica amb l'aliment (% i nombre de pacients)
Fruites seques				
• <i>Corylus avellana</i> (avellana)	49,5 (n=95)	35,4 (n=68)	Cor a 8→31,2 (n=60) Cor a 9→12 (n=23) Cor a 1.0101→ 2,6 (n=5) Cor a 1.0401→ 8,9 (n=17)	Tolera 58,9 (n=113) SAO 5,2 (n=10) U/AE 12,5 (n=24) Anafilaxi 7,3 (n=14) Gastrointestinal 2,1 (n=4) Aliment no introduït 14,1 (n=27)
• <i>Sesamum indicum</i> (sèsam)	No realitzat	No realitzat	Ses i 1→8,4 (n=16)	Tolera 97,9 (n=188) U/AE 1 (n=2) Anafilaxi 0,5 (n=1) Aliment no introduït 0,5 (n=1)
• <i>Anacardium occidentale</i> (anacard)	No realitzat	No realitzat	Ana o 2→10,4 (n=20)	No realitzat

<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bertholletia excelsa</i> (nou de brasil) 	No realitzat	3,1 (n=6)	Ber e 1→ 2,1 (n=4)	Tolera 64,6 (n=145) SAO 3,1 (n=1) U/AE 5,2 (n=2) Anafilaxi 4,2 (n=1) Gastrointestinal 1 (n=1) Aliment no introduït 21,9 (n=42)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Juglans regia</i> (nou de noguera) 	49 (n=94)	38,1 (n=73)	Jug r 1→21,9 (n=42) Jug r 2→31,2 (n=60) Jug r 3→48,4 (n=93)	Tolera 55,2 (n=106) SAO 5,2 (n=10) U/AE 14,1 (n=27) Anafilaxi 9,9 (n=19) Gastrointestinal 1,6 (n=3) Aliment no introduït 14,1 (n=27)

Nou de noguera

La sensibilització a nou de noguera és la segona sensibilització més prevalent a la nostra població d'estudi per darrera del préssec (**taula 67**). Aquests resultats no concorden amb els publicats a la literatura fins al moment, els quals descriuen l'avellana com la fruita seca més prevalent en població Europea [McWilliam, 2015]. Tanmateix, la majoria d'estudis publicats fins ara han estat realitzats fora de la nostra regió geogràfica pel que les dades no serien extrapolables. Malauradament, a l'actualitat no es disposen d'estudis de prevalença a fruites seques a la nostra regió geogràfica per poder fer l'estudi comparatiu. D'aquí també la importància d'aquest treball realitzat en pacients de la nostra regió geogràfica.

Una altra dada a considerar és que la simptomatologia més freqüent presentada pels pacients de la nostra població d'estudi al·lèrgics a la nou de noguera és l'UC/AE seguida de la clínica d'anafilaxi (**taules 67**).

Respecte al perfil molecular, la sensibilització a la molècula Jug r 3 és la més prevalent a la nostra població (48,4%, n=93; LTP de la nou de noguera), seguida de la sensibilització a Jug r 2 (31,2%, n=60), essent la sensibilització a Jug r 1 (21,9%, n=42) la menys prevalent (**taules 67 i 68**). Una altra dada important a considerar si analitzem en detall la **taula 68** és que, a la nostra població d'estudi, la molècula que més es relaciona amb el fet de presentar clínica per al·lèrgia a la nou de noguera és la molècula Jug r 3 amb gairebé la meitat dels casos (47,5%, n=28), seguida de la molècula Jug r 2 (39%, n=23). Remarcar que a la nostra població d'estudi, la molècula Jug r 1 és la que es relaciona menys amb el risc de patir simptomatologia clínica per al·lèrgia a la nou de noguera (15,2%, n=9). Aquestes dades estarien en concordança amb les trobades per Pastorello i els seus col·laboradors en població pediàtrica italiana [Pastorello, 2004]. Recentment Archila i el seus col·laboradors han remarcat la importància de la molècula Jug r 2 en l'al·lèrgia a la nou de noguera [Archila, 2015] [Costa, 2014] [Teuber, 1999], si bé a l'actualitat les referències bibliogràfiques referents a aquest al·lèrgen en població pediàtrica són bastant limitades.

Una altra dada important a tenir en compte és que a la **taula 68** s'objectiva un elevat nombre de pacients amb valors indetectables de les 3 molècules marcadores de sensibilització a la nou de noguera presents a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 (Jug r 1, Jug r 2 i Jug r 3), però, que presente clínica per al·lèrgia a la nou de noguera. Per tant, tal com va suggerir ja Asero i els seus col·laboradors, pel diagnòstic d'al·lèrgia a la nou, és probable que sigui necessari definir i potser fins i tot incorporar altres molècules a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 que puguin explicar la simptomatologia en els pacients al·lèrgics a la nou de noguera [Asero, 2013]. Per contra, també ens trobem amb la situació contrària amb un elevat nombre de determinacions amb valors moderats o alts de les molècules Jug r 1, Jug r 2 i/o Jug r 3 que toleren adequadament la nou (33%, n=105). Per tant, d'aquests resultats podem remarcar un cop més la importància de realitzar proves d'exposició controlada en aquells pacients que mostrin sensibilització a algun dels components moleculars sense causalitat clínica clara.

Taula 68. Clínica dels pacients segons els valors de les proves cutànies intraepidèrmiques (“skin prick-test”) i segons la determinació d’IgE específiques de nou de noguera mitjançant el sistema ImmunoCAP® i la micromatriu comercial ISAC® 112.

Nou de noguera (IgE específica, SPT, molècula)	No clínica	SAO	UC/ AE	Anafilaxi	Gastro- intestinal	No introduït
Jug r 1						
• Indetectable	83	9	22	14	1	21
• Baix	3	0	1	1	0	0
• Moderat-alt	13	1	3	3	1	3
• Molt alt	7	0	1	1	1	3
Jug r 2						
• Indetectable	76	7	19	10	0	20
• Baix	12	2	3	3	1	4
• Moderat-alt	18	1	5	6	2	3
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
Jug r 3						
• Indetectable	53	7	15	9	0	15
• Baix	23	0	6	3	0	1
• Moderat-alt	29	3	6	7	3	10
• Molt alt	1	0	0	0	0	1
IgE específica						
• Negativa	2	0	1	0	1	0
• Positiva dèbil	2	0	1	0	0	0
• Positiva	16	7	15	15	0	17
“Skin prick-test”						
• Negatiu	48	1	7	2	0	4
• Positiu	26	9	19	16	3	21

Avellana

Tradicionalment l'avellana ha estat descrita com una de les fruites seques que més patologia al·lèrgica ocasiona a la població pediàtrica Europea [McWilliam, 2015]. Tanmateix, a la nostra població d'estudi veiem que és la segona fruita seca més prevalent per darrera de la nou de noguera (taula 67).

Un altre punt a considerar és que la simptomatologia més freqüent presentada pels pacients de la nostra població d'estudi al·lèrgics a la nou de noguera és l'UC/AE seguida de la clínica d'anafilaxi i de la SAO (taules 67).

Respecte al perfil molecular, la sensibilització a la molècula Cor a 8, LTP de l'avellana, és la més prevalent a la nostra població (31,2%, n=60), seguida de la sensibilització a Cor a 9 (12%, n=23), essent la sensibilització a les molècules marcadores de RE de la família de les PR-10, Cor a 1.0401 (8,9%, n=17) i Cor a 1.0101 (2,6%, n=5) les menys prevalents (taules 67 i 69). La baixa prevalença de sensibilització a aquestes molècules Cor a 1.0101 i Cor a 1.0401 de la família de les PR-10 és fàcilment explicable degut a l'escassa sensibilització a la nostra població d'estudi d'aquesta família, essent molt més prevalent en població del Nord d'Europa on la sensibilització a les betulàcies és molt més freqüent [Pastorello, 2002a] [Hansen, 2009].

Una altra dada important a considerar si analitzem en detall la taula 69 és que, a la nostra població d'estudi, la molècula que més es relaciona amb el fet de presentar clínica per al·lèrgia a la nou de noguera és la molècula Cor a 8 (30,8%, n=16), seguida de la molècula Cor a 9 (15,4%, n=8). Aquestes dades estarien en concordança amb les trobades per altres autors [Datema, 2015]. De la taula 69 també destaca que cap dels pacients al·lèrgics a l'avellana presenten nivells alts de les molècules marcadores de sensibilització a avellana presents a la micromatriu comercial ISAC® 112, objectivant-se només nivells baixos o moderats-alts. Aquestes dades suggereixen que no és necessari presentar nivells elevats de les molècules marcadores de sensibilització a avellan per desenvolupar símptomes clínics.

Una altra dada important a remarcar és que un percentatge molt considerable de pacients que presenten clínica al·lèrgica per ingesta d'avellana mostren nivells indetectables de les quatre molècules presents a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112. En concret, el 69,2% (n=36) dels pacients al·lèrgics a avellana per la molècula Cor a 8, el 84,6% (n=44) per la molècula Cor a 9, el 92,3% (n=48) per la molècula Cor a 1.0401 i el 98,1% (n=51) per la molècula Cor a 1.0101. Aquestes dades suggereixen que probablement les molècules presents a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 no són suficients pel diagnòstic d'al·lèrgia a l'avellana. És probable que, tal com altres autors han suggerit prèviament **[Faber, 2014]**, sigui necessari incorporar noves molècules com ara per exemple la molècula Cor a 14, albúmina 2S de l'avellana a aquesta micromatriu per tal d'aconseguir una millor sensibilitat diagnòstica **[Beyer, 2015]**.

Per tant, tal com es pot veure a la **taula 69** i tal com altres autors han descrit prèviament **[Masthoff, 2014]**, sembla que, avui per avui, les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) tindrien una millor sensibilitat diagnòstica a la nostra població pediàtrica d'estudi en comparació amb l'actual micromatriu comercial ISAC® 112, objectivant-se una sensibilitat d'aquests del 90,2% (n=46). Si bé és cert, que a l'actualitat existeixen treballs publicats que suggereixen just el contrari **[Kattan, 2014]**.

Com a última dada a destacar dels patrons moleculars de sensibilització a avellana, tal i com es pot veure a la **taula 69**, destacar que del total de 50 pacients que mostren positivitat de la molècula Cor a 8, més de la meitat dels pacients [56,7% (n=34)] no presenten clínica. El mateix ocorre per la molècula Cor a 9 [60,9% (n=14) dels 22 pacients que mostren positivitat front aquesta molècula], la molècula Cor a 1.0101 80% (n=4) dels 5 pacients que mostren positivitat front aquesta molècula i per la molècula Cor a 1.0401 [52,9% (n=9) dels 13 pacients que mostren positivitat front aquesta molècula]. Per tant, el nombre de falsos positius és elevat i com ja s'ha comentat anteriorment, sensibilització no sempre és sinònim d'al·lèrgia. D'aquí que el patró d'or avui per avui continuï essent la prova d'exposició oral controlada **[Vlieg-Boerstra, 2004]** **[Cochrane, 2012]** .

Taula 69. Clínica dels pacients segons els valors de les proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) i segons la determinació d’IgE específiques d’avellana mitjançant el sistema ImmunoCAP® i la micromatriu comercial ISAC® 112.

Avellana (IgE específica, SPT, molècula)	No clínica	SAO	UC/ AE	Anafilaxi	Gastro- intestinal	No introduït
Cor a 8						
• Indetectable	79	7	20	7	2	17
• Baix	14	2	2	1	0	2
• Moderat-alt	18	1	2	6	2	8
• Molt alt	2	0	0	0	0	0
Cor a 9						
• Indetectable	99	10	20	10	4	26
• Baix	6	0	3	3	0	0
• Moderat-alt	8	0	1	1	0	1
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
Cor a 1.0101						
• Indetectable	109	9	24	14	4	27
• Baix	1	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	3	1	0	0	0	0
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
Cor a 1.0401						
• Indetectable	104	8	22	14	4	23
• Baix	5	1	2	0	0	1
• Moderat-alt	1	1	0	0	0	3
• Molt alt	3	0	0	0	0	0
IgE específica						
• Negativa	3	0	2	0	0	1
• Positiva dèbil	1	0	0	0	0	0
• Positiva	16	5	13	12	2	19
“Skin prick-test”						
• Negatiu	53	1	3	1	0	3
• Positiu	27	9	21	12	4	22

Anacard

Respecte a l'anacard, comentar que, tal com es pot veure a la **taula 67**, el percentatge de sensibilització a la molècula Ana o 2, corresponent a una globulina 11S de la família de proteïnes d'emmagatzematge de llavors, és del 10,4% (n=20). Per tant, és la tercera sensibilització a fruita seca més prevalent a la nostra població d'estudi si tenim en compte el diagnòstic molecular (per darrera de la nou de noguera i de l'avellana). Per tant, d'aquestes dades podem dir que caldria incorporar aquesta fruita seca al diagnòstic al·lergològic convencional realitzat fins ara [proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) i determinació d'IgE específica mitjançant el sistema ImmunoCAP®] per tal d'aconseguir una millor sensibilitat diagnòstica amb els mètodes tradicionals [Wang, 2003] [Comstock, 2008].

Sèsam

A la **taula 67 i 70** podem veure que la clínica per sèsam a la nostra població pediàtrica és molt poc freqüent. De fet, al igual que hem vist que ocorre amb altres aliments, dels 16 pacients que presenten valors positius de la molècula Ses i 1, marcadora de sensibilització a sèsam, 14 d'ells (87,5%) el toleren sense problemes. Per altra banda, dels 3 pacients que havien presentat clínica per al·lèrgia al sèsam, només un presenta positivitat de la molècula Ses i 1, essent negativa en els altres dos (**taula 70**). Per tant, és probable que a la nostra població d'estudi hi hagi altres molècules diferents al Ses i 1 implicades en la patogènia per al·lèrgia al sèsam [Beyer, 2002] [Navuluri, 2006].

Taula 70. Clínica dels pacients segons la determinació d'IgE específiques de sèsam mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112.

Sèsam (IgE específica, SPT, molècula)	No clínica	SAO	UC/ AE	Anafilaxi	Gastro- intestinal	No introduït
Ses i 1						
• Indetectable	174	0	1	1	0	0
• Baix	3	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	8	0	1	0	0	1
• Molt alt	3	0	0	0	0	0

Nou de Brasil

Finalment, destacar que la sensibilització menys prevalent pel que fa a fruites seques a la nostra població d'estudi correspon a la molècula Ber e 1, marcadora de sensibilització a la nou de Brasil amb només 4 pacients sensibilitzats a aquesta molècula i 5 pacients amb simptomatologia clínica deguda a aquesta fruita seca (**taula 67 i 71**). Probablement aquesta escassa sensibilització sigui deguda al seu encara escàs consum, en comparació amb altres fruites seques, a la nostra àrea geogràfica.

Una altra dada interessant a considerar si ens fixem amb la **taula 71** és que dels 5 pacients amb simptomatologia clínica per ingesta de nou de Brasil, només un pacient presenta positivitats de la única molècula marcadora de sensibilització a nou de Brasil que conté l'actual micromatriu comercial ISAC® 112, Ber e 1, albúmina 2S. Per tant, és probable que calguin altres molècules per aconseguir un millor diagnòstic al·lèrgològic front la nou de Brasil, tot i que fins a l'actualitat, Ber e 1 ha estat considerat un dels al·lèrgens principals d'aquesta [Dearman, 2007] [Van Boxtel, 2008]. Tanmateix, els escassos casos de què disposem a la nostra població d'estudi, fan que els nostres resultats s'hagin de prendre amb cautela.

Taula 71. Clínica dels pacients segons els valors de les proves cutànies intraepidèrmiques (“skin prick-test”) i segons la determinació d'IgE específiques de la nou de Brasil mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112.

Nou de Brasil (IgE específica, SPT, molècula)	No clínica	SAO	UC/ AE	Anafilaxi	Gastro- intestinal	No introduït
Ber e 1						
• Indetectable	143	1	1	1	1	41
• Baix	1	0	1	0	0	1
• Moderat-alt	1	0	0	0	0	0
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
IgE específica						
• Negativa	1	0	0	0	0	2
• Positiva dèbil	0	0	0	0	0	0
• Positiva	2	0	2	1	0	1

Tenint en compte l'elevat percentatge de sensibilització i clínica al·lèrgica de les fruites seques a la nostra població d'estudi pediàtrica, es va creure oportú realitzar l'anàlisi multivariant aplicant el model de regressió logística utilitzant el mètode d'introduir. Els resultats obtinguts es resumeixen a l'**equació 14**.

Bàsicament el que s'objectiva és que a la nostra població d'estudi, la sensibilització a les molècules de la família de les proteïnes d'emmagatzematge de llavors (Ana o 2, Ara h 1, Ara h 2, Ara h 6, Cor a 9, Jug r 1, Jug r 2, Ses i 1) és la que millor explicaria l'al·lèrgia a les fruites seques en general.

Si analitzem cada fruita seca per separat, veiem que els resultats serien també molt similars (**equacions 15, 16, 17 i 18**). En el cas de l'al·lèrgia a la nou de noguera, les proteïnes d'emmagatzematge de llavors (Ana o 2, Cor a 9, Jug r 1, Jug r 2, Ses i , Ara h 1, Ara h 2, Ara h 6), seguides de les proteïnes LTP (Ara h 9, Cor a 8 i Jug r 3) serien les que millor podrien predir el risc de ser al·lèrgic a aquesta (**equació 15**).

Respecte a l'avellana, la probabilitat de ser al·lèrgic a aquesta també es relacionaria bàsicament amb el fet d'estar sensibilitzat a molècules de la família de proteïnes d'emmagatzematge de llavors (Ana o 2, Ara h 2, Ara h 6, Cor a 9, Jug r 1, Jug r 2 i Ses i 1) junt amb les molècules marcadores de sensibilització a fruites seques de la família LTP (Cor a 8, Jug r 3, Ara h 9) (**equació 16**).

Aquestes mateixes famílies de proteïnes estarien relacionades amb la probabilitat de ser al·lèrgic a l'ametlla (**equació 17**). Respecte al risc de ser al·lèrgic a la nou de Brasil, tal com es pot veure a l'**equació 18**, el perfil de sensibilització molecular correspondria també a una molècula de la família de les proteïnes d'emmagatzematge de llavors (Jug r 2), si bé, el perfil molecular per aquesta fruita seca seria més simple que els descrits prèviament. Totes aquestes dades estarien en parcial conjunció amb les descrites fins ara per altres autors en estudis realitzats en regions pròximes a la nostra àrea geogràfica ja que la majoria d'autors relacionen més l'al·lèrgia a fruites seques amb la sensibilització a proteïnes de la família LTP [**Pastorello, 2004**]

[Datema, et al., 2015]. Cal remarcar, però, que els estudis que trobem publicats fins al moment relacionats amb el perfil molecular dels pacients al·lèrgics a fruites seques són relativament escassos.

Equació 14

$$P(\text{fruites seques}) = \frac{1}{1+e^x} \text{® On } x = -0,255 - 0,008 * \text{Anao2} - 0,227 * \text{Cora9} - 0,004 * \text{Cora10401} \\ + 0,009 * \text{Jugr3} + 0,191 * \text{Jugr2} + 0,014 * \text{Jugr1} - 0,061 * \text{Sesi1} + 0,495 * \text{Arah1} - 0,172 * \text{Arah2} \\ + 0,1 * \text{Arah6} - 0,162 * \text{Arah8} - 0,032 * \text{Arah9}$$

Equació 15

$$P(\text{nou® nogal}) = \frac{1}{1+e^x} \text{® On } x = -0,820 + 0,077 * \text{Anao2} - 0,081 * \text{Cora9} + 0,041 * \text{Cora8} \\ - 0,006 * \text{Jurg1} + 0,244 * \text{Jurg2} + 0,069 * \text{Jurg3} - 0,093 * \text{Sesi1} + 0,455 * \text{Arah1} \\ - 0,103 * \text{Arah2} + 0,079 * \text{Arah6} - 0,434 * \text{Arah8} - 0,232 * \text{Arah9}$$

Equació 16

$$P(\text{avellana}) = \frac{1}{1+e^x} \text{® On } x = -0,950 - 0,352 * \text{Anao2} + 0,313 * \text{Cora9} + 0,053 * \text{Cora8} \\ - 0,002 * \text{Jugr1} + 0,061 * \text{Jugr2} - 0,012 * \text{Jugr3} - 0,030 * \text{Sesi1} \\ + 0,091 * \text{Arah2} + 0,026 * \text{Arah6} - 0,118 * \text{Arah9}$$

Equació 17

$$P(\text{ametlla}) = \frac{1}{1+e^x} \text{® On } x = -1,255 - 0,394 * \text{Anao2} + 0,07 * \text{Cora8} \\ - 0,047 * \text{Cora10401} + 0,058 * \text{Jugr3} + 0,024 * \text{jugr1} + 0,102 * \text{Jugr2} \\ - 0,074 * \text{Sesi1} + 0,011 * \text{Arah2} + 0,169 * \text{Arah6} - 0,396 * \text{Arah9}$$

Equació 18

$$P(\text{nou de Brasil}) = \frac{1}{1+e^x} \text{® On } x = -2,026 + 0,207 * \text{Jugr2}$$

Al·lèrgens d'aliments no vegetals

Llet i ou

A la **taula 72** es resumeixen els resultats de les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*), determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® i mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 així com la clínica dels dos aliments que més patologia al·lèrgica ocasionen a la població pediàtrica ≤ 5 anys (proteïna de llet de vaca i ou). Tanmateix, tal com ja s'ha justificat prèviament, degut als criteris d'inclusió de la nostra mostra d'estudi (pacients sensibilitzats a més de dos aliments taxonòmicament no relacionats i diferents a la llet i/o ou mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques o *“skin prick-test”*) el percentatge de sensibilització a aquests dos aliments en aquest estudi és més baix del que s'esperaria trobar en aquest grup d'edat.

Respecte a la sensibilització a proteïna de llet de vaca, el percentatge de les molècules marcadores de sensibilització a proteïna de llet de vaca presents a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112 és bastant similar, oscil·lant entre el 5,2% (n=10) i el 7,3% (n=14) (**taula 72**). Respecte a la clínica, l'anafilaxi és la patologia més freqüent objectivada a la nostra població d'estudi (4,2%, n=8), seguida de l'UC/AE (3,1%, n=6) (**taula 72**).

Pel que fa a l'ou, la sensibilització a les molècules Gal d 1, Gal d 2 i Gal d 3 és bastant similar, oscil·lant entre un 9,4% (n=18) i un 14,1% (n=27). Tanmateix, el percentatge de sensibilització a la molècula Gal d 5 (livetina, albúmina sèrica), és bastant més inferior (3,1%, n=6) (**taula 72**), essent la menys prevalent de totes. Una distribució similar d'aquests percentatges ha estat descrita prèviament per altres autors [**D'Urbano, 2010**]. Una altra dada a considerar és que la simptomatologia més freqüentment objectivada en els pacients al·lèrgics a l'ou de la nostra població d'estudi és l'UC/AE (9,4%, n=18), seguida de la clínica d'anafilaxi (6,3%, n=12) (**taula 72**).

Taula 72. Sensibilitzacions mitjançant proves cutànies, determinació d'IgE específica (ImmunoCAP® i ISAC 112®) i clínica amb la ingesta de llet de vaca i ou presents a la micromatriu comercial ISAC® 112.

Font al·lèrgènica [Total pacients (n=192)]	“Skin prick-test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 112, % i nombre de pacients)	Clínica amb l'aliment (% i nombre de pacients)
Llet	10,4 (n=20)			
• α-lactoalbúmina	8,3 (n=16)	11,5 (n=22)	Bos d 4 (α-lactoalbúmina) 6,8 (n=13)	Tolera 90,1 (n=173) SAO 0,5 (n=1)
• β-lactoglobulina	8,3 (n=16)	10,4 (n=20)	Bos d 5 (β-lactoglobulina) 7,2 (n=14)	U/AE 3,1 (n=6) Anafilaxi 4,2 (n=8)
• Albúmina sèrica	No realitzat	No realitzat	Bos d 6 (albúmina sèrica) 6,8 (n=13)	Gastrointestinal 1 (n=2)
• Caseïna	7,8 (n=15)	11,5 (n=22)	Bos d 8 (caseïna) 7,3 (n=14) Bos d lactoferrina (transferrina) 5,2 (n=10)	Aliment no introduït 1 (n=2)
Ou	24,5 (n=47)			
• Clara	24,5 (n=47)	21,4 (n=41)		Tolera 77,1 (n=148) SAO 3,1 (n=6) U/AE 9,4 (n=18)
I. Ovomucoide		17,2 (n=33)	Gal d 1 (ovomucoide) 14,1 (n=27)	Anafilaxi 6,3 (n=12)
II. Ovoalbúmina		18,2 (n=35)	Gal d 2 (ovoalbúmina) 13,5 (n=26) Gal d 3 (conalbúmina/ovotransferrina) 9,4 (n=18)	Gastrointestinal 1 (n=2)
• Rovell	22,9 (n=44)	18,2 (n=35)	Gal d 5 (livetina/albúmina sèrica) 3,1 (n=6)	Aliment no introduït 3,1 (n=6)

Respecte a les **taules 73 i 74**, una de les dades que més crida l'atenció és l'elevat percentatge de pacients amb valors positius de les molècules marcadores de sensibilització a proteïna de llet de vaca (incloent la molècula Bos d 8, caseïna) i/o ou (incloent la molècula Gad 1, ovomucoide), respectivament, i que no presenten clínica amb la seva ingesta (**taula 75**). De la mateixa manera, s'objectiva un elevat nombre de pacients amb valors indetectables de les molècules marcadores de sensibilització a proteïna de llet de vaca i/o ou, però, que presenten clínica amb la seva ingesta (**taula 75**). Per tant, un cop més es confirma la importància de realitzar les proves d'exposició oral controlada en cas de dubtes diagnòstics [Winberg, 2015] [Zhu, 2015] ja que tal com han descrit prèviament alguns grups de treball (entre els quals s'inclou el nostre), la positivitat de les proves al·lèrgològiques no sempre és sinònim d'al·lèrgia [Fadeeva, 2010] [Álvaro, 2014] [Kim, et al, 2015].

Taula 73. Clínica dels pacients segons els valors de les proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) i segons la determinació d’IgE específiques de les fraccions de la proteïna de llet de vaca mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112.

Nivells de cada molècula	No clínica	SAO	UC/AE	Anafilaxi	Gastro-intestinal	No introduït
Bos d 4						
• Indetectable	163	0	6	6	2	2
• Baix	2	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	6	0	0	2	0	0
• Molt alt	2	1	0	0	0	0
Bos d 5						
• Indetectable	160	0	6	8	2	2
• Baix	6	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	5	1	0	0	0	0
• Molt alt	2	0	0	0	0	0
Bos d 6						
• Indetectable	161	1	5	8	2	2
• Baix	7	0	1	0	0	0
• Moderat-alt	4	0	0	0	0	0
• Molt alt	1	0	0	0	0	0
Bos d 8						
• Indetectable	161	0	6	7	2	2
• Baix	3	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	7	1	0	1	0	0
• Molt alt	2	0	0	0	0	0
Bos d lactoferrina						
• Indetectable	163	1	6	8	2	2
• Baix	8	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	2	0	0	0	0	0
• Molt alt	0	0	0	0	0	0

Taula 74. Clínica dels pacients segons els valors de les proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) i segons la determinació d'IgE específiques de les fraccions d'ou mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112.

Ou (IgE específica, SPT, molècula)	No clínica	SAO	UC/ AE	Anafilaxi	Gastro- intestinal	No introduït
Gal d 1						
• Indetectable	124	6	13	12	2	5
• Baix	4	0	1	0	0	1
• Moderat-alt	15	0	3	0	0	0
• Molt alt	2	0	1	0	0	0
Gal d 2						
• Indetectable	127	6	14	12	2	5
• Baix	3	0	1	0	0	1
• Moderat-alt	17	0	3	0	0	0
• Molt alt	1	0	0	0	0	0
Gal d 3						
• Indetectable	133	6	15	12	2	6
• Baix	8	0	1	0	0	0
• Moderat-alt	6	0	2	0	0	0
• Molt alt	1	0	0	0	0	0
Gal d 5						
• Indetectable	142	6	18	12	2	6
• Baix	1	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	4	0	0	0	0	0
• Molt alt	1	0	0	0	0	0
IgE específica ovoalbúmina						
• Negativa	3	1	1	1	0	0
• Positiva dèbil	0	0	1	0	0	0
• Positiva	5	3	12	9	0	5
IgE específica ovomucoide						
• Negativa	5	2	0	0	0	1
• Positiva dèbil	0	0	2	1	0	0
• Positiva	3	2	12	9	0	4
IgE específica rovell						
• Negativa						
• Positiva dèbil	4	1	2	1	0	0
• Positiva	1	0	0	0	0	0
	4	2	13	8	1	6
IgE específica clara						
• Negativa						
• Positiva dèbil	1	1	0	0	0	0
	1	0	1	1	0	0

• Positiva	6	2	14	9	1	6
“Skin prick-test” rovell						
• Negatiu	107	1	3	1	1	0
• Positiu	7	4	15	11	1	6
“Skin prick-test” clara						
• Negatiu	105	1	2	1	1	0
• Positiu	9	4	16	11	1	6

Taula 75. Percentatge de falsos positius i falsos negatius mitjançant l'aplicació del diagnòstic molecular (micromatriu comercial ISAC® 112) als pacients de la nostra població d'estudi al·lèrgics a proteïna de llet de vaca i a ou.

Molècula	Falsos positius (% i nombre de determinacions i)	Falsos negatius (% i nombre de determinacions)
Bos d 4	5,8 (n=10)	7,8 (n=14)
Bos d 5	7,5 (n=13)	9 (n=16)
Bos d 6	6,9 (n=12)	9 (n=16)
Bos d 8	6,9 (n=12)	9,5 (n=17)
Bos d lactoferrina	5,8 (n=10)	10,4 (n=19)
Gal d 1	14,5 (n=21)	23,5 (n=38)
Gla d 2	14,2 (n=21)	23,5 (n=39)
Gal d 3	10,1 (n=15)	23,6 (n=41)
Gla d 5	4 (n=6)	23,7 (n=44)

Pel que fa a l'anàlisi multivariant, es va aplicar el model de regressió logística utilitzant el mètode d'introduir i les dades que es varen trobar van ser que, a la nostra població d'estudi, el fet d'estar sensibilitzat a les molècules Bos d 4 (α -lactoalbúmina) i Bos d 5 (β -lactoglobulina) predisposaven a una major probabilitat de ser al·lèrgic a la proteïna de llet de vaca (**equació 19**). Aquestes dades trenquen amb la majoria de treballs publicats fins al moment on s'ha sempre dit que la sensibilització a la molècula Bos d 8 (caseïna) és la millor variable de predicció a al·lèrgia a proteïna de llet de vaca [**Boyano-Martínez, 2008**] [**D'Urbano, 2010**]. Tanmateix, si fem una revisió exhaustiva de la literatura, trobem altres treballs que afirmen que, per una banda, caldrien més dades que acabïn de confirmar aquests resultats [**Wolthers, 2012**] i que, per altra banda, sembla que l'al·lèrgia a proteïna de llet de vaca en els nens es podria relacionar amb la sensibilització a diferents proteïnes i no només explicar-se per la sensibilització a una única molècula [**Borres, 2011**] si no més aviat la sensibilització a epítops lineals termoresistents de les molècules Bos d 4 (alfa-lactoalbúmina), Bos d 5 (beta-lactoglobulina) i Bos d 8 (caseïna) [**Jarvinen, 2001**] [**Vila, 2001**], fet que explicaria els resultats obtinguts a la nostra població d'estudi (**equació 19 i taules 73 i 75**).

Equació 19

$$P(\text{llet de vaca}) = \frac{1}{1 + e^x} \rightarrow \text{On } x = -2,422 + 0,460 * \text{Bosd}4 - 0,657 * \text{Bosd}5$$

Respecte a l'ou, si apliquem el mateix model de regressió logística, trobem que, a la nostra població d'estudi, el fet d'estar sensibilitzat a la molècula Gal d 3 (conalbúmina/ovotransferrina) predispesa també a una major probabilitat de ser al·lèrgic a l'ou (**equació 20**). Aquestes dades contrastarien amb la majoria de treballs publicats fins al moment els quals afirmen que la sensibilització a la molècula Gal d 1 és la principal variable de predicció d'al·lèrgia a l'ou i de persistència d'al·lèrgia a aquest [Ando, 2008] [Lemon-Mulé, 2008] [Benhamou, 2010] [Caubet, 2011] [Everberg, 2011]. Ara bé, tal com Alessandri i el seu equip publicaren, el diagnòstic molecular, avui per avui, continua sense ser un prova definitiva que ens permeti obviar les proves d'exposició oral controlades, les quals continuarien essent el patró diagnòstic d'or [Alessandri, 2012]. Sembla, per tant, que les nostres dades podrien obrir una nova línia d'investigació pel que fa al risc de ser al·lèrgic a l'ou mitjançant l'aplicació del diagnòstic molecular per components. Tanmateix, en disposar de pocs pacients a la nostra població d'estudi al·lèrgics a la proteïna de llet de vaca i/o a l'ou, cal prendre aquests resultats amb cautela. Caldria ampliar la mostra d'aquest estudi abans de realitzar l'extrapolació d'aquests resultats.

Equació 20

$$P(\text{ou}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -1,390 - 0,021 * \text{Gal}d3$$

Carn

L'al·lèrgia a la carn en població pediàtrica sembla que tindria un perfil de sensibilització diferent al que podem trobar a la població adulta. Mentre que en població adulta sembla que l'al·lèrgia a la carn, i sobretot aquelles reaccions que cursen amb clínica d'anafilaxi, podria ser deguda a la molècula galactosa-alfa-1,3-galactosa (induïda per picades de paparra i algunes infeccions parasitàries) [Commins, 2011a] [Mullins, 2012], en població pediàtrica (sobretot a edats més tempranes de la vida), l'al·lèrgia a la carn es relacionaria més amb la sensibilització a molècules de la família de les albúmines sèriques [Han, 2000] [Tanabe, 2002] [Restani, 2004] [Melioli, 2012] [Treadler, 2013].

A la nostra població d'estudi, mitjançant la realització de l'anàlisi multivariant aplicant el model de regressió logística segons el mètode d'avançar condicional, s'objectiva que la molècula Bos d 6, que correspon a una albúmina sèrica, seria la millor variable de predicció per diagnosticar una possible al·lèrgia a la carn. Per tant, tal com ja s'ha justificat anteriorment, les nostres dades es trobarien en conjunció amb les publicades fins al moment [Han, 2000] [Melioli, 2012] [Treadler, 2013].

Equació 21

$$P(\text{carn}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -3,281 + 0,095 * \text{Bosd6}$$

Animals de mar

A la **taula 76** es resumeixen els resultats de les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*), determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® i mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 així com la clínica dels animals de mar presents a la micromatriu comercial ISAC® 112 corresponents a la gamba i al bacallà. A la **taula 76** es pot objectivar que la simptomatologia més freqüentment presentada pels pacients de la nostra població d'estudi al·lèrgics als animals de mar (tant pel que fa a crustacis com respecte als peixos) és UC/AE seguida de la clínica d'anafilaxi.

Taula 76. Sensibilitzacions mitjançant proves cutànies, determinació d'IgE específica (ImmunoCAP® i ISAC 112®) i clínica d'animals de mar presents a la micromatriu comercial ISAC® 112.

Font al·lèrgènica [Total pacients (n=192)]	“Skin prick- test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 112, % i nombre de pacients)	Clínica amb l'aliment (% i nombre de pacients)
Crustacis • <i>Penaeus monodon</i> (llagostí)	24 (n=46)	16,7 (n=32)	Pen m 1→22,4 (n=43) Pen m 2→2,6 (n=5) Pen m 4→12 (n=23)	Tolera 80,7 (n=155) SAO 3,6 (n=7) U/AE 8,9 (n=17) Anafilaxi 4,2 (n=8) Gastrointestinal 2,6 (n=5)
Peixos • <i>Gadus callaris</i> (bacallà)	17,7 (n=34)	12 (n=23)	Gad c 1→19,3 (n=37)	Tolera 76,6 (n=147) SAO 2,6 (n=5) U/AE 10,4 (n=20) Anafilaxi 8,9 (n=17) Gastrointestinal 1 (n=2) Aliment no introduït 0,5 (n=1)

Crustacis

Les dades més importants d'al·lèrgia als crustacis a la nostra població d'estudi es resumeixen a les **taules 76 i 77**. Tal com es pot objectivar a la **taula 76**, la sensibilització a la molècula tropomiosina Pen m 1 (22,4%, n=43) és la més prevalent a la nostra població, seguida de la molècula sarcoplasmàtica d'unió a calci Pen m 4 (12%, n=23) i ja en menor freqüència la molècula arginina quinasa Pen m 2 (2,6%, n=5). Per tant, tal com ja ha estat descrit prèviament a la literatura, a la nostra població d'estudi les molècules tropomiosines sembla que serien d'especial rellevància en l'al·lèrgia als crustacis [**Gámez, 2011**].

Respecte a les dades objectivades a la **taula 77**, remarcar que el 19,5% (n=30) dels pacients amb valors positius enfront la molècula Pen m 1 i el 20,1% (n=31) dels pacients positius enfront la molècula Der p 10 toleren els crustacis sense problemes. Per tant, un cop més s'ha pogut demostrar que sensibilització no sempre és sinònim d'al·lèrgia i que en l'al·lèrgia als crustacis, la prova diagnòstica patró d'or continua essent la prova d'exposició oral controlada [**Song, 2015**].

Una altra dada a considerar si ens fixem amb els valors de la **taula 77** és la important similitud del perfil clínic de sensibilització que presenta la nostra mostra d'estudi si es comparen les molècules Pen m 1 (tropomiosina de la gamba) i Der p 10 (tropomiosina dels àcars). Aquestes dades suggereixen que donat la important RE ja descrita prèviament per altres autors [**Jeong, 2006**] [**Gámez, 2011**] i, objectivada també a la nostra població d'estudi, en cas de no disposar de la molècula Pen m 1, la molècula Der p 10 podria ser una bona alternativa pel diagnòstic al·lèrgològic dels pacients amb sospita clínica d'al·lèrgia als crustacis.

Una altra dada a remarcar de la **taula 77**, és que un elevat nombre de pacients amb valors indetectables de les principals molècules marcadores de sensibilització enfront els crustacis (Pen m 1, Pen m 2, Pen m 4) presenten clínica per ingesta d'aquests (sobretot urticària/angioedema i anafilaxi). Per tant, aquestes dades suggereixen que possiblement aquests al·lèrgens podrien

no ser suficients pel diagnòstic al·lergològic enfront dels crustacis tal com altres autors han ja suggerit prèviament [Ebo, 2008].

Taula 77. Clínica dels pacients segons la determinació d'IgE específiques de la gamba i de la molècula tropomiosina dels àcars mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112.

Nivells de cada molècula	No clínica	SAO	UC/AE	Anafilaxi	Gastro-intestinal	No introduït
Pen m 1						
• Indetectable	124	5	9	7	0	4
• Baix	4	0	2	1	0	0
• Moderat-alt	15	2	5	0	0	1
• Molt alt	11	0	2	0	0	0
Pen m 2						
• Indetectable	149	7	18	8	0	5
• Baix	2	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	3	0	0	0	0	0
• Molt alt	0	0	0	0	0	0
Pen m 4						
• Indetectable	136	6	15	8	0	4
• Baix	5	0	0	0	0	0
• Moderat-alt	7	1	2	0	0	0
• Molt alt	6	0	1	0	0	1
Der p 10						
• Indetectable	123	5	10	7	0	3
• Baix	10	1	0	1	0	1
• Moderat-alt	7	1	6	0	0	1
• Molt alt	14	0	2	0	0	0

Respecte a l'anàlisi multivariant, si s'aplica el model de regressió logística segons el mètode d'introduir, s'objectiva que les molècules tropomiosines marcadors de reactivitat encreuada Pen m 1 i Der p 10 junt amb la molècula Pen m 4, de la família de proteïnes sarcoplasmàtiques d'unió a calci, serien les millor predictores per diagnosticar una possible al·lèrgia als crustacis en general a la nostra població d'estudi (**equació 22**). Aquestes dades es correlacionarien amb les publicades fins al moment per altres autors [Giuffrida, 2014] [Pascal, 2015]. A més a més, aquestes mateixes molècules es relacionarien amb una major probabilitat de ser també al·lèrgic a la gamba (**equació 23**) i als mol·luscs (**equació 24**).

Equació 22

$$P(\text{crustacis}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -1,566 - 0,015 * \text{Penm4} + 0,054 * \text{Penm1} - 0,045 * \text{Derp10}$$

Equació 23

$$P(\text{gamba}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -1,606 - 0,014 * \text{Penm4} + 0,054 * \text{Penm1} - 0,045 * \text{Derp10}$$

Equació 24

$$P(\text{mol·lusc}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = -2,414 + 0,025 * \text{Penm4} + 0,158 * \text{Penm1} - 0,176 * \text{Derp10}$$

Peix

Les dades més importants respecte a l'al·lèrgia al peix a la nostra població d'estudi es resumeixen a les **taules 76 i 78**. A la **taula 78** destaca l'elevat nombre de pacients amb nivells indetectables de Gad c 1 (21,3%, n=33), però, que presenten clínica per al·lèrgia al peix bé sigui en forma de SAO, UC/AE, anafilaxi i/o per clínica gastrointestinal. Aquestes dades suggereixen que possiblement l'únic al·lergen del que disposa actualment la micromatriu comercial ISAC® 112 (Gad c 1, parvalbúmina del bacallà), malgrat ésser considerat un dels al·lèrgens principals del peix [Swoboda, 2002a] [Wild, 2005], a la nostra població pediàtrica d'estudi no sigui suficient pel diagnòstic d'al·lèrgia a aquest.

Per tant, és important definir el perfil de sensibilització dels pacients pediàtrics al·lèrgics al peix i incorporar nous al·lèrgens marcadors d'al·lèrgia a aquest a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112. Per altra banda, també és important remarcar que el 17,7% (n=26) dels pacients pediàtrics sensibilitzats a la molècula Gad c 1, presenten bona tolerància tant al peix blanc com blau. Aquesta dada estaria en conjunció i un cop més reforçaria els molts treballs publicats fins al moment on es remarca la importància de diferenciar entre sensibilització i al·lèrgia [Tsabouri, 2012] [Nwaru, 2014].

Taula 78. Clínica dels pacients segons la determinació d'IgE específiques de la molècula parvalbúmina del bacallà mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112.

Nivells de Gad c 1	No clínica	SAO	UC/AE	Anafilaxi	Gastro-intestinal	No introduït
Indetectable	121	2	16	14	1	1
Baix	8	2	0	0	0	0
Moderat-alt	12	1	2	2	1	0
Molt alt	6	0	2	1	0	0

Neumoal·lèrgens pol·línics

A la **taula 79** es resumeixen els resultats de les proves cutànies intraepidèrmiques (*“skin prick-test”*) i de la determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® i mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de les fonts al·lèrgèniques ambientals pol·líniques presents a la micromatriu comercials ISAC® 112.

Taula 79. Sensibilitzacions mitjançant proves cutànies i determinació d'IgE específica (ImmunoCAP® i ISAC 112®) de les fonts pol·liques presents a la micromatriu comercial ISAC® 112.

Font pol·línica [Total pacients (n=192)]	“Skin prick-test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 112, % i nombre de pacients)
<i>Olea europaea</i> (olivera)	54,7 (n=105)	38,5 (n=74)	Ole e 1→51,1 (n=98) Ole e 7→22,9 (n=44) Ole e 9 3,1 (n=6)
<i>Cupressus arizonica</i> (xiprer)	34,9 (n=67)	21,9 (n=42)	Cry j 1→42,7 (n=82) Cup a 1→54,7 (n=105)
Poaceae			
• Gramínies (<i>Dactylis</i>, <i>Festuca</i>, <i>Lolium</i>, <i>Phleum</i> i <i>Poa</i>)	42,2 (n=81)	29,6 (n=57)	Phl p 1→38,1 (n=73) Phl p 2→9,8 (n=19) Phl p 4→33,9 (n=65) Phl p 5→16,2 (n=31) Phl p 6→12 (n=23) Phl p 7→7,8 (n=15) Phl p 11→4,6 (n=9) Phl p 12→10,4 (n=20)
• <i>Cynodon dactylon</i>	25,5 (n=49)	No realitzat	Cyn d 1→39,1 (n=75)

<i>Platanus acerifolia</i> (plataner)	47,4(n=91)	29,2 (n=56)	Pla a 1→25 (n=48) Pla a 2→42,8 (n=82) Pla a 3→42,2 (n=81)
<i>Betula verrucosa</i> (bedoll)	9,4 (n=18)	No realitzat	Bet v 1→5,8 (n=11) Bet v 2→12,5 (n=24) Bet v 4→8,4 (n=16)
<i>Alnus glutinosa</i> (vern)	No realitzat	No realitzat	Aln g 1→4,1 (n=8)
Maleses			
• <i>Artemisia vulgaris</i>	37,5 (n=72)	16,7 (n=32)	Art v 1→5,2 (n=10) Art v 3→37,0 (n=71)
• <i>Parietaria judaica</i>	29,2 (n=56)	19,8 (n=38)	Par j 2→17,2 (n=33)
Altres maleses	11,5 (n=22)		
• <i>Ambrosia artemisiifolia</i>		No realitzat	Amb a 1→1,5 (n=3)
• <i>Chenopodium album</i>		No realitzat	Che a 1→4,7 (n=9)
• <i>Mercurialis annua</i>		No realitzat	Mer a 1→13 (n=25)
• <i>Plantago lanceolata</i>		No realitzat	Pla l 1→12,6 (n=24)
• <i>Salsola kali</i>		No realitzat	Sal k 1→4,6 (n=9)

Tal com es pot veure a la **taula 79**, la sensibilització al pol·len d'olivera és la sensibilització a al·lèrgens inhalants més freqüent a la nostra població d'estudi si es realitza el diagnòstic mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques o “*skin prick-test*” [54,7% (n=105)], seguida de la sensibilització al pol·len de plataner [47,4% (n=91)], gramínies [42,2% (n=81)], artemísia [37,5% (n=72)], xiprer [34,9% (n=67)] i parietària [29,2% (n=56)]. Tanmateix, si tenim en compte únicament la sensibilització a al·lèrgens moleculars utilitzant la micromatriu comercial ISAC®112, s'objectiva que la sensibilització a l'al·lèrgen pol·línic més freqüent correspon a la molècula Cup a 1 (marcadora de sensibilització genuïna enfront el pol·len de xiprer) amb un 54,7% (n=105), seguida de la molècula Ole e 1) (marcadora de sensibilització també genuïna enfront el pol·len d'olivera) amb un 51,1% (n=98), la molècula marcadora de sensibilització al pol·len de plataner Pla a 2 amb un 42,8% (n=82) i la molècula marcadora de RE Pla a 3, LTP també del plataner, amb un 42,2% (n=81), la molècula Phl p 1, marcadora de sensibilització genuïna al pol·len de gramínies, amb un 38,1% (n=73) i la molècula corresponent a l'LTP de l'artemísia Art v 3 amb un 37% (n=71).

Si analitzem en detall aquestes dades destaca la baixa sensibilitat diagnòstica de l'extracte complet de *Cupressus arizonica* utilitzat a l'actualitat pel diagnòstic mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) passant de ser la cinquena sensibilització trobada en freqüència si es realitza l'estudi al·lèrgològic convencional mitjançant proves cutànies a la primera en freqüència quan s'aplica el diagnòstic molecular mitjançant components, tal com han descrit prèviament altres autors de regions geogràfiques pròximes a la nostra (àrea central d'Itàlia) [Scala, 2010]. Per contra, sembla que la sensibilització a aquest pol·len en altres regions d'Europa seria menys prevalent [Panzner, 2014], si bé tampoc despreciable trobant-se una prevalença enfront el pol·len de cupresàcies superior al 10%.

Per altra banda, si s'analitzen les molècules que marquen sensibilització al diferent pol·len, tot i que no es troba associació estadísticament significativa entre la sensibilització a cap de les molècules i el fet de patir alguna patologia al·lèrgica, sí que s'observa una clara tendència a presentar valors moderats-

alts o alts sobretot de les molècules Cup a 1, Cry j 1, Ole e 1, Pla a 2 i Pla a 3 i ser diagnosticat de rinitis persistent moderada o greu i/o asma episòdic ocasional i/o freqüent.

Un altre punt important a destacar respecte al patró de sensibilització pol·línica de la nostra població d'estudi és que tal com es pot veure a la **taula 79**, els pacients de la nostra àrea geogràfica majoritàriament estan sensibilitzats a al·lèrgens pol·línics marcadors de sensibilització genuïna (essent Ole e 1, Cup a 1, Cyn d 1, Phl p 1 i Pla a 2 els més prevalents) i no a al·lèrgens que puguin marcar reactivitat encreuada. Aquest fet tindria unes implicacions terapèutiques evidents ja que d'aquests resultats podem dir que els pacients pediàtrics de la nostra població d'estudi, sempre i quan presentin símptomes clínics compatibles enfront la font pol·línica detectada mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112, serien bons candidats a rebre tractament etiològic mitjançant immunoteràpia específica, ja que majoritàriament presenten sensibilitzacions a al·lèrgens marcadors de sensibilització genuïna i no a al·lèrgens de reactivitat encreuada [Hejl, 2009] [Sastre, 2010] [Baenninger, 2012] [Sastre, 2012].

Tanmateix, dins de les molècules de reactivitat encreuada, una excepció que valdria la pena tenir en compte és que, tal com s'ha descrit anteriorment, la sensibilització a la molècula Art v 3, LTP del pol·len d'artemísia, i per tant, mol·lècula que podria marcar reactivitat encreuada i no sensibilització genuïna enfront a aquest pol·len, ha estat considerada per alguns autors com una mol·lècula marcadora de sensibilització genuïna al pol·len d'artemísia (de la mateixa manera que la molècula Art v 1) pel que sembla que els pacients que mostrin positivitat enfront la molècula Art v 3, malgrat correspondre a una molècula de la família de les proteïnes LTP, podrien ser bons candidats a rebre tractament etiològic mitjançant immunoteràpia específica front el pol·len d'*Artemisia vulgaris* [Sastre, 2010], si bé, caldrien encara més estudis que ho acabin de confirmar [Wolthers, 2012].

Una altra reflexió a tenir en compte entre les molècules considerades com molècules marcadores de sensibilització genuïna, fa referència a la molècula

Pla a 2. Aquesta molècula, malgrat ser la molècula marcador de sensibilització a plataner més freqüent a la nostra regió geogràfica, s'ha suggerit que per sí sola podria no tenir cap tipus de rellevància clínica per correspondre al grup de molècules que contenen carbohidrats (conegudes també en anglès com "*bearing proteins*") i, per tant, la monosensibilització a Pla a 2 (sense Pla a 1 ni Pla a 3), podria no marcar al·lèrgia genuïna al pol·len de plataner sinó reactivitat encreuada amb altres grups de pol·len [Asero, 2014] i, per tant, no tenir cap tipus de rellevància clínica. El mateix podria ocórrer amb altres molècules, considerades fins ara marcadors de sensibilització genuïna a pol·len, com ara la molècula Ole e 1 de l'olivera o Cup a 1 del xiprer, les quals s'ha descrit que en tractar-se de molècules naturals purificades no recombinants poden contenir també CCD ("*bearing proteins*") [Asero, 2014] [Panzner, 2014].

Per últim, una altra dada a considerar de la nostra mostra d'estudi, és que la sensibilització al pol·len de bedoll, a diferència del que ocorre en població del Nord d'Europa, on és una de les sensibilitzacions pol·líniques més prevalents tant en població pediàtrica com a adulta [Menz, 1996] [Swoboda, 2008] [Canis, 2011] [Panzner, 2014] a la nostra àrea geogràfica és molt poc prevalent [(9,4% (n=18)], si bé no inexistent.

Neumoal·lèrgens no pol·línics

A la **taula 80** es resumeixen els resultats de les proves cutànies intraepidèrmiques ("*skin prick-test*") i de la determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® i mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 de les fonts al·lèrgèniques ambientals no pol·líniques presents a la micromatriu comercials ISAC® 112, corresponents als àcars de la pols (sensibilització ambiental més prevalent), seguida dels epitelis, els fongs i per últim, com a sensibilització menys prevalent, el làtex.

Taula 80. Sensibilitzacions mitjançant proves cutànies i determinació d'IgE específica (ImmunoCAP® i ISAC 112®) de les fonts no pol·liniques (àcars, làtex, epitelis i fongs) presents a la micromatriu comercial ISAC® 112.

Font al·lergènica [Total pacients (n=192)]	“Skin prick-test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 112, % i nombre de pacients)
Àcars	67,7 (n=130)		
• <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	No realitzat	58,9 (n=113)	Der p 1→39,1 (n=75) Der p 2→49,5 (n=95) Der p 10→22,9 (n=44)
• <i>Dermatophagoides farinae</i>	No realitzat	21,8 (n=42)	Der f 1→38 (n=73) Der f 2→49,50 (n=95)
• <i>Lepidoglyphus destructor</i>	No realitzat	No realitzat	Lep d 2→14,5 (n=28)
• <i>Blomia tropicalis</i>	No realitzat	No realitzat	Blo t 5→8,8 (n=17)
<i>Hevea brasiliensis</i> (làtex)	4,7 (n=9)	2,1 (n=4)	Hev b 1→1 (n=2) Hev b 3→0,50 (n=1) Hev b 5→0 (n=0) Hev b 6→1,6 (n=3) Hev b 8→15,1 (n=29)
Epitelis			
• Gat	34,9 (n=67)	27,0 (n=52)	Fel d 1→38 (n=73) Fel d 2→6,8 (n=13) Fel d 4→4,7 (n=9)

• Gos	35,9 (n=69)	24,4 (n=47)	Can f 1→17,2 (n=33) Can f 2→5,7 (n=11) Can f 3→5,2 (n=10) Can f 5→21,9 (n=42)
• Cavall	No realitzat	1 (n=2)	Equ c 1→6,2 (n=12) Equ c 3→2,5 (n=5)
• Ratolí	4,2 (n=8)	No realitzat	Mus m 1→2,6 (n=5)
Fongs			
• <i>Alternaria alternata</i>	25,5 (n=49)	12,5 (n=24)	Alt a 1→19,9 (n=38) Alt a 6→2,6 (n=5)
• <i>Aspergillus fumigatus</i>	2,1 (n=4)	No realitzat	Asp f 1→2,1 (n=4) Asp f 3→1,5 (n=3) Asp f 6→1,5 (n=3)
• <i>Cladosporium herbarum</i>	2,1 (n=4)	No realitzat	Cla h 8→3,1 (n=6)

Àcars de la pols

La sensibilització als àcars de la pols és la sensibilització a al·lèrgens inhalants no pol·línics més freqüent a la nostra població d'estudi, amb un clar predomini dels àcars del grup 2 (molècules Der f 2 [49,5% (n=95)] i Der p 2 [49,5% (n=95)]). Aquests mateixos resultats han estat trobats prèviament en altres poblacions pediàtriques [Pittner, 2004] [Kidon, 2011].

Si s'analitzen totes les molècules que marquen sensibilització als àcars de la pols (Der f 1, Der f 2, Der p 1, Der p 2, Lep d 2, Blo t 5) junt amb la molècula marcador de reactivitat encreuada tropomiosina (Der p 10), tot i que no es troba associació estadísticament significativa entre la sensibilització a aquestes molècules i el fet de patir alguna patologia al·lèrgica, sí que a la nostra població d'estudi s'objectiva una clara tendència a presentar valors moderats-alts o alts d'aquestes molècules i ser diagnosticat de rinitis persistent moderada o greu i/o asma episòdic freqüent. Prèviament, altres autors han trobat també resultats similars atribuint la major prevalença d'asma en els pacients sensibilitzats a àcars i ascaris degut a la tropomiosina d'aquestes fonts al·lèrgiques [Acevedo, 2011].

Epitelis

La sensibilització a epitelis d'animals és la segona sensibilització a neumoal·lèrgens no pol·línics més freqüent, per darrera dels àcars de la pols domèstica (**taula 80**), essent la sensibilització a la molècula Fel d 1 la més freqüent a la nostra població d'estudi [38% (n=73)] seguida per la molècula Can f 5 [21,9% (n=42)] (molècula present a la micromatriu comercial ISAC® 112, però, no present a l'anterior versió d'ISAC® 103).

La sensibilització a la molècula Fel d 1 sembla que podria tenir unes implicacions terapèutiques importants ja que, segons alguns autors han referenciat prèviament [Sastre, 2010], la sensibilització a aquesta molècula podria indicar una bona resposta a la immunoteràpia específica enfront l'epiteli de gat. Pel que fa a la molècula Fel d 2, present en el 6,8% (n=13) dels nostres pacients pediàtrics, sembla que es relacionaria amb la "Síndrome gat-porc" per ser una albúmina sèrica i, per tant, amb una elevada capacitat de reaccionar

encreuadament amb altres animals amb pèl [Hilger, 1997]. Respecte a la immunoteràpia específica en els pacients al·lèrgics a l'epiteli de gos, sembla que la sensibilització a la molècula Can f 1 s'ha associat a una bona resposta terapèutica enfront aquesta, si bé la resposta per l'al·lergen de l'epiteli de gos més prevalent a la nostra població d'estudi pediàtrica (Can f 5, calicreïna prostàtica aïllada de l'orina del gos), avui per avui, no és molt evident [Sastre, 2010] [Basagaña, 2012].

Per altra banda, tot i que a la nostra població d'estudi no es troba associació estadísticament significativa entre les diferents molècules marcadores de sensibilització a epitelis i el fet de patir alguna patologia al·lèrgica, sí que s'observa una clara tendència a presentar valors moderats-alts o alts de les molècules Fel d 1, Can f 1 i Can f 5 i el risc de patir asma.

Espores de fongs

Se sap que un nombre considerable de pacients al·lèrgics a espores de fongs presenten reaccions a més d'una espècie fúngica. Sembla que aquest fenomen seria degut a l'existència d'antígens compartits entre diferents espècies de fongs com ara per exemple els ja mencionats anteriorment CCD (entre ells els glucans) o la metaloproteïna amb activitat enzimàtica coneguda com enolasa. Altres proteïnes que podrien ser responsables del conegut fenomen de reactivitat encreuada entre fongs serien aquelles amb activitat enzimàtica com ara la superòxid dismutasa, algunes proteases, proteïnes ribosomals o les ciclofilines, entre d'altres. Tanmateix, malgrat haver-se prèviament descrit aquest fenomen de reactivitat encreuada entre les diferents espècies de fongs [Kespohl, 2014] [Sharpe, 2015], segons els resultats descrits a la **taula 80**, veiem que a la nostra població pediàtrica d'estudi, aquest fenomen és poc freqüent ja que gairebé el 90% (n=34) dels pacients sensibilitzats a les espores del fong *Alternaria alternata* no presenten sensibilització a la resta d'espores de fongs estudiades (espores d'*Aspergillus fumigatus* ni de *Cladosporium herbarum*) (**taula 80**).

Respecte *Cladosporium herbarum*, Cla h 8 és l'únic al·lergen present a l'actual micromatriu comercial ISAC® 112. La prevalença d'aquest al·lergen a la nostra

població d'estudi és relativament baixa [3,1% (n=6)]. Tanmateix, per altres treballs publicats fins al moment, se sap que un dels principals al·lèrgens de *Cladosporium herbarum* és Cla h 1, al qual sembla que estarien sensibilitzats més del 60% dels pacients al·lèrgics a aquest fong i que es detectaria a l'immunotransferència com una banda de 30 kDa. També s'ha descrit l'enolasa Cla h 6, que tal com s'ha ja comentat, podria ser responsable del fenomen de RE amb altres fongs. Per tant, com que actualment la micromatriu comercial ISAC® 112 no disposa d'aquestes molècules, el percentatge de sensibilització a aquest fong si només tenim en compte aquest sistema de mesura podria ser infravalorat, si bé és cert que el major nombre d'espores d'aquest fong es troben en zones tropicals [Swärd-Nordmo, 1985] [Swärd-Nordmo, 1988] [Simon-Nobbe, 2006] [Kespohl, 2014]. No ocorre el mateix amb les espores del fong *Aspergillus fumigatus*, les quals prevalen en climes templats, objectivant-se un pic màxim d'aquestes espores a principis de la primavera. Se sap que més del 80% dels pacients sensibilitzats a aquesta espècie presenten positivitat front la molècula Asp f 1. Tanmateix, a la nostra població d'estudi, malgrat haver-se pogut analitzar aquest al·lèrgen principal, veiem que el percentatge de sensibilització a les diferents molècules marcadores de sensibilització a les espores del fong *Aspergillus fumigatus* és baix [Asp f 1 del 2,1%(n=4); Asp f 3 i Asp f 6 de l'1,5% cadascun (n=3)] (taula 80).

Finalment, i no per això menys important, tal com es pot observar a la taula 80, la sensibilització a les espores del fong *Alternaria alternata* correspon a la sensibilització fúngica més freqüent a la nostra població d'estudi pediàtrica, essent també la tercera sensibilització ambiental no pol·línica més prevalent a la nostra mostra d'estudi per darrera dels àcars de la pols i dels epitelis d'animals. Se sap que totes les espores de fongs d'aquest gènere tenen una elevada al·lèrgenicitat. Aquest fet, junt amb els escassos treballs publicats fins al moment sobre aquest al·lèrgen en població pediàtrica [Vailes, 2001a] [Asturias, 2005] [Postigo, 2011] [Nieto, 2014] ens va portar a realitzar un anàlisi més exhaustiu, precís i detallat sobre el perfil de sensibilització específic dels pacients sensibilitzats a *Alternaria alternata* de la nostra regió geogràfica. Per tot això es va dissenyar un estudi prospectiu on es van incloure pacients amb el diagnòstic establert d'asma al·lèrgic i/o rinoconjuntivitis al·lèrgica amb

proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) positives front l’extracte complet d’*Alternaria alternata*. Tal com s’ha detallat a metodologia, a tots els pacients se’ls realitzaren proves cutànies intraepidèrmiques enfront la molècula Alt a 1 (proteïna dimèrica de 28 a 30 kDa i al·lergen principal d’aquesta espècie fúngica), determinació d’IgE total i d’IgE específica enfront l’extracte complet d’*Alternaria alternata* així com “*Immunoblotting*” En total es varen incloure 63 pacients. Les característiques clíniques i demogràfiques de la població d’estudi es detallen a la **taula 81**.

Taula 81. Característiques demogràfiques i clíniques de la població d’estudi.

	Nombre de pacients	Percentatge (%)
Total	63	100
Edat, anys		
• 0-5	2 (4 ±1)	3,2
• > 5-18	61 (11±4)	96,8
Sexe		
• Femení	13	21
• Masculí	50	79
Antecedents familiars d’atòpia		
• Sí	41	65
• No	16	25
• Desconegut	6	10
Rinoconjuntivitis al·lèrgica	49	78
• Intermitent lleu	20	32
• Intermitent moderada	0	0
• Intermitent greu	0	0
• Persistent lleu	4	6
• Persistent moderada-greu	25	40
Asma al·lèrgic	40	63
• Episòdic ocasional	31	49
• Episòdic freqüent	4	6
• Persistent moderat	5	8
• Persistent greu	0	0
Sensibilitzacions a al·lèrgens inhalants		
• <i>Alternaria alternata</i>	63	100
• Àcars	53	68
• Pol·len	45	58
• Epitelis	33	42
Altres atòpies		
• Al·lèrgia alimentària	15	24
• Dermatitis atòpica	13	21
• Al·lèrgia a medicaments	6	9,5

Es va trobar una associació estadísticament significativa entre els pacients sensibilitzats a la molècula Alt a 1 i el fet de patir clínica respiratòria (asma i/o rinoconjuntivitis) persistent moderada ($p < 0,05$).

Tots els pacients presentaven proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) positives enfront l’extracte complet d’*Alternaria alternata* (criteri d’inclusió). D’aquests, el 88% dels pacients ($n=55$) presentaren també proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) positiu enfront la molècula recombinant Alt a 1. Per altra banda, el 86% dels pacients ($n=54$), presentaren també determinació d’IgE específica positiva enfront l’extracte complet d’*Alternaria alternata* amb uns valors mitjans d’IgE específica enfront aquest al·lergen complet de 14,5 (0,4-55,3) KU/L i uns valors mitjans d’IgE total de 590 (35-5000) KU/L.

Es va realitzar “*Immunoblotting*” a 43 pacients objectivant-se un reconeixement de la molècula Alt a 1 en el 60% d’aquests (**figura 42**). Per tant, d’aquests resultats podem dir que, a la nostra població d’estudi, la concordança entre les proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) i la IgE específica enfront l’extracte complet d’*Alternaria alternata* és superior al “*Immunoblotting*”, essent del 88, 86 i 60% respectivament.

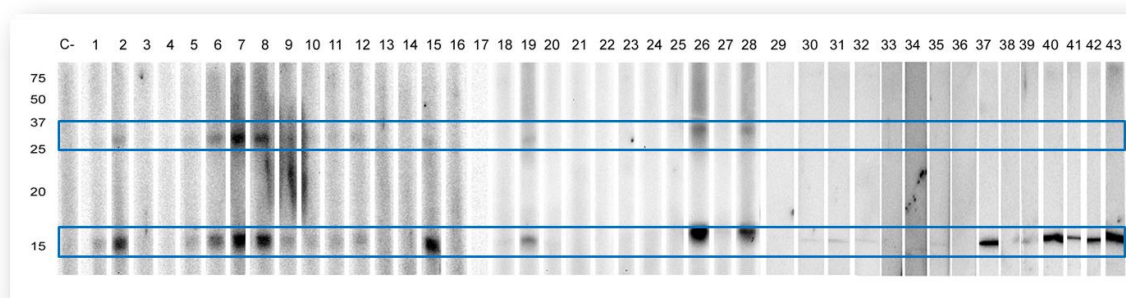


Figura 42. Immunoblotting dels pacients sensibilitzats mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) a l’extracte complet d’*Alternaria alternata*.

Làtex

Respecte al làtex, de la mateixa manera que succeeix amb la població de la nostra regió geogràfica adulta, la sensibilització trobada mitjançant proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”) si s’aplica el diagnòstic molecular, és bàsicament a la molècula Hev b 8 (**taula 80**), molècula de la família de les profilines marcadora de reactivitat encreuada (no responsable de reaccions enfront a aquest) [**Casquete-Román, 2012**]. De fet, dels 9 pacients sensibilitzats mitjançant proves cutànies al làtex, únicament un pacient pediàtric presentava clínica per aquest. En concret, es tractava d’una pacient de 12 anys d’edat, portadora d’una vàlvula de derivació ventrículoperitoneal, intervinguda en múltiples ocasions i diagnosticada d’al·lèrgia al làtex després d’haver patit un episodi compatible amb anafilaxi. En el perfil molecular de la pacient s’objectivà una doble sensibilització a les molècules Hev b 1 i Hev b 6 [**Bueno de Sã, 2013**] [**Renaudin, 2013**].

D’aquests resultats també podem dir que la clínica per al·lèrgia al làtex a la nostra població d’estudi, que recordem que es tracta de població pediàtrica sensibilitzada a més de dos grups diferents d’aliments (excloent llet i ou), és baixa.

Al·lèrgens ambientals i clínica respiratòria

Un cop revisat el patró de sensibilització a al·lèrgens ambientals (pol·línics i no pol·línics), veiem que a la nostra població d’estudi no trobem associació estadísticament significativa entre les diferents molècules específiques de cada espècie i el risc de patir asma (si bé sí que s’objectiva certa tendència). Tanmateix, la pregunta que ens vam formular va ser: *Es pot preedir el risc de patir asma segons la sensibilització a diferents grups de neumoal·lèrgens, és a dir, segons la sensibilització a grups de molècules no necessàriament relacionades entre elles taxonòmicament?* Per respondre aquesta pregunta, un cop més es va realitzar l’anàlisi multivariant aplicant el model de regressió logística segons el mètode d’avançar condicional i, efectivament es va poder verificar la implicació de les molècules Asp f 6, Blo t 5, Can f 3, Der p 10 i Pla a 2 amb el risc de patir asma (**equació 25**). Per tant, sembla que a la nostra població d’estudi, el fet d’estar sensibilitzat a neumoal·lèrgens no pol·línics

proporcionaria un major risc de tenir asma que no pas la sensibilització a neumoal·lèrgens pol·línics.

Equació 25

$$P(\text{asma}) = \frac{1}{1 + e^x} \text{® On } x = +0,282 + 0,157 * \text{Derp10} - 0,430 * \text{Blot5} \\ + 0,043 * \text{Plaa2} - 0,198 * \text{Canf3} - 2,503 * \text{Aspf6}$$

Altres al·lèrgens

Anisakis simplex

A la **taula 82** es resumeixen els resultats de les proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”), determinació d'IgE específiques mitjançant el sistema ImmunoCAP® i mitjançant la micromatriu comercial ISAC® 112 corresponents als paràsits i als insectes.

La principal dada a tenir en compte en analitzar l'al·lèrgia al paràsit anisakis és que bàsicament ens podem trobar davant de dos patrons de sensibilització diferents:

1. Per una banda, majoritàriament a la nostra població d'estudi trobem sensibilització a la molècula Ani s 3 (tropomiosina de l'*Anisakis simplex* i responsable dels fenòmens de RE entre crustacis, àcars i paràsits). La sensibilització a aquesta molècula a la nostra població d'estudi no es relaciona amb clínica al·lèrgica rellevant per la ingesta de peix contaminat amb anisakis.
2. Pacients sensibilitzats únicament a la molècula Ani s 1, la qual condiona patologia al·lèrgica per ingesta de peix contaminat amb anisakis **[Caballero, 2013] [García-Alonso, 2015]**

Una altra dada a considerar és que només el 25% dels pacients (n=10) que mostren positivitat enfront la molècula Ani s 3 presenten proves cutànies intraepidèrmiques (“*skin prick test*”) a *Anisakis simplex*. Per contra el 100% dels pacients (n=3) sensibilitzats a la molècula Ani s 1 mostren proves cutànies intraepidèrmiques positives enfront l'extracte d'anisakis complet. Aquesta dada, tot i que cal prendre-la amb cautela degut als escassos valors positius de la molècula Ani s 3 a la nostra població d'estudi, pot suggerir una bona sensibilitat de les proves cutànies intraepidèrmiques pel diagnòstic al·lèrgològic enfront

l'*Anisakis simplex* en els pacients que presentin patologia al·lèrgica enfront aquest paràsit per sensibilització a la molècula Ani s 1.

Insectes

La sensibilització a insectes a la nostra mostra d'estudi és molt poc freqüent (**taula 82**). Bla g 7, tropomiosina de la *Blattella germanica*, és la molècula més prevalent probablement per reactivitat encreuada amb les tropomiosines dels àcars de la pols (al·lergen molt important a la nostra població d'estudi) **[Oseroff, 2012]**.

Respecte els verins d'himenòpters, Api m 1 (que correspon a una fosfolipasa A2) és la molècula amb més valors positius [2,6% (n=5)], seguida de les molècules Pol d 5 (antigen 5) i Ves v 5 (antigen 5), ambdues amb un percentatge de sensibilització similar [1,6% (n=3)]. Cal tenir present que la doble sensibilització mitjançant proves cutànies i/o determinació d'IgE específiques (ImmunoCAP®) a verí d'abella i de vespa és bastant freqüent i pot indicar una reactivitat encreuada deguda a les molècules CCD. És sobretot en aquests casos en els què el diagnòstic molecular mitjançant components resultaria indispensable **[Biló, 2005] [De Graaf, 2009]**

Taula 82. Sensibilitzacions mitjançant determinació d'IgE específica (ImmunoCAP® i ISAC 112®) de paràsits i insectes presents a la micromatriu comercial ISAC® 112.

Font al·lèrgènica [Total pacients (n=192)]	“Skin prick-test” positiu (% i nombre de pacients)	IgE específica positiva (ImmunoCAP®, % i nombre de pacients)	Molècules positives (ISAC® 112, % i nombre de pacients)
Paràsits			
• <i>Anisakis simplex</i>	No realitzat	1 (n=2)	Ani s 1,6 (n=3) Ani s 3→20,9 (n=40)
Insectes			
• <i>Blatella germànica</i>	No realitzat	No realitzat	Bla g 1→0 (n=0) Bla g 2→0,5 (n=1) Bla g 5→1,6 (n=3) Bla g 7→22,3 (n=43)
• <i>Apis mellifera</i>	No realitzat	0,5 (n=1)	Api m 1→2,6 (n=5) Api m 4→1 (n=2)
• <i>Polistes dominulus</i>	No realitzat	1 (n=2)	Pol d 5→1,6 (n=3)
• <i>Vespula vulgaris</i>	No realitzat	1 (n=2)	Ves v 5→1,6 (n=3)
CCD	No realitzat	No realitzat	MUXF3→12 (n=23)

Conclusions

Els pacients polisensibilitzats de la nostra àrea són pacients al·lèrgics a espècies botàniques diferents ja que el percentatge de sensibilització a panal·lèrgens és baix, indicant co-sensibilització i no reactivitat encreuada.

El diagnòstic molecular per components ens proporciona un diagnòstic més precís en els pacients polisensibilitzats.

La introducció de nous components al·lèrgènics a la micromatriu comercial ISAC® 103 (Phadia) milloraria l'eficiència diagnòstica dels pacients al·lèrgics polisensibilitzats de la nostra població d'estudi.

Els panal·lèrgens predominants a la regió central d'Itàlia són les proteïnes de la família PR10 i les profilines, mentre que a Barcelona predomina la sensibilització a molècules de la família de les LTP.

La sensibilització pol·línica més prevalent a la regió central d'Itàlia (Roma) correspon al pol·len de Cupressàcies, mentre que a la nostra regió geogràfica de Barcelona és la del pol·len de gramínies.

La sensibilització a molècules de la família de les proteïnes LTP és la més prevalent a la nostra població d'estudi pediàtrica, seguida de la sensibilització a proteïnes d'emmagatzematge de llavors. Tanmateix, aquesta sensibilització no s'associa a anafilaxi.

Les reaccions d'anafilaxi per aliments vegetals augmenten amb l'edat. Per contra, la sensibilització a proteïnes albúmines sèriques disminueix.

La sensibilització pol·línica més prevalent de la nostra població d'estudi diagnosticada mitjançant estudi molecular és la del pol·len de Cupressàcies (Cup a 1) [sisena en freqüència si es realitzen proves cutànies

intraepidèrmiques (“*skin prick-test*”)], seguida de la del pol·len de plataner (Pla a 2).

Un elevat percentatge de pacients amb sensibilització i clínica per al·lèrgia alimentària presenten també patologia respiratòria concomitant.

A la nostra població d'estudi, Alt a 1 és l'al·lergen principal en els pacients sensibilitzats a *Alternaria alternata*.

Caldrà realitzar estudis més amplis de perfils de sensibilització molecular per aconseguir una millor tipificació de la patologia al·lèrgica de la nostra població polisensibilitzada.

Bibliografia

Aalberse RC, Akkerdaas J, van Ree R. Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens. *Allergy*. 2001 Jun;56(6):478-90.

Acevedo N, Caraballo L. IgE cross-reactivity between *Ascaris lumbricoides* and mite allergens: possible influences on allergic sensitization and asthma. *Parasite Immunol*. 2011 Jun; 33(6):309-21.

Ackerbauer D, Bublin M, Radauer C, Varga EM, Hafner C, Ebner C, i cols. Component-resolved IgE profiles in Austrian patients with a convincing history of peanut allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015; 166(1):13-24.

Agabriel C, Ghazouani O, Birnbaum J, Liabeuf V, Porri F, Gouitaa M, i cols. Ara h 2 and Ara h 6 sensitization predicts peanut allergy in Mediterranean pediatric patients. *Pediatr Allergy Immunol*. 2014 Nov; 25(7):662-7.

Ahrazem O, Ibañez MD, Lopez-Torrejon G, Sánchez-Monge R, Sastre J, Lombardero, i cols. Orange germin-like glycoprotein Cit s 1: an equivocal allergen. *Int Arch Allergy Immunol*. 2006; 139:96–103.

Akkerdaas JH, Wensing M, Asero R, Fernández-Rivas M, Knulst AC, Bolhaar S, i cols. IgE binding to pepsin- digested food extracts. *Int Arch Allergy Immunol*. 2005; 138:203–8.

Alemán A, Sastre J, Quirce S, de las Heras M, Carnés J, Fernández-Caldas E, i cols. Allergy to kiwi: a double- blind, placebo-controlled food challenge study in patients from a birch-free area. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113:543–50.

Alessandri C, Zennaro D, Scala E, Ferrara R, Bernardi ML, Santoro M, i cols. Ovomucoid (Gal d 1) specific IgE detected by microarray system predict tolerability to boiled hen's egg and an increased risk to progress to multiple environmental allergen sensitisation. *Clin Exp Allergy*. 2012 Mar; 42(3):441-50.

Alvaro M, García-Paba MB, Giner MT, Piquer M, Domínguez O, Lozano J, i cols. Tolerance to egg proteins in egg-sensitized infants without previous consumption. *Allergy*. 2014 Oct; 69(10):1350-6.

Andersson K, Lidholm J. Characteristics and immunobiology of grass pollen allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2003; 130:87–107.

Ando H, Morita Y, Wada E, Yasaki T, Yamada K, Komada K, i cols. Allergenic activity of heated and ovomucoid-depleted egg white. *J Allergy Clin Immunol*. 1997 Aug; 100(2):171-6.

Ando H, Movérare R, Kondo Y, Tsuge I, Tanaka A, Borres MP, i cols. Utility of ovomucoid-specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Sep; 122(3):583-8.

Añibarro B, Fontela JL, De La Hoz F. Occupational asthma induced by garlic dust. *J Allergy Clin Immunol.* 1997 Dec;100(6 Pt 1):734-8.

Araujo LM, Rosario NA, Mari A. Molecular-based diagnosis of respiratory allergic diseases in children from Curitiba, a city in Southern Brazil. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2015 May 13. pii: S0301-0546(15)00054-3. doi: 10.1016/j.aller.2015.03.001.

Arbes SJ Jr, Cohn RD, Yin M, Muilenberg ML, Friedman W, Zeldin DC. Dog allergen (Can f 1) and cat allergen (Fel d 1) in US homes: results from the National Survey of Lead and Allergens in Housing. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Jul; 114(1): 111-7.

Archila LD, Jeong D, Pascal M, Bartra J, Juan M, Robinson D, i cols. Jug r 2-reactive CD4+ T cells have a dominant immune role in walnut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2015 Mar 13. pii: S0091-6749(15)00169-4. doi: 10.1016/j.jaci.2015.01.029.

Arilla MC, Ibarrola I, Garcia R, de la Hoz B, Martinez A, Asturias JA. Quantification of the major allergen from cypress (*Cupressus arizonica*) pollen, Cup a 1, by monoclonal antibody-based ELISA. *Int Arch Allergy Immunol.* 2004; 134: 10–6.

Arruda LK, Vailes LD, Ferriani VP, Santos AB, Pomes A, Chapman MD. Cockroach allergens and asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 107:419–28.

Arruda LK. Cockroach allergens. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2005; 5:411–6.

Asarnoj A, Ostblom E, Ahlstedt S, Hedlin G, Lilja G, van Hage M, i cols. Reported symptoms to peanut between 4 and 8 years among children sensitized to peanut and birch pollen – results from the BAMSE birth cohort. *Allergy.* 2009; 65:213–9.

Asarnoj A, Movérare R, Ostblom E, Poorafshar M, Lilja G, Hedlin G, i cols. IgE to peanut allergen components: relation to peanut symptoms and pollen sensitization in 8-year-olds. *Allergy.* 2010 Sep; 65(9):1189-95.

Asarnoj A, Nilsson C, Lidholm J, Glaumann S, Ostblom E, Hedlin G, i cols., Peanut component Ara h 8 sensitization and tolerance to peanut. *J Allergy Clin Immunol.* 2012, 130:468–472.

Asero R. Detection and clinical characterization of patients with oral allergy syndrome caused by stable allergens in Rosaceae and nuts. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1999; 83: 377-83.

Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Casarini M. Detection of allergens in plantain (*Plantago lanceolata*) pollen. *Allergy.* 2000 Nov; 55(11): 1059-62.

Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S. Relationship between peach lipid transfer protein specific IgE levels and hypersensitivity to non-Rosaceae

vegetable foods in patients allergic to lipid transfer protein. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2004; 92: 268–72.

Asero R. Plant food allergies: a suggested approach to allergen- resolved diagnosis in the clinical practice by identifying easily available sensitization markers. *Int Arch Allergy Immunol.* 2005; 138: 1-11.

Asero R, Monsalve R, Barber D. Profilin sensitization detected in the office by skin prick test: a study of prevalence and clinical relevance of profilin as a plant food allergen. *Clin Exp Allergy.* 2008; 38(6): 1033-7.

Asero R, Jimeno L, Barber D. Preliminary results of a skin prick test-based study of the prevalence and clinical impact of hypersensitivity to pollen panallergens (polcalcin and profilin). *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2010; 20(1): 35-8.

Asero R. Analysis of hypersensitivity to oleaceae pollen in an olive-free and ash-free area by commercial pollen extracts and recombinant allergens. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2011 Jun; 43(3): 77-80 [Asero, 2011a].

Asero R. Hypersensitivity to pollen panallergens (profilin and polcalcin) detected in vitro and in vivo: a comparative analysis. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2011; 21(4): 323-4 [Asero, 2011b].

Asero R, Mistrello G, Amato S. The nature of melon allergy in ragweed-allergic subjects: A study of 1000 patients. *Allergy Asthma Proc.* 2011 Jan-Feb; 32(1): 64-7 [Asero, 2011c]

Asero R. Peach-induced contact urticaria is associated with lipid transfer protein sensitization. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011; 154(4): 345-8.

Asero R, Pravettoni V. Anaphylaxis to plant-foods and pollen allergens in patients with lipid transfer protein syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2013 Aug; 13(4): 379-85 [Asero, 2013a].

Asero R, Arena A, Cervone M, Crivellaro M, Lodi Rizzini F, Longo R, i cols. Heterogeneity of IgE response to walnut and hazelnut in Italian allergic patients. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2013 Sep 1; 45(5): 160-6 [Asero, 2013b].

Asero R. Looking for sensitization profiles in different populations by recombinant allergens. *Int Arch Allergy Immunol.* 2014; 164(2):106-8.

Astier C, Morisset M, Roitel O, Codreanu F, Jacquenet S, Franck P, i cols. Predictive value of skin prick tests using recombinant allergens for diagnosis of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2006; 118: 250-6.

Asturias JA, Eraso E, Moneo I, Martinez A. Is tropomyosin an allergen in anisakis? *Allergy.* 2000; 55: 898-9.

Asturias JA, Ibarrola I, Bartolomé B, Ojeda I, Malet A, Martínez A. Purification and characterization of Pla a 1, a major allergen from *Platanus acerifolia* pollen. *Allergy*. 2002 Mar; 57(3): 221-7.

Asturias JA, Gomez-Bayon N, Eseverri JL, Martinez A. Par j 1 and Par j 2, the major allergens from *Parietaria judaica* pollen, have similar immunoglobulin E epitopes. *Clin Exp Allergy*. 2003 Apr; 33(4): 518-24 [Asturias, 2003a].

Asturias JA, Ibarrola I, Eraso E, Arilla MC, Martínez A. The major *Platanus acerifolia* pollen allergen Pla a 1 has sequence homology to invertase inhibitors. *Clin Exp Allergy*. 2003 Jul; 33(7): 978-85 [Asturias, 2003b].

Asturias JA, Ibarrola I, Ferrer A, Andreu C, López-Pascual E, Quiralte J, i cols. Diagnosis of *Alternaria alternata* sensitization with natural and recombinant Alt a 1 allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2005 Jun; 115(6): 1210-7.

Asturias JA, Ibarrola I, Amat P, Tella R, Malet A, Cisteró-Bahíma A, i cols. Purified allergens vs. complete extract in the diagnosis of plane tree pollen allergy. *Clin Exp Allergy*. 2006; 36: 1505-12.

Ayuso R, Grishina G, Bardina L, Carrillo T, Blanco C, Ibáñez MD, i cols . Myosin light chain is a novel shrimp allergen, Lit v 3. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 122: 795-802.

Ayuso R, Grishina G, Ibáñez MD, Blanco C, Carrillo T, Bencharitiwong R, i cols. Sarcoplasmic calcium-binding protein is an EF-hand-type protein identified as a new shrimp allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 124: 114-20.

Baenninger V, Harr T, Schmid-Grendelmeier P. Component resolved diagnosis in pollinosis: sensitisation to major allergens of birch or grass pollen reflects subject feeling of successful allergen-specific immunotherapy. 31st congress of the European Academy for Allergy and Clinical Immunology 2012, Geneva, Switzerland, Poster 1636.

Ballmer-Weber BK, Vieths S, Luttkopf D, Heuschmann P, Wuthrich B. Celery allergy confirmed by double-blind, placebo-controlled food challenge: a clinical study in 32 subjects with a history of adverse reactions to celery root. *J Allergy Clin Immunol*. 2000; 106: 373-8.

Ballmer-Weber BK, Wuthrich B, Wangorsch A, Fotisch K, Altmann F, Vieths S. Carrot allergy: double-blinded, placebo- controlled food challenge and identification of allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 108: 301-7.

Ballmer-Weber BK, Scheurer S, Fritsche P, Enrique E, Cistero-Bahima A, Haase T, i cols. Component-Resolved diagnosis with recombinants allergens in patients with cherry allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 110: 167-73.

Ballmer-Weber BK, Wangorsch A, Bohle B, Kaul S, Kündig T, Fötisch K, van Ree R, i cols . Component-resolved in vitro diagnosis in carrot allergy: does the

use of recombinant carrot allergens improve the reliability of the diagnostic procedure? *Clin Exp Allergy*. 2005; 35: 970-8.

Ballmer-Weber BK, Holzhauser T, Scibilia J, Mittag D, Zisa G, Ortolani C, i cols. Clinical characteristics of soybean allergy in Europe: a double-blind, placebo-controlled food challenge study. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 119: 1489-96.

Ballmer-Weber BK, Vieths S. Soy allergy in perspective. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008; 8: 270-5.

Ballmer-Weber BK, Hoffmann-Sommergruber K. Molecular diagnosis of fruit and vegetable allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011 Jun; 11(3): 229-35.

Ballmer-Weber BK, Skamstrup Hansen K, Sastre J, Andersson K, Båtscher I, Ostling J, i cols. Component-resolved in vitro diagnosis of carrot allergy in three different regions of Europe. *Allergy*. 2012 Jun; 67(6):758-66.

Ballmer-Weber BK. Value of allergy tests for the diagnosis of food allergy. *Dig Dis*. 2014; 32(1-2): 84-8.

Barber D, Moreno C, Ledesma A, Serrano P, Galán A, Villalba M, i cols. Degree of olive pollen exposure and sensitization patterns. Clinical implications. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007; 17 Suppl 1: 11-6.

Barber D, de la Torre F, Feo F, Florido F, Guardia P, Moreno C, i cols. Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: a molecular epidemiological study. *Allergy*. 2008 Nov; 63(11): 1550-8.

Barber D, de la Torre F, Lombardero M, Antépara I, Colas C, Dávila I, i cols. Component-resolved diagnosis of pollen allergy based on skin testing with profilin, polcalcin and lipid transfer protein pan-allergens. *Clin Exp Allergy*. 2009; 39: 1764-73.

Barderas R, Villalba M, Rodríguez R. Recombinant expression, purification and cross-reactivity of chenopod profilin: rChe a 2 as a good marker for profilin sensitization. *Biol Chem*. 2004 Aug; 385(8): 731-7.

Barderas R, García-Sellés J, Salamanca G, Colás C, Barber D, Rodríguez R, i cols. A pectin methylesterase as an allergenic marker for the sensitization to Russian thistle (*Salsola kali*) pollen. *Clin Exp Allergy*. 2007; 37: 1111-9.

Barre A, Jacquet G, Sordet C, Culerrier R, Rouge P. Homology modelling and conformational analysis of IgE-binding epitopes of Ara h 3 and other legumin allergens with a cupin fold from tree nuts. *Mol Immunol*. 2007; 44: 3243-55.

Basagaña M, Bartolomé B, Pastor C, Torres F, Alonso R, Vivanco F, i cols. Allergy to human seminal fluid: cross-reactivity with dog dander. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Jan; 121(1): 233-9.

Basagaña M, Luengo O, Mattsson L, Lindholm J, Garriga T, Labrador-Horrillo M, i cols. Component resolved diagnosis of dog allergy. 29st congress of the European Academy for Allergy and Clinical Immunology 2010, United Kingdom, London, Poster 1228.

Basagaña M, Bartolome B, Pastor-Vargas C, Mattsson L, Lidholm J, Labrador-Horrillo M. Involvement of Can f 5 in a case of human seminal plasma allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012; 159(2): 143-6.

Battais F, Pineau F, Popineau Y, Aparicio C, Kanny G, Guerin L, i cols. Food allergy to wheat: identification of immunoglobulin E and immunoglobulin G-binding proteins with sequential extracts and purified proteins from wheat flour. *Clin Exp Allergy*. 2003 Jul; 33(7): 962-70.

Bauermeister K, Ballmer-Weber BK, Bublin M, Fritsche P, Hanschmann KM, Hoffmann-Sommergruber K, i cols. Assessment of component-resolved in vitro diagnosis of celeriac allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 124: 1273-81.

Becker WM, Jappe U. Peanut allergens. *Chem Immunol Allergy*. 2014; 100: 256-67.

Belver MT, Jurado-Palomo J, Bobolea I, López-Serrano MC, Quirce S. Immunoglobulin E reactivity to nOle e 1 as a diagnostic marker of allergy to *Olea europaea* pollen. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009; 19(6):515-6.

Benhamou AH, Caubet JC, Eigenmann PA, Nowak-Wegrzyn A, Marcos CP, Reche M, i cols. State of the art and new horizons in the diagnosis and management of egg allergy. *Allergy*. 2010 Mar; 65(3): 283-9.

Bernhisel-Broadbent J, Dintzis HM, Dintzis RZ, Sampson HA. Allergenicity and antigenicity of chicken egg ovomucoid (Gal d III) compared with ovalbumin (Gal d I) in children with egg allergy and in mice. *J Allergy Clin Immunol*. 1994; 93: 1047-59.

Bernstein DI, Biagini RE, Karnani R, Hamilton R, Murphy K, Bernstein C, i cols. In vivo sensitization to purified *Hevea brasiliensis* proteins in health care workers sensitized to natural rubber latex. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Mar; 111(3): 610-6.

Beyer K, Bardina L, Grishina G, Sampson HA. Identification of sesame seed allergens by 2-dimensional proteomics and Edman sequencing: seed storage proteins as common food allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Jul; 110(1): 154-9 [Beyer, 2002a].

Beyer K, Grishina G, Bardina L, Grishin A, Sampson HA. Identification of an 11S globulin as a major hazelnut food allergen in hazelnut-induced systemic reactions. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Sep; 110(3): 517-23 [Beyer, 2002b].

Beyer K, Grabenhenrich L, Härtl M, Beder A, Kalb B, Ziegert M, i cols. Predictive values of component-specific IgE for the outcome of peanut and hazelnut food challenges in children. *Allergy*. 2015 Jan; 70(1): 90-8.

Bianchi A, Di Rienzo Businco A, Bondanini F, Mistrello G, Carlucci A, Tripodi S. Rosaceae-associated exercise-induced anaphylaxis with positive SPT and negative IgE reactivity to Pru p 3. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2011 Aug; 43(4): 122-4.

Bilo BM, Rueff F, Mosbech H, Bonifazi F, Oude-Elberink JN. Diagnosis of hymenoptera venom allergy. *Allergy*. 2005; 60: 1339-49.

Bjerg A, Winberg A, Berthold M, Mattsson L, Borres MP, Rönmark E. A population-based study of animal component sensitization, asthma and rhinitis in schoolchildren. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015 Jun 9. doi: 10.1111/pai.12422.

Blanc F, Bernard H, Ah-Leung S, Przybylski-Nicaise L, Skov PS, Purohit A, i cols. Further studies on the biological activity of hazelnut allergens. *Clin Transl Allergy*. 2015 Jul 17; 5: 26.

Blanco C. Latex-fruit syndrome. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2003; 3(1): 47-53.

Bokanovic D, Aberer W, Hemmer W, Heinemann A, Komericki P, Scheffel J, i cols. Determination of sIgE to rPhl p 1 is sufficient to diagnose grass pollen allergy. *Allergy*. 2013 Nov; 68(11):1403-9.

Bonds RS, Midoro-Horiuti T, Goldblum R. A structural basis for food allergy: the role of cross-reactivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008; 8: 82-6.

Bonura A, Passantino R, Costa MA, Montana G, Melis M, Bondi ML, i cols. Characterization of a Par j 1/Par j 2 mutant hybrid with reduced allergenicity for immunotherapy of Parietaria allergy. *Clin Exp Allergy*. 2012 Mar; 42(3): 471-80.

Boquete M, Iraola V, Morales M, Pinto H, Francisco C, Carballás C, i cols. Seafood hypersensitivity in mite sensitized individuals: is tropomyosin the only responsible allergen? *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2011 Mar; 106(3): 223-9.

Borghesan F, Mistrello G, Amato S, Giuffrida MG, Villalta D, Asero R. Mugwort-fennel-allergy-syndrome associated with sensitization to an allergen homologous to Api g 5. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2013 Aug 1;45(4):130-7.

Borres MP, Ebisawa M, Eigenmann PA. Use of allergen components begins a new era in pediatric allergology. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011 Aug; 22(5):454-61.

Bousquet J, Khaltsev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, i cols. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 Update (in collaboration with the World Health Organization, GA2LEN* and AllerGen**). *Allergy* 2008; 63 (s86): 8-160.

Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy*. 2012; 67: 18-24.

Boyano-Martínez T, García-Ara C, Pedrosa M, Díaz-Pena JM, Quirce S. Accidental allergic reactions in children allergic to cow's milk proteins. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Apr; 123(4):883-8.

Boyano-Martínez T, Pedrosa M, Belver T, Quirce S, García-Ara C. Peach allergy in Spanish children: tolerance to the pulp and molecular sensitization profile. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013 Mar; 24(2):168-72.

Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, Wood RA, i cols. Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Summary of the NIAID-Sponsored Expert Panel Report. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 126(6): 1105-18.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye-binding. *Anal Biochem*. 1976; 72: 248-54.

Brehler R, Theissen U, Mohr C, Luger T. "Latex-fruit syndrome": frequency of cross-reacting IgE antibodies. *Allergy*. 1997 Apr; 52(4): 404-10.

Breiteneder H, Hoffmann-Sommergruber K, O'Riordain G, Susani M, Ahorn H, Ebner C, i cols. Molecular characterization of Api g 1, the major allergen of celery (*Apium graveolens*), and its immunological and structural relationships to a group of 17-kDa tree pollen allergens. *Eur J Biochem*. 1995 Oct 15; 233(2): 484-9.

Bronnert M, Mancini J, Birnbaum J, Agabriel C, Liabeuf V, Porri F, i cols. Component-resolved diagnosis with commercially available D. pteronyssinus Der p 1, Der p 2 and Der p 10: relevant markers for house dust mite allergy. *Clin Exp Allergy*. 2012, 42: 1406-15.

Bublin M, Pfister M, Radauer C, Oberhuber C, Bulley S, Dewitt AM, i cols. Component-resolved diagnosis of kiwifruit allergy with purified natural and recombinant kiwifruit allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Mar; 125(3): 687-94.

Bueno de Sã A, Camilo Araujo RF, Cavalheiro S, Carvalho Mallozi M, Solé D. Profile of latex sensitization and allergies in children and adolescents with myelomeningocele in São Paulo, Brazil. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013; 23(1): 43-9.

Bugajska-Schretter A, Elfman L, Fuchs T, Kapiotis S, Rumpold H, Valenta R, i cols. Parvalbumin, a cross-reactive fish allergen, contains IgE-binding epitopes sensitive to periodate treatment and Ca²⁺ depletion. *J Allergy Clin Immunol*. 1998; 101:67-74.

Bush RK, Prochnau JJ. Alternaria-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 113: 227-34.

Caballero ML, Moneo I. Specific IgE determination to Ani s 1, a major allergen from *Anisakis simplex*, is a useful tool for diagnosis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002; 89: 74-7.

Caballero ML, Moneo I, Gomez-Aguado F, Corcuera MT, Casado I, Rodriguez-Perez R. Isolation of Ani s 5, an excretory–secretory and highly heat-resistant allergen useful for the diagnosis of anisakis larvae sensitization. *Parasitol Res.* 2008; 103: 1231-3.

Caballero ML, Asero R, Antonicelli L, Kamberi E, Colangelo C, Fazii P, i cols. *Anisakis* allergy component-resolved diagnosis: clinical and immunologic differences between patients from Italy and Spain. *Int Arch Allergy Immunol.* 2013; 162(1): 39-44.

Cabañas R, Lopez-Serrano MC, Carreira J, Ventas P, Polo F, Caballero MT, i cols. Importance of albumin in cross-reactivity among cat, dog and horse allergens. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2000; 10: 71-7.

Cabrera-Freitag P, Goikoetxea MJ, Beorlegui C, Gamboa P, Gastaminza G, Fernández-Benítez M, i cols. Can component-based microarray replace fluorescent enzymeimmunoassay in the diagnosis of grass and cypress pollen allergy? *Clin Exp Allergy.* 2011 Oct; 41(10):1440-6.

Calabozo B, Barber D, Polo F. Purification and characterization of the main allergen of *Plantago lanceolata* pollen, Pla I 1. *Clin Exp Allergy.* 2001; 31: 322–30.

Calabozo B, Diaz-Perales A, Salcedo G, Barber D, Polo F. Cloning and expression of biologically active *Plantago lanceolata* pollen allergen Pla I 1 in the yeast *Pichia pastoris*. *Biochem J.* 2003; 372: 889–96.

Canis M, Gröger M, Becker S, Klemens C, Kramer MF. Recombinant marker allergens in diagnosis of patients with allergic rhinoconjunctivitis to tree and grass pollens. *Am J Rhinol Allergy.* 2011 Jan-Feb;25(1): 36-9.

Caraballo L, Mercado D, Jimenez S, Moreno L, Puerta L, Chua KY. Analysis of the cross-reactivity between BtM and Der p 5, two group 5 recombinant allergens from *Blomia tropicalis* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Int Arch Allergy Immunol.* 1998; 117: 38–45.

Cárdaba B, Del Pozo V, Jurado A, Gallardo S, Cortegano I, Arrieta I, i cols. Olive pollen allergy: searching for immunodominant T-cell epitopes on the Ole e 1 molecule. *Clin Exp Allergy.* 1998; 28: 413–22.

Cardona V, Luengo O, Garriga T, Labrador-Horrillo M, Sala-Cunill A, Izquierdo A, i cols. Co-factor-enhanced food allergy. *Allergy.* 2012 Oct; 67(10): 1316-8.

Cardona V, Garriga T. Allergic asthma. *Med Clin (Barc)*. 2015 Mar 9; 144(5): 216-22.

Carnés J, Fernández-Caldas E, Gallego MT, Ferrer A, Cuesta-Herranz J. Pru p 3 (LTP) content in peach extracts. *Allergy*. 2002 Nov;57(11): 1071-5.

Carnés J, Fernández-Caldas E, Marina A, Alonso C, Lahoz C, Colás C, i cols. Immunochemical characterization of Russian thistle (*Salsola kali*) pollen extracts. Purification of the allergen Sal k 1. *Allergy*. 2003; 58: 1152–6.

Casaulta C, Fluckiger S, Cramer R, Blaser K, Schoeni MH. Time course of antibody response to recombinant *Aspergillus fumigatus* antigens in cystic fibrosis with and without ABPA. *Pediatr Allergy Immunol*. 2005; 16: 217–25.

Casquete-Román E, Rosado-Gil T, Postigo I, Guisantes JA, Fernández M, Torres HE, i cols. Profilin cross-reactive panallergen causes latex sensitization in the pediatric population allergic to pollen. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012 Sep; 109(3): 215-9.

Caubet JC, Kondo Y, Urisu A, Nowak-Węgrzyn A. Molecular diagnosis of egg allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011 Jun; 11(3): 210-5.

Chapman MD, Smith AM, Vailes LD, Arruda LK, Dhanaraj V, Pomés A. Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2000; 106: 409-18.

Chardin H, Raulf-Heimsoth M, Chen Z, Rihs HP, Mayer C, Desvaux FX, i cols. Interest of two-dimensional electrophoretic analysis for the characterization of the individual sensitization to latex allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002; 128: 195–203.

Chatchatee P, Jarvinen KM, Bardina L, Beyer K, Sampson HA. Identification of IgE- and IgG-binding epitopes on alpha(s1)-casein: differences in patients with persistent and transient cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 107: 379–83.

Chen Z, Cremer R, Posch A, Raulf-Heimsoth M, Rihs HP, Baur X. On the allergenicity of Hev b 1 among health care workers and patients with spina bifida allergic to natural rubber latex. *J Allergy Clin Immunol*. 1997; 100: 684–93.

Chen Z, Posch A, Cremer R, Raulf-Heimsoth M, Baur X. Identification of hevein (Hev b 6.02) in *Hevea latex* as a major cross-reacting allergen with avocado fruit in patients with latex allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1998; 102: 476–81.

Chruszcz M, Chapman MD, Osinski T, Solberg R, Demas M, Porebski PJ, i cols. *Alternaria alternata* allergen Alt a 1: a unique β -barrel protein dimer found exclusively in fungi. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Jul; 130(1): 241-7.

Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, i cols. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J*. 2014 Feb; 43(2): 343-73.

Cochrane SA, Salt LJ, Wantling E, Rogers A, Coutts J, Ballmer-Weber BK, i cols. Development of a standardized low-dose double-blind placebo-controlled challenge vehicle for the EuroPrevall project. *Allergy*. 2012 Jan; 67(1): 107-13.

Comité de reacciones adversas a alimentos de la Sociedad española de Alergología e Inmunología Clínica. Metodología diagnóstica en la alergia a alimentos. *Alergol. Inmunol Clin* 1999; 14(2): 50-62.

Commins SP, Satinover SM, Hosen J, Mozena J, Borish L, Lewis BD, i cols. Delayed anaphylaxis, angioedema or urticaria after consumption of read meat in patients with IgE antibodies specific for galactose- α -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123: 426-33 [Commins, 2009a].

Commins SP, Platts-Mills TA. Anaphylaxis syndromes related to a new mammalian cross-reactive carbohydrate determinant. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 124: 652-7 [Commins, 2009b].

Commins SP, James HR, Kelly LA, Pochan SL, Workman LJ, Perzanowski MS, i cols. The relevance of tick bites to the production of IgE antibodies to the mammalian oligosaccharide galactose- α -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 May; 127(5): 1286-93.

Comstock SS, Robotham JM, Tawde P, Kshirsagar H, Sathe SK, Roux KH, i cols. Immunoglobulin E-reactive proteins in cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice concentrate. *J Agric Food Chem*. 2008 Jul 23; 56(14): 5977-82.

Constantin C, Quirce S, Poorafshar M, Touraev A, Niggemann B, Mari A, i cols. Microarrayed wheat seed and grass pollen allergens for component-resolved diagnosis. *Allergy*. 2009; 64: 1030-7.

Costa J, Carrapatoso I, Oliveira MB, Mafra I. Walnut allergens: molecular characterization, detection and clinical relevance. *Clin Exp Allergy*. 2014 Mar; 44(3): 319-41.

Costa J, Mafra I, Carrapatoso I, Oliveira MB. Hazelnut Allergens: Molecular Characterisation, Detection and Clinical Relevance. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015 Mar 9:0.

Cramer R. Recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens: from the nucleotide sequences to clinical applications. *Int Arch Allergy Immunol*. 1998; 115: 99-114.

Cuesta-Herranz J, Barber D, Blanco C, Cistero-Bahía A, Crespo JF, Fernández-Rivas M, i cols. Differences among pollen-allergic patients with and without plant food allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010; 153(2): 182-92.

Custovic A, Simpson B, Simpson A, Hallam C, Craven M, Woodcock A. Relationship between mite, cat, and dog allergens in reservoir dust and ambient air. *Allergy*. 1999; 54: 612–6.

Datema MR, Zuidmeer-Jongejan L, Asero R, Barreales L, Belohlavkova S, de Blay F, i cols. Hazelnut allergy across Europe dissected molecularly: A EuroPrevall outpatient clinic survey. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Aug; 136(2): 382-91.

Daul CB, Slattery M, Reese G, Lehrer SB. Identification of the major brown shrimp (*Penaeus aztecus*) allergen as the muscle protein tropomyosin. *Int Arch Allergy Immunol*. 1994; 105: 49-55.

Dearman RJ, Alcocer MJ, Kimber I. Influence of plant lipids on immune responses in mice to the major Brazil nut allergen Ber e 1. *Clin Exp Allergy*. 2007 Apr; 37(4): 582-91.

De Graaf DC, Aerts M, Danneels E, Devreese B. Bee, wasp and ant venomics pave the way for a component-resolved diagnosis of sting allergy. *J Proteomics*. 2009; 72:145–54.

De Knop KJ, Verweij MM, Grimmelikhuijsen M, Philipse E, Hagendorens MM, Bridts CH, i cols. Age-related sensitization profiles for hazelnut (*Corylus avellana*) in a birch-endemic region. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011; 22(1): e139-e149.

Delbourg MF, Guilloux L, Moneret-Vautrin DA, Ville G. Hypersensitivity to banana in latex-allergic patients. Identification of two major banana allergens of 33 and 37 kD. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1996 Apr; 76(4): 321-6.

De Leon MP, Drew AC, Glaspole IN, Suphioglu C, O’Hehir RE, Rolland JM. IgE cross-reactivity between the major peanut allergen Ara h 2 and tree nut allergens. *Mol Immunol*. 2007; 44: 463-71.

De Vouge MW, Thaker AJ, Curran IH, Zhang L, Muradia G, Rode H, i cols. Isolation and expression of a cDNA clone encoding an *Alternaria alternata* Alt a 1 subunit. *Int Arch Allergy Immunol*. 1996; 111: 385–95.

Díaz-Perales A, Lombardero M, Sánchez-Monge R, García-Selles FJ, Pernas M, Fernández-Rivas M, i cols. Lipid-transfer proteins as potential plant panallergens: cross- reactivity among proteins of *Artemisia* pollen, *Castanea* nut and *Rosaceae* fruits, with different IgE-binding capacities. *Clin Exp Allergy*. 2000; 30: 1403-10.

Díaz-Perales A, Blanco C, Sanchez-Monge R, Varela J, Carrillo T, Salcedo G. Analysis of avocado allergen (Prs a 1) IgE-binding peptides generated by simulated gastric fluid digestion. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 112: 1002-7.

Downs SH, Mitakakis TZ, Marks GB, Car NG, Belousova EG, Leüppi JD, i cols. Clinical importance of alternaria exposure in children. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 164: 455–9.

Drew AC, Eusebius NP, Kenins L, de Silva HD, Suphioglu C, Rolland JM, i cols. Hypoallergenic variants of the major latex allergen Hev b 6.01 retaining human T lymphocyte reactivity. *J Immunol.* 2004; 173: 5872–9.

Duffort O, Quintana J, Ipsen H, Barber D, Polo F. Antigenic similarity among group 1 allergens from grasses and quantitation ELISA using monoclonal antibodies to Phl p 1. *Int Arch Allergy Immunol.* 2008; 145(4): 283-90.

Durauer A, Csaszar E, Mechtler K, Jungbauer A, Schmid E. Characterisation of the rubber elongation factor from ammoniated latex by electrophoresis and mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2000; 890:145–58.

D'Urbano LE, Pellegrino K, Artesani MC, Donnanno S, Luciano R, Riccardi C, i cols. Performance of a component-based allergen-microarray in the diagnosis of cow's milk and hen's egg allergy. *Clin Exp Allergy.* 2010 Oct;40(10): 1561-70.

Duro G, Colombo P, Costa MA, Izzo V, Porcasi R, Di Fiore R, i cols. cDNA cloning, sequence analysis and allergological characterization of Par j 2.0101, a new major allergen of the *Parietaria judaica* pollen. *FEBS Lett.* 1996; 399: 295-8.

Ebisawa M, Movérare R, Sato S, Maruyama N, Borres MP, Komata T. Measurement of Ara h 1-, 2-, and 3-specific IgE antibodies is useful in diagnosis of peanut allergy in Japanese children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012 Sep; 23(6): 573-81 [Ebisawa, 2012a].

Ebisawa M, Shibata R, Sato S, Borres MP, Ito K. Clinical utility of IgE antibodies to omega-5 gliadin in the diagnosis of wheat allergy: a pediatric multicenter challenge study. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012, 158: 71-76 [Ebisawa, 2012b].

Ebner C, Hirschwehr R, Bauer L, Breiteneder H, Valenta R, Ebner H, i cols. Identification of allergens in fruits and vegetables: IgE cross-reactivities with the important birch pollen allergens Bet v 1 and Bet v 2 (birch profilin). *J Allergy Clin Immunol.* 1995 May; 95(5 Pt 1): 962-9.

Ebo DG, Bridts CH, Hagendorens MM, De Clerck LS, Stevens WJ. Scampi allergy: from fancy name-giving to correct diagnosis. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2008; 18(3): 228-30.

Ebo DG, Bridts CH, Verweij MM, De Knop KJ, Hagendorens MM, De Clerck LS, i cols. Sensitization profiles in birch pollen-allergic patients with and without oral allergy syndrome to apple: lessons from multiplexed component-resolved allergy diagnosis. *Clin Exp Allergy.* 2010; 40:339-47 [Ebo, 2010a].

Ebo DG, Hagendorens MM, De Knop KJ, Verweij MM, Bridts CH, De Clerck LS, i cols. Component-resolved diagnosis from latex allergy by microarray. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40:348-58 [Ebo, 2010b].

Ebo DG, Verweij MM, Sabato V, Hagendorens MM, Bridts CH, De Clerck LS. Hazelnut allergy: a multi-faced condition with demographic and geographic characteristics. *Acta Clin Belg*. 2012 Sep-Oct; 67(5): 317-21.

Egger M, Mutschlechner S, Wopfner N, Gadermaier G, Briza P, Ferreira F. Pollen-food syndromes associated with weed pollinosis: an Update from the molecular point of view. *Allergy*. 2006; 61: 461-76.

Egger M, Hauser M, Mari A, Ferreira F, Gadermaier G. The role of lipid transfer proteins in allergic diseases. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2010; 10: 326-35.

Eller E, Bindslev-Jensen C. Clinical value of component-resolved diagnostics in peanut-allergic patients. *Allergy*. 2013 Feb; 68(2): 190-4.

Emara M, Royer PJ, Abbas Z, Sewell HF, Mohamed GG, Singh S, i cols. Recognition of the major cat allergen Fel d 1 through the cysteine-rich domain of the mannose receptor determines its allergenicity. *J Biol Chem*. 2011 Apr 15; 286(15): 13033-40.

Enrique E, Alonso R, Bartolomé B, San Miguel-Moncín M, Bartra J, Fernández-Parra B, i cols. IgE reactivity to profilin in *Platanus acerifolia* pollen-sensitized subjects with plant-derived food allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2004; 14: 335-42.

Eriksson NE. Clustering of foodstuffs in food hypersensitivity. An inquiry study in pollen allergic patients. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 1984 Jan-Feb;12(1):28-32.

Esch RE. Grass pollen allergens. *Clin Allergy Immunol*. 2008; 21: 107-26.

Everberg H, Brostedt P, Oman H, Bohman S, Movérare R. Affinity purification of egg-white allergens for improved component-resolved diagnostics. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011; 154(1): 33-41.

Ewbank PA, Murray J, Sanders K, Curran-Everett D, Dreskin S, Nelson HS. A double-blind, placebo-controlled immunotherapy dose-response study with standardized cat extract. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 111: 155-61.

Faber MA, De Graag M, Van Der Heijden C, Sabato V, Hagendorens MM, Bridts CH, i cols. Cor a 14: missing link in the molecular diagnosis of hazelnut allergy? *Int Arch Allergy Immunol*. 2014; 164(3): 200-6.

Fadeeva T, Asin JL, Horrillo-Labrador M, Garriga-Baraut T, Vela RF, Conde SL, i cols. Results of the oral egg-challenge test performed on two different groups of children. One group with a history, suggestive of allergic reaction with egg

intake and the other group sensitised to hen's egg without previous egg intake. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2010 Sep-Oct; 38(5): 233-40.

Feliu A, González-de-Olano D, González E, Rodríguez B, Ruiz-Hornillos J, Jimeno L, i cols. A multicenter study of sensitization profiles in an allergic pediatric population in an area with high allergen exposure. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013; 23(5): 337-44.

Feo F, Martínez J, Martínez A, Galindo PA, Cruz A, García R, i cols. Occupational allergy in saffron workers. *Allergy*. 1997 Jun;52(6):633-41.

Fernandes J, Reshef A, Patton L, Ayuso R, Reese G, Lehrer SB. Immunoglobulin E antibody reactivity to the major shrimp allergen, tropomyosin, in unexposed Orthodox Jews. *Clin Exp Allergy*. 2003; 33: 956-61.

Fernandez-Caldas E, Puerta L, Caraballo L, Lockey RF. Mite allergens. *Clin Allergy Immunol*. 2008; 21:161-82.

Fernández Rivas M. Cross-reactivity between fruit and vegetables. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2003 May-Jun;31(3):141-6 [Fernández-Rivas, 2003a].

Fernández-Rivas M, González-Mancebo E, Rodríguez-Pérez R, Benito C, Sánchez-Monge R, Salcedo G, i cols. Clinically relevant peach allergy is related to peach lipid transfer protein Pru p 3 in the spanish population. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 112: 789-95 [Fernández-Rivas, 2003b].

Fernández-Rivas M, Bolhaar S, González-Mancebo E, Asero R, van Leeuwen A, Bohle B, i cols. Apple allergy across Europe: how allergy sensitization profiles determine the clinical expression of plant food allergies. *J Allergy Clin Immunol*. 2006; 118: 481-88 [Fernández-Rivas, 2006a].

Fernández-Rivas M. Alergia a alimentos. En: SEAIC & Schering-Plough editores. *Alergologica* 2005. Madrid 2006; 227-54 [Fernández-Rivas, 2006b].

Ferrari E, Tsay A, Eggleston PA, Spisni A, Chapman MD. Environmental detection of mouse allergen by means of immunoassay for recombinant Mus m 1. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Aug; 114(2): 341-6.

Fiedler EM, Zuberbier T, Worm M. A combination of wheat flour, ethanol and food additives inducing FDEIA. *Allergy*. 2002 Nov; 57(11): 1090-1.

Figuroa J, Blanco C, Dumpiérrez AG, Almeida L, Ortega N, Castillo R, i cols. Mustard allergy confirmed by double-blind placebo-controlled food challenges: clinical features and cross-reactivity with mugwort pollen and plant-derived foods. *Allergy*. 2005 Jan;60(1):48-55.

Flinterman AE, van Hoffen E, den Hartog Jager CF, Koppelman S, Pasmans SG, i cols. Children with peanut allergy recognize predominantly Ara h 2 and Ara h 6, which remains stable over time. *Clin Exp Allergy*. 2007; 37: 1221-8.

Flinterman AE, Akkerdaas JH, den Hartog Jager CF, Rigby NM, Fernandez-Rivas M, Hoekstra MO, i cols. Lipid transfer protein-linked hazelnut allergy in children from a non-Mediterranean birch-endemic area. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Feb; 121(2): 423-8 [Flinterman, 2008a].

Flinterman AE, Akkerdaas JH, Knulst AC, van Ree R, Pasmans SG. Hazelnut allergy: from pollen-associated mild allergy to severe anaphylactic reactions. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008; 8: 261–5 [Flinterman, 2008b].

Fujii H, Kambe N, Fujisawa A, Kohno K, Morita E, Miyachi Y. Food-dependent exercise-induced anaphylaxis induced by low dose aspirin therapy. *Allergol Int*. 2008; 57: 97–98.

Fujimura T, Shigeta S, Kawamoto S, Aki T, Masubuchi M, Hayashi T, i cols. Two-dimensional IgE-binding spectrum of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2004; 133: 125–35.

Gadermaier G, Wopfner N, Wallner M, Egger M, Didierlaurent A, Regl G, i cols. Array-base profiling of ragweed and mugwort pollen allergens. *Allergy*. 2008; 63: 1543–9.

Gadermaier G, Harrer A, Girbl T, Palazzo P, Himly M, Vogel L, i cols. Isoform identification and characterization of Art v 3, the lipid-transfer protein of mugwort pollen. *Mol Immunol*. 2009; 46: 1919–24.

Gadermaier G, Hauser M, Egger M, Ferrara R, Briza P, Santos KS, i cols. Sensitization prevalence, antibody cross-reactivity and immunogenic peptide profile of Api g 2, the non-specific lipid transfer protein 1 of celery. *PLoS One*. 2011; 6(8): e24150.

Gadermaier G, Hauser M, Ferreira F. Allergens of weed pollen: an overview on recombinant and natural molecules. *Methods*. 2014 Mar 1; 66(1): 55-66.

Gadisseur R, Chapelle JP, Cavalier E. A new tool in the field of in-vitro diagnosis of allergy: preliminary results in the comparison of ImmunoCAP® 250 with the ImmunoCAP® ISAC. *Clin Chem Lab Med*. 2011 Feb; 49(2): 277-80.

Gaier S, Oberhuber C, Hemmer W, Radauer C, Rigby NM, Marsh JT, i cols. Pru p 3 as a marker for symptom severity for patients with peach allergy in a birch pollen environment. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Jul; 124(1):166-7.

Gall H, Steinert M, Peter RU. Exercise-induced anaphylaxis to wheat flour. *Allergy*. 2000; 55: 1096-7.

Gamboa PM, Cáceres O, Antepará I, Sánchez-Monge R, Ahrazem O, Salcedo G, i cols. Two different profiles of peach allergy in the north of Spain. *Allergy*. 2007 Apr; 62(4): 408-14.

Gámez C, Sánchez-García S, Ibáñez MD, López R, Aguado E, López E, i cols. Tropomyosin IgE-positive results are a good predictor of shrimp allergy. *Allergy*. 2011 Oct;66(10):1375-83.

Gangemi S, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, Minciullo PL. Pomegranate-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2008; 18:491-492.

Ganglberger E, Radauer C, Wagner S, Ríordáin G, Beezhold DH, Brehler R, i cols. Hev b 8, the *Hevea brasiliensis* latex profilin, is a cross-reactive allergen of latex, plant foods and pollen. *Int Arch Allergy Immunol*. 2001 Jul; 125(3): 216-27.

García Alonso M, Caballero ML, Umpierrez A, Lluch-Bernal M, Knaute T, Rodríguez-Pérez R. Relationships between T cell and IgE/IgG4 epitopes of the *Anisakis simplex* major allergen Ani s 1. *Clin Exp Allergy*. 2015 May; 45(5): 994-1005.

García BE, Lizaso MT, Moreno C, Rodríguez R, Villalba MT, Ledesma A, i cols. Oleaceae-induced pollinosis in an area with exposure to olive and ash trees. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011; 21(1): 34-7 [García, 2011a].

García BE, Lizaso MT. Cross Reactivity syndromes in food allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011; 21(3): 162-70 [García, 2011b].

García-Blanca A, Aranda A, Blanca-Lopez N, Perez D, Gomez F, Mayorga C, i cols. Influence of age on IgE response in peanut-allergic children and adolescents from the Mediterranean area. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015 Jun 4. doi: 10.1111/pai.12418.

García Ortiz JC, Cosmes Martín P, Lopez-Asunolo A. Melon sensitivity shares allergens with *Plantago* and grass pollens. *Allergy*. 1995 Mar; 50(3):269-73.

García Ortiz JC, Ventas P, Cosmes P, López-Asunsolo A. An immunoblotting analysis of cross-reactivity between melon, and *plantago* and grass pollens. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1996 Nov-Dec; 6(6): 378-82.

García-Robaina JC, Eraso E, De la Torre F, Guisantes J, Martínez A, Palacios R, i cols. Extracts from various mite species contain cross-reactive and noncross-reactive IgE epitopes. A RAST inhibition study. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1998; 8: 285-9.

García-Sellés FJ, Díaz-Perales A, Sánchez-Monge R, Alcántara M, Lombardero M, Barber D, i cols. Patterns of reactivity to lipid transfer proteins of plant foods and *Artemisia* pollen: an in vivo study. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002; 128: 115-22.

Garnier L, Selman L, Rouzaire P, Bouvier M, Roberts O, Berard F, i cols. Molecular allergens in the diagnosis of latex allergy. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2012; 44(2): 73-79.

Gaspar-López A, López-Rocha E, Rodríguez-Mireles K, Segura-Méndez N, Del Rivero-Hernández L. Prevalence of pollinosis in patients with allergic asthma, rhinitis and conjunctivitis in the South of Mexico City 2007-2013. *Rev Alerg Mex*. 2014 Jul-Sep; 61(3): 147-52.

Gepp B, Lengger N, Bublin M, Hemmer W, Breiteneder H, Radauer C. Chimeras of Bet v 1 and Api g 1 reveal heterogeneous IgE responses in patients with birch pollen allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Jul; 134(1): 188-94.

Giuffrida MG, Villalta D, Mistrello G, Amato S, Asero R. Shrimp allergy beyond Tropomyosin in Italy: clinical relevance of Arginine Kinase, Sarcoplasmic calcium binding protein and Hemocyanin. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2014 Sep; 46(5): 172-7.

Glaumann S, Nopp A, Johansson SG, Rudengren M, Borres MP, Nilsson C. Basophil allergen threshold sensitivity, CD-sens, IgE-sensitization and DBPCFC in peanut-sensitized children. *Allergy*. 2012; 67: 242-247.

Glaumann S, Nilsson C, Johansson SG, Asarnej A, Wickman M, Borres MP, i cols. Evaluation of basophil allergen threshold sensitivity (CD-sens) to peanut and Ara h 8 in children IgE-sensitized to Ara h 8. *Clin Mol Allergy*. 2015 Apr 15; 13(1): 5.

González-Mancebo E, González-de-Olano D, Trujillo MJ, Santos S, Gandolfo-Cano M, Meléndez A, i cols. Prevalence of sensitization to lipid transfer proteins and profilins in a population of 430 patients in the south of Madrid. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(4): 278-82.

González-Rioja R, Ferrer A, Arilla MC, Ibarrola I, Viguera AR, Andreu C, i cols. Diagnosis of *Parietaria judaica* pollen allergy using natural and recombinant Par j 1 and Par j 2 allergens. *Clin Exp Allergy*. 2007 Feb; 37(2): 243-50.

Gosepath J, Amedee RG, Mann WJ. Nasal provocation testing as an international standard for evaluation of allergic and nonallergic rhinitis. *Laryngoscope*. 2005; 115: 512-6.

Grönlund H, Adédoyin J, Reininger R, Varga EM, Zach M, Fredriksson M, i cols. Higher immunoglobulin E antibody levels to recombinant Fel d 1 in cat-allergic children with asthma compared with rhinoconjunctivitis. *Clin Exp Allergy*. 2008 Aug; 38(8):1275-81.

Grönlund H, Adédoyin J, Commins SP, Platts-Mills TA, van Hage M: The carbohydrate galactose-alpha-1,3-galactose is a major IgE-binding epitope on cat IgA. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 May; 123(5): 1189-91 [Grönlund, 2009a].

Grönlund H, Saarne T, Gafvelin G, van Hage M. The major cat allergen, fel d 1, in diagnosis and therapy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009; 151(4): 265-74 [Grönlund, 2009b].

Guerra B. Síndrome látex fruta. *Allergol et Immunopathol.* 2002; 30(3): 156-63).

Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA). Actualización 2015. www.gemasma.com. <http://www.semg.es/documentos-semg/guias/1164-gema-4-0-2015.html>.

Guo F, Kothary MH, Wang Y, Yu X, Howard AJ, Fu TJ, i cols. Purification and crystallization of Cor a 9, a major hazelnut allergen. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun.* 2009 Jan 1; 65(Pt 1): 42-6.

Hales BJ, Chai LY, Hazell L, Elliot CE, Stone S, O'Neil SE, i cols. IgE and IgG binding patterns and T-cell recognition of Fel d 1 and non-Fel d 1 cat allergens. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2013 Nov-Dec; 1(6): 656-65.

Halonen M, Stern DA, Wright AL, Taussig LM, Martinez FD. Alternaria as a major allergen for asthma in children raised in a desert environment. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 155: 1356–61.

Han GD, Matsuno M, Ito G, Ikeuch Y, Suzuki A. Meat allergy: investigation of potential allergenic proteins in beef. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2000 Sep; 64(9): 1887-95.

Hansen KS, Ballmer-Weber BK, Sastre J, Lidholm J, Andersson K, Oberhofer H, i cols. Component-resolved in vitro diagnosis of hazelnut allergy in Europe. *J Allergy Clin Immunol.* 2009 May; 123(5): 1134-41.

Harada S, Horikawa T, Ashida M, Kamo T, Nishioka E, Ichihashi M. Aspirin enhances the induction of type I allergic symptoms when combined with food and exercise in patients with food-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Br J Dermatol.* 2001 Aug; 145(2): 336-9.

Hartz C, Lauer I, Del Mar San Miguel Moncin M, Cistero-Bahima A, Foetisch K, Lidholm J, i cols. Comparison of IgE-Binding Capacity, Cross-Reactivity and Biological Potency of Allergenic Non-Specific Lipid Transfer Proteins from Peach, Cherry and Hazelnut. *Journal. Int Arch Allergy Immunol.* 2010; 153(4): 335-46.

Hatzler L, Panetta V, Lau S, Wagner P, Bergmann RL, Illi S, i cols. Molecular spreading and predictive value of preclinical IgE response to Phleum pratense in children with hay fever. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Oct; 130(4): 894–901.

Hauser M, Asam C, Himly M, Palazzo P, Voltolini S, Montanari C, i cols. Bet v 1-like pollen allergens of multiple Fagales species can sensitize atopic individuals. *Clin Exp Allergy.* 2011 Dec; 41(12):1804-14.

Hauser M, Roulias A, Ferreira F, Egger M. Panallergens and their impact on the allergic patient. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2010 Jan 18; 6(1):1.

Hejl C, Wurtzen PA, Kleine-Tebbe J, Johansen N, Broge L, Ipsen H. Phleum pratense alone is sufficient for allergen-specific immunotherapy against allergy to pooidae grass pollens. *Clin Exp Allergy*. 2009; 39: 752–9.

Hemmann S, Nikolaizik WH, Schoni MH, Blaser K, Cramer R. Differential IgE recognition of recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens by cystic fibrosis patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis or aspergillus allergy. *Eur J Immunol*. 1998; 28:1155-60.

Hemmer W, Focke M, Gotz M, Jarisch R. Sensitization to ficus benjamina: relationship to natural rubber latex allergy and identification of foods implicated in the ficus-fruit syndrome. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34: 1251–8.

Henriksen A, King TP, Mirza O, Monsalve RI, Meno K, Ipsen H, i cols. Major venom allergen of yellow jackets, Ves v 5: structural characterization of a pathogenesis-related protein superfamily. *Proteins*. 2001; 45: 438–48.

Herrera-Mozo I, Ferrer B, Luís Rodríguez-Sánchez J, Juárez C. Description of a novel panallergen of cross-reactivity between moulds and foods. *Immunol Invest*. 2006;35(2):181-97.

Hilger C, Kohnen M, Grigioni F, Lehnert C, Hentges F. Allergic cross-reactions between cat and pig serum albumin. Study at the protein and DNA levels. *Allergy*. 1997; 52: 179–87.

Himly M, Jahn-Schmid B, Dedic A, Kelemen P, Wopfner N, Altmann F, i cols. Art v 1, the major allergen of mugwort pollen, is a modular glycoprotein with a defensin-like and a hydroxyproline-rich domain. *FASEB J*. 2003; 17: 106–8.

Hirschfeld G, Weber L, Renkl A, Scharffetter-Kochanek K, Weiss JM. Anaphylaxis after Oseltamivir (Tamiflu) therapy in a patient with sensitization to star anise and celery-carrot-mugwort-spice syndrome. *Allergy*. 2008 Feb;63(2):243-4.

Hofmann C, Scheurer S, Rost K, Graulich E, Jamin A, Foetisch K, i cols. Cor a 1-reactive T cells and IgE are predominantly cross-reactive to Bet v 1 in patients with birch pollen-associated food allergy to hazelnut. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 May; 131(5): 1384-92.

Hofmann SC, Pfender N, Weckesser S, Huss-Marp J, Jakob T. Added value of IgE detection to rApi m 1 and rVes v 5 in patients with Hymenoptera venom allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011; 127(1): 265-7.

Hoffmann-Sommergruber K, O'Riordain G, Ahorn H, Ebner C, Laimer Da Camara Machado M, Pühringer H, i cols. Molecular characterization of Dau c 1, the Bet v 1 homologous protein from carrot and its cross-reactivity with Bet v 1 and Api g 1. *Clin Exp Allergy*. 1999 Jun; 29(6): 840-7 [Hoffmann-Sommergruber, 1999a].

Hoffmann-Sommergruber K, Demoly P, Cramer R, Breiteneder H, Ebner C, Laimer Da Camara Machado M, i cols. IgE reactivity to Api g 1, a major celery allergen, in a Central European population is based on primary sensitization by Bet v 1. *J Allergy Clin Immunol*. 1999 Aug; 104(2 Pt 1): 478-84 [Hoffmann-Sommergruber, 1999b].

Hoffmann-Sommergruber K, Ferris R, Pec M, Radauer C, O'Riordain G, Laimer Da Camara Machado M, i cols. Characterization of api g 1.0201, a new member of the Api g 1 family of celery allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2000 Jun; 122(2): 115-23.

Holzhauser T, Wackermann O, Ballmer-Weber BK, Bindslev-Jensen C, Scibilia J, Perono-Garoffo L, i cols. Soybean (*Glycine max*) allergy in Europe: gly m 5 (beta-conglycinin) and Gly m 6 (glycinin) are potential diagnostic markers for severe allergic reactions to soy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123: 452-8.

Hurlburt BK, Offermann LR, McBride JK, Majorek KA, Maleki SJ, Chruszcz M. Structure and function of the peanut panallergen Ara h 8. *J Biol Chem*. 2013 Dec 27; 288(52): 36890-901.

Imai T, Yanagida N, Ogata M, Komata T, Tomikawa M, Ebisawa M. The skin prick test is not useful in the diagnosis of the immediate type food allergy tolerance acquisition. *Allergol Int*. 2014 Jun; 63(2): 205-10.

Immonen A, Farci S, Taivainen A, Partanen J, Pouvelle-Moratille S, Närvänen A, i cols. T cell epitope-containing peptides of the major dog allergen Can f 1 as candidates for allergen immunotherapy. *J Immunol*. 2005 Sep 15; 175(6): 3614-20.

Immonen AK, Taivainen AH, Närvänen AT, Kinnunen TT, Saarelainen SA, Rytönen-Nissinen MA, i cols. Use of multiple peptides containing T cell epitopes is a feasible approach for peptide-based immunotherapy in Can f 1 allergy. *Immunology*. 2007 Jan; 120(1): 38-46.

Inoue N, Yamamoto A, Matsumoto S, Ishigaki N. Food-dependent exercise-induced anaphylaxis that was difficult to evoke by a provocation test. *Alerugi*. 2011 Nov; 60(11): 1560-6.

Inschlag C, Hoffmann-Sommergruber K, O'Riordain G, Ahorn H, Ebner C, Scheiner O, i cols. Biochemical characterization of Pru a 2, a 23-kD thaumatin-like protein representing a potential major allergen in cherry (*Prunus avium*). *Int Arch Allergy Immunol*. 1998 May; 116(1): 22-8.

Ito K, Futamura M, Borres MP, Takaoka Y, Dahlstrom J, Sakamoto T, i cols. IgE antibodies to omega-5 gliadin associate with immediate symptoms on oral wheat challenge in Japanese children. *Allergy*. 2008 Nov; 63(11): 1536-42.

Ito K, Sjölander S, Sato S, Movérare R, Tanaka A, Söderström L, i cols. IgE to Gly m 5 and Gly m 6 is associated with severe allergic reactions to soybean in Japanese children. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Sep; 128(3): 673-5.

Jacquet S, Morisset M, Battais F, Denery-Papini S, Croizier A, Baudouin E, i cols. Interest of ImmunoCAP system to recombinant omega-5 gliadin for the diagnosis of exercise-induced wheat allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009; 149: 74-80.

Jahn-Schmid B, Harwanegg C, Hiller R, Bohle B, Ebner C, Scheiner O, i cols. Allergen microarray: comparison of microarray using recombinant allergens with conventional diagnostic methods to detect allergen-specific serum immunoglobulin E. *Clin Exp Allergy*. 2003 Oct; 33(10): 1443-9.

James JM, Helm RM, Burks AW, Lehrer SB. Comparison of pediatric and adult IgE antibody binding to fish proteins. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1997 Aug; 79(2): 131-7.

Järvinen KM, Chatchatee P, Bardina L, Beyer K, Sampson HA. IgE and IgG binding epitopes on alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin in cow's milk allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2001 Oct; 126(2): 111-8.

Järvinen KM, Beyer K, Vila L, Chatchatee P, Busse PJ, Sampson HA. B-cell epitopes as a screening instrument for persistent cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 110:293-7.

Järvinen KM, Beyer K, Vila L, Bardina L, Mishoe M, Sampson HA. Specificity of IgE antibodies to sequential epitopes of hen's egg ovomucoid as a marker for persistence of egg allergy. *Allergy*. 2007; 62:758-65.

Järvinen KS, Chatchatee P. Mammalian milk allergy: clinical suspicion, cross-reactivities and diagnosis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009; 9: 265-9.

Javaloyes G, Goikoetxea MJ, García Núñez I, Sanz ML, Blanca M, Scheurer S, i cols. Performance of different in vitro techniques in the molecular diagnosis of peanut allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012; 22(7): 508-13.

Jeong KY, Hong CS, Yong TS. Allergenic tropomyosins and their cross-reactivities. *Protein Pept Lett*. 2006; 13(8): 835-45.

Jimeno L, Duffort O, Serrano C, Barber D, Polo F. Monoclonal antibody-based ELISA to quantify the major allergen of *Artemisia vulgaris* pollen, Art v 1. *Allergy*. 2004; 59: 995-1001

Jin C, Hantusch B, Hemmer W, Stadlmann J, Altmann F. Affinity of IgE and IgG against cross-reactive carbohydrate determinants on plant and insect glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 121: 185-90.

Johansen N, Weber RW, Ipsen H, Barber D, Broge L, Hejl C. Extensive IgE cross-reactivity towards the Pooideae grasses substantiated for a large number of grass-pollen-sensitized subjects. *Int Arch Allergy Immunol.* 2009; 150: 325-34.

Jones SM, Magnolfi CF, Cooke SK, Sampson HA. Immunologic cross-reactivity among cereal grains and grasses in children with food hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 1995; 96: 341-51.

Karisola P, Kotovuori A, Poikonen S, Niskanen E, Kalkkinen N, Turjanmaa K, i cols. Isolated hevein-like domains, but not 31-kd endochitinases, are responsible for IgE-mediated in vitro and in vivo reactions in latex–fruit syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 115: 598-605.

Kattan JD, Wang J. Allergen component testing for food allergy: ready for prime time? *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013 Feb; 13(1): 58-63.

Kattan JD, Sicherer SH, Sampson HA. Clinical reactivity to hazelnut may be better identified by component testing than traditional testing methods. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2014 Sep-Oct; 2(5): 633-4.

Kazemi-Shirazi L, Niederberger V, Linhart B, Lidholm J, Kraft D, Valenta R. Recombinant marker allergens: diagnostic gatekeepers for the treatment of allergy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2002; 127(4): 259-68.

Kespohl S, Raulf M. Mould allergens: Where do we stand with molecular allergy diagnostics?: Part 13 of the series Molecular Allergology. *Allergo J Int.* 2014; 23(4): 120-125.

Kidon MI, Chiang WC, Liew WK, Ong TC, Tiong YS, Wong KN, i cols. Mite component-specific IgE repertoire and phenotypes of allergic disease in childhood: the tropical perspective. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011 Mar; 22(2): 202-10.

Kim J, Kim HY, Park MR, Choi J, Shim JY, Kim MJ, Han Y, i cols. Diagnostic Decision Points of Specific IgE Concentrations in Korean Children With Egg and Cow's Milk Allergies. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2015 Jul; 7(4): 332-8.

Kim JS, Nowak-Węgrzyn A. Component-resolved diagnostics: shedding light on the so-called 'squishy science' of food allergies? *Int Arch Allergy Immunol.* 2011; 156(3): 231-3.

Kleine-Tebbe J, Kleine-Tebbe A, Jeep S, Schou C, Lowenstein H, Kunkel G. Role of the major allergen (Fel d I) in patients sensitized to cat allergens. *Int Arch Allergy Immunol.* 1993; 100: 256–62.

Klemans RJ, Knol EF, Bruijnzeel-Koomen CA, Knulst AC. The diagnostic accuracy of specific IgE to Ara h 6 in adults is as good as Ara h 2. *Allergy.* 2014 Aug; 69(8): 1112-4.

Kohler J, Blank S, Muller S, Bantleon F, Frick M, Huss-Marp J, i cols. Component resolution reveals additional major allergens in patients with honeybee venom allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 133(5): 1383-9.

Koppelman SJ, Vlooswijk RA, Knippels LM, Hessing M, Knol EF, van Reijssen FC, i cols. Quantification of major peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2 in the peanut varieties Runner, Spanish, Virginia, and Valencia, bred in different parts of the world. *Allergy*. 2001 Feb; 56(2): 132-7.

Koppelman SJ, Wensing M, Ertmann M, Knulst Ac, Knol EF. Relevance of Ara h 1, Ara h 2 and Ara h 3 in peanut-allergic patients, as determined by immunoglobulin E Western blotting, basophil-histamine release and intracutaneous testing: Ara h 2 is the most important peanut allergen. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34: 583-90.

Kosma P, Sjolander S, Landgren E, Borres MP, Hedlin G. Severe reactions after the intake of soy drink in birch pollen-allergic children sensitized to Gly m 4. *Acta Paediatr*. 2011; 100: 305–6.

Krause S, Reese G, Randow S, Zennaro D, Quarantino D, Palazzo P, i cols. Lipid transfer protein (Ara h 9) as a new peanut allergen relevant for a Mediterranean allergic population. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 124: 771–8.

Krebitz M, Wagner B, Ferreira F, Peterbauer C, Campillo N, Witty M, i cols. Plant-based heterologous expression of Mal d 2, a thaumatin-like protein and allergen of apple (*Malus domestica*), and its characterization as an antifungal protein. *J Mol Biol*. 2003 Jun 13;329(4):721-30.

Kulis M, Pons L, Burks AW. In vivo and T cell cross-reactivity between walnut, cashew and peanut. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009; 148 (2): 109-17.

Kurup VP, Banerjee B, Hemmann S, Greenberger PA, Blaser K, Cramer R. Selected recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens bind specifically to IgE in ABPA. *Clin Exp Allergy*. 2000 Jul; 30(7): 988-93.

Kurup VP, Shen HD, Banerjee B. Respiratory fungal allergy. *Microbes Infect*. 2000 Jul; 2(9): 1101-10.

Kurup VP. Fungal allergens. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2003; 3: 416–23.

Kustrzeba-Wójcicka I, Siwak E, Terlecki G, Wolańczyk-Mędrala A, Mędrala W. *Alternaria alternata* and its allergens: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2014 Dec; 47(3): 354-65.

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227: 680-5.

Lange L, Beyer K, Kleine-Tebbe J. Benefits and limitations of molecular diagnostics in peanut allergy: Part 14 of the series Molecular Allergology. *Allergo J Int.* 2014; 23(5): 158-163.

Lauer I, Miguel-Moncin MS, Abel T, Foetisch K, Hartz C, Fortunato D, i cols. Identification of a plane pollen lipid transfer protein (Pla a 3) and its immunological relation to the peach lipid-transfer protein, Pru p 3. *Clin Exp Allergy.* 2007; 37: 261-9.

Lauer I, Dueringer N, Pokoj S, Rehm S, Zoccatelli G, Reese G, i cols. The non-specific lipid transfer protein, Ara h 9, is an important allergen in peanut. *Clin Exp Allergy.* 2009; 39: 1427-37.

Le TM, Bublin M, Breiteneder H, Fernández-Rivas M, Asero R, Ballmer-Weber B, i cols. Kiwifruit allergy across Europe: clinical manifestation and IgE recognition patterns to kiwifruit allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Jan; 131(1): 164-71.

Leb VM, Jahn-Schmid B, Schmetterer KG, Kueng HJ, Haiderer D, Neunkirchner A, i cols. Molecular and functional analysis of the antigen receptor of Art v 1-specific helper T lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121: 64–71.

Ledesma A, Villalba M, Rodríguez R. Cloning, expression and characterization of a novel four EF-hand Ca(2+)-binding protein from olive pollen with allergenic activity. *FEBS Lett.* 2000 Jan 21; 466(1): 192-6.

Lee MF, Song PP, Hwang GY, Lin SJ, Chen YH. Sensitization to Per a 2 of the American cockroach correlates with more clinical severity among airway allergic patients in Taiwan. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2012; 108: 243–248.

Lehto M, Airaksinen L, Puustinen A, Tillander S, Hannula S, Nyman T, i cols. Thaumatin-like protein and baker's respiratory allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010 Feb;104(2):139-46.

Lemon-Mulé H, Sampson HA, Sicherer SH, Shreffler WG, Noone S, Nowak-Wegrzyn A. Immunologic changes in children with egg allergy ingesting extensively heated egg. *J Allergy Clin Immunol.* 2008 Nov; 122(5): 977-983.

Lent AM, Harbeck R, Strand M, Sills M, Schmidt K, Efaw B, i cols. Immunologic response to administration of standardized dog allergen extract at differing doses. *J Allergy Clin Immunol.* 2006; 118: 1249–56.

Leonard R, Petersen BO, Himly M, Kaar W, Wopfner N, Kolarich D, i cols. Two novel types of O- glycans on the mugwort pollen allergen Art v 1 and their role in antibody binding. *J Biol Chem.* 2005; 280: 7932-40.

Liccardi G, Russo M, Mistrello G, Falagiani P, D'Amato M, D'Amato G. Sensitization to pistachio is common in Parietaria allergy. *Allergy.* 1999 Jun;54(6):643-5.

Ligabue-Braun R, Sachett LG, Pol-Fachin L, Verli H. The Calcium Goes Meow: Effects of Ions and Glycosylation on Fel d 1, the Major Cat Allergen. *PLoS One*. 2015 Jul 2; 10(7): e0132311.

Lim DL, Neo KH, Yi FC, Chua KY, Goh DL, Shek LP, i cols. Parvalbumin--the major tropical fish allergen. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008 Aug; 19(5): 399-407.

Lin J, Bardina L, Shreffler WG, Andrae DA, Ge Y, Wang J, i cols. Development of a novel peptide microarray for large-scale epitope mapping of food allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 124: 315-22.

Lin J, Bruni FM, Fu Z, Maloney J, Bardina L, Boner AL, i cols. A bioinformatics approach to identify patients with symptomatic peanut allergy using peptide microarray immunoassay. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 May; 129(5): 1321-8.

Lizaso MT, Martínez A, Asturias JA, Algorta J, Madariaga B, Labarta N, i cols. Biological standardization and maximum tolerated dose estimation of an *Alternaria alternata* allergenic extract. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2006; 16(2): 94-103.

Lizaso MT, Tabar AI, García BE, Gómez B, Algorta J, Asturias JA, i cols. Double-blind, placebo-controlled *Alternaria alternata* immunotherapy: in vivo and in vitro parameters. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008 Feb; 19(1): 76-81.

Lizaso MT, García BE, Tabar AI, Lasa E, Echechipía S, Alvarez MJ, i cols. Comparison of conventional and component-resolved diagnostics by two different methods (Advia-Centaur/Microarray-ISAC) in pollen allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2011 Jul; 107(1): 35-41.

Lleonart R, Cisteró A, Carreira J, Batista A, Moscoso del Prado J. Food allergy: identification of the major IgE-binding component of peach (*Prunus persica*). *Ann Allergy*. 1992 Aug; 69(2): 128-30.

Lluch-Bernal M, Sastre J, Fernández-Caldas E, Marañón F, Cuesta-Herranz J, De las Heras M, i cols. Conjunctival provocation tests in the diagnosis of *Anisakis simplex* hypersensitivity. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2002; 12: 21-4.

Lombardero M, Quirce S, Duffort O, Barber D, Carpizo J, Chamorro MJ, i cols. Monoclonal antibodies against *Olea europaea* major allergen activity of affinity purified allergen and depleted extract and development of a radioimmunoassay for the quantitation of the allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 1992; 89: 884-94.

Lombardero M, García-Sellés FJ, Polo F, Jimeno L, Chamorro MJ, García-Casado G, i cols. Prevalence of sensitization to *Artemisia* allergens Art v 1, Art v 3 and Art v 60 kDa. Cross-reactivity among Art v 3 and other relevant lipid transfer protein allergens. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34: 1415-21.

Lopata AL, Lehrer SB. New insights into seafood allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009; 9: 270-7.

Lopata AL, O'Hehir RE, Lehrer S. Selfish allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40: 850-8.

Lorusso JR, Moffat S, Ohman JL Jr. Immunologic and biochemical properties of the major mouse urinary allergen (Mus m 1). *J Allergy Clin Immunol*. 1986 Nov;78(5 Pt 1): 928-37.

Luengo O, Mollá R, Gámez C, Cardona V, López E, Sastre B, i cols. Allergenicity and cross-reactivity of *Senecio* pollen: identification of novel allergens using the immunoproteomics approach. *Clin Exp Allergy*. 2008 Jun; 38(6): 1048-60.

Luengo O, Garriga T, Labrador-Horrillo, Cardona V. Component resolved diagnosis in pollinosis. 29st congress of the European Academy for Allergy and Clinical Immunology 2010, United Kingdom, London, Poster 1636.

Lüttkopf D, Ballmer-Weber BK, Wuthrich B, Vieths S. Celery allergens in patients with positive double-blind placebo-controlled food challenge. *J Allergy Clin Immunol*. 2000; 106: 390-9.

Lüttkopf D, Müller U, Skov PS, Ballmer-Weber BK, Wüthrich B, Skamstrup Hansen K, i cols. Comparison of four variants of a major allergen in hazelnut (*Corylus avellana*) Cor a 1.04 with the major hazel pollen allergen Cor a 1.01. *Mol Immunol*. 2002 Jan; 38(7): 515-25.

Malandain H, Giroux F, Cano Y. The influence of carbohydrate structures present in common allergen sources on specific IgE results. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2007; 39:216-20.

Malling HJ. "Allergen standardisation and skin tests. Methods of skin testing". *Allergy*. 1993; 48(suppl 14): 55-6.

Mari A, Iacovacci P, Afferni C, Barletta B, Tinghino R, Di Felice G, i cols. Specific IgE to cross-reactive carbohydrate determinants strongly affect the in vitro diagnosis of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 1999 Jun; 103(6): 1005-11.

Mari A. Multiple pollen sensitization: a molecular approach to the diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2001; 125: 57-65.

Mari A. IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: analysis of the distribution and appraisal of the in vivo and in vitro reactivity. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002 Dec; 129(4): 286-95.

Mari A. Skin test with a timothy grass (*Phleum pratense*) pollen extract vs. IgE to a timothy extract vs. IgE to rPhl p 1, rPhl p 2, nPhl p 4, rPhl p 5, rPhl p 6, rPhl p 7, rPhl p 11, and rPhl p 12: epidemiological and diagnostic data. *Clin Exp Allergy*. 2003 Jan; 33(1): 43-51

Mari A. When does a protein become an allergen? Searching for a dynamic definition based on most advanced technology tools. *Clin Exp Allergy*. 2008; 38: 1089–94.

Martínez A, Asturias JA, Monteseirín J, Moreno V, García-Cubillana A, Hernández M, i cols. The allergenic relevance of profilin (Ole e 2) from *Olea europaea* pollen. *Allergy*. 2002; 57 (Suppl. 71): 17–23.

Martínez-Cañavate Burgos A, Valenzuela-Soria A, Rojo-Hernández A. Immunotherapy with *Alternaria alternata*: present and future. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2007 Nov-Dec; 35(6): 259-63.

Masthoff LJ, Mattsson L, Zuidmeer-Jongejan L, Lidholm J, Andersson K, Akkerdaas JH, i cols. Sensitization to Cor a 9 and Cor a 14 is highly specific for a hazelnut allergy with objective symptoms in Dutch children and adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; Aug; 132(2): 393-9.

Masthoff LJ, van Hoffen E, de Reus A, Boonacker CW, Bruijnzeel-Koomen CA, Pasmans SG, i cols. Hazelnut allergy differs between children and adults in frequency of severity, aetiology and relevance of diagnostic parameters. *Clin Exp Allergy*. 2014 Dec; 44(12): 1539-45.

Masthoff LJ, van Hoffen E, Mattsson L, Lidholm J, Andersson K, Zuidmeer-Jongejan L, i cols. Peanut allergy is common among hazelnut-sensitized subjects but is not primarily the result of IgE cross-reactivity. *Allergy*. 2015 Mar; 70(3): 265-74.

Matsukura S, Aihara M, Sugawara M, Kunimi Y, Matsuki M, Inoue Y, i cols. Two cases of wheat-dependent anaphylaxis induced by aspirin administration but not by exercise. *Clin Exp Dermatol*. 2010; 35:233–237.

Matsuo H, Kohno K, Niihara H, Morita E. Specific IgE determination to epitope peptides of omega-5 gliadin and high molecular weight glutenin subunit is a useful tool for diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Immunol*. 2005; 175: 8116–22.

Mattsson L, Lundgren T, Everberg H, Larsson H, Lidholm J. Prostatic kallikrein: a new major dog allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123:362–8.

Ma Y, Griesmeier U, Susani M, Radauer C, Briza P, Ertler A, i cols. Comparison of natural and recombinant forms of the major fish allergen parvalbumin from cod and carp. *Mol Nutr Food Res*. 2008; 52 (Suppl. 2): S196–207.

McWilliam V, Koplin J, Lodge C, Tang M, Dharmage S, Allen K. The Prevalence of Tree Nut Allergy: A Systematic Review. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015 Sep; 15 (9): 555.

Melioli G, Bonifazi F, Bonini S, Maggi E, Mussap M, Passalacqua G, i cols. The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized

Italian patients with respiratory symptoms. *Clin Biochem.* 2011 Aug; 44(12): 1005-11.

Melioli G, Marcomini L, Agazzi A, Bazurro G, Tosca M, Rossi GA, i cols. The IgE repertoire in children and adolescents resolved at component level: a cross-sectional study. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012 Aug; 23(5): 433-40.

Menz G, Dolecek C, Schönheit-Kenn U, Ferreira F, Moser M, Schneider T, i cols. Serological and skin-test diagnosis of birch pollen allergy with recombinant Bet v I, the major birch pollen allergen. *Clin Exp Allergy.* 1996; 26: 50–60.

Mertens M, Brehler R: Suitability of different glycoproteins and test systems for detecting cross-reactive carbohydrate determinant-specific IgE in hymenoptera venom-allergic patients. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011; 156: 43–50.

Metz-Favre C, Pauli G, Bessot JC, De Blay F. Molecular allergology in practice: an unusual case of LTP allergy. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2011 Dec; 43(6): 193-5.

Miceli Sopo S, Monaco S, Giorgio V, Calvani M, Mistrello G, Onesimo R. Food-dependent exercise-induced anaphylaxis (FDEIA) by nectarine in a paediatric patient with weakly positive nectarine prick-by-prick and negative specific IgE to Pru p 3. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2013; May-Jun;41(3): 201-3.

Minami T, Fukutomi Y, Lidholm J, Yasueda H, Saito A, Sekiya K, i cols. IgE Abs to Der p 1 and Der p 2 as diagnostic markers of house dust mite allergy as defined by a bronchoprovocation test. *Allergol Int.* 2015 Jan; 64(1): 90-5.

Mittag D, Akkerdaas J, Ballmer-Weber BK, Vogel L, Wensing M, Becker WM, i cols. Ara h 8, a Bet v 1-homologous allergen from peanut, is a major allergen in patients with combined birch pollen and peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 114: 1410–7.

Mittermann I, Zidarn M, Silar M, Markovic-Housley Z, Aberer W, Korosec P, i cols. Recombinant allergen-based IgE testing to distinguish bee and wasp allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2010, 125:1300–1307.

Mohapatra SS, Lockey RF, Shirley S. Immunobiology of grass pollen allergens. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2005; 5:381–7.

Mohapatra SS, Lockey RF, Polo F. Weed pollen allergens. *Clin Allergy Immunol.* 2008; 21:127–39.

Monsalve RI, Vega A, Marques L, Miranda A, Fernandez J, Soriano V, i cols. Component-resolved diagnosis of vespidae venom-allergic individuals: phospholipases and antigen 5s are necessary to identify *Vespula* or *Polistes* sensitization. *Allergy.* 2012; 67(4): 528-536.

Morales M, López-Matas MÁ, Moya R, Carnés J. Cross-reactivity among non-specific lipid-transfer proteins from food and pollen allergenic sources. *Food Chem.* 2014 Dec 15; 165: 397-402.

Morales M, Iraola V, Leonor JR, Bartra J, Rodríguez F, Boquete M, i cols. Different sensitization to storage mites depending on the co-exposure to house dust mites. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2015 Jan; 114(1): 36-42.

Moreira PF, Gangl K, Vieira Fde A, Ynoue LH, Linhart B, Flicker S, i cols. Allergen Microarray Indicates Pooidae Sensitization in Brazilian Grass Pollen Allergic Patients. *PLoS One.* 2015 Jun 11;10(6): e0128402.

Moreno-Aguilar C. Improving pollen immunotherapy: minor allergens and panallergens. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2008; 36(1): 26-30.

Morita E, Matsuo H, Chinuki Y, Takahashi H, Dahlstrom J, Tanaka A. Food-dependent exercise-induced anaphylaxis -importance of omega-5 gliadin and HMW-glutenin as causative antigens for wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Allergol Int.* 2009;58: 493–8.

Mothes N, Valenta R. Biology of tree pollen allergens. *Curr Allergy Asthma Rep* 2004; 4:384–90 [Mothes, 2004a].

Mothes N, Horak F, Valenta R. Transition from a botanical to a molecular classification in tree pollen allergy: implications for diagnosis and therapy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2004 Dec; 135(4): 3 [Mothes, 2004b].

Mothes N, Valenta R, Spitzauer S. Allergy testing: the role of recombinant allergens. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44(2): 125-32.

Movérare R, Westritschnig K, Svensson M, Hayek B, Bende M, Pauli G, i cols. Different IgE reactivity profiles in birch pollen-sensitive patients from six European populations revealed by recombinant allergens: an imprint of local sensitization. *Int Arch Allergy Immunol.* 2002; 128: 325–35.

Movérare R, Ahlstedt S, Bengtsson U, Borres MP, van Hage M, Poorafshar M, i cols. Evaluation of IgE antibodies to recombinant peanut allergens in patients with reported reactions to peanut. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011; 156(3): 282-90.

Muehlmeier G, Maier H. Polysensitisation to pollen due to profilin and calcium-binding protein: distribution of IgE antibodies to marker allergens in grass and birch pollen allergic rhinitis patients in southern Germany. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2014 Apr; 271(4): 719-25.

Muller UR, Johansen N, Petersen AB, Fromberg-Nielsen J, Haeberli G. Hymenoptera venom allergy: analysis of double positivity to honey bee and *Vespula* venom by estimation of IgE antibodies to species-specific major allergens Api m1 and Ves v5. *Allergy.* 2009; 64: 543–8.

Muller U, Schmid-Grendelmeier P, Hausmann O, Helbling A. IgE to recombinant allergens Api m 1, Ves v 1, and Ves v 5 distinguish double sensitization from crossreaction in venom allergy. *Allergy*. 2012, 67: 1069–73.

Mullins RJ, James H, Platts-Mills TA, Commins S. Relationship between red meat allergy and sensitization to gelatin and galactose- α -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 May; 129(5): 1334-42.

Nakamura K, Inomata N, Ikezawa Z. Dramatic augmentation of wheat allergy by aspirin in a dose-dependent manner. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2006; 97: 712–3.

Nanda A, O'connor M, Anand M, Dreskin SC, Zhang L, Hines B, i cols. Dose dependence and time course of the immunologic response to administration of standardized cat allergen extract. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 114: 1339-44.

Navarro A, Colas C, Antón E, Conde J, Davila I, Dordal T. (Comité Rinoconjuntivitis SEAIC). Epidemiology of Allergic Rhinitis in Allergy Consultations in Spain: Alergologica-2005. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009; 19 (suppl 2): 7-13.

Navuluri L, Parvataneni S, Hassan H, Birmingham NP, Kelly C, Gangur V. Allergic and anaphylactic response to sesame seeds in mice: identification of Ses i 3 and basic subunit of 11s globulins as allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2006; 140(3): 270-6.

Nicolaou N, Poorafshar M, Murray C, Simpson A, Winell H, Kerry G, i cols. Allergy or tolerance in children sensitized to peanut: prevalence and differentiation using component-resolved diagnostics. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125:191–7.

Nicolaou N, Custovic A. Molecular diagnosis of peanut and legume allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011; 11: 222-8.

Nieto M, Lafuente I, Calderon R, Uixera S, Pina R, Calaforra S, i cols. Component-resolved diagnosis: performance of specific IgE to *Alternaria* compared to Alt a 1. *Pediatr Allergy Immunol*. 2014 Dec; 25(8): 832-4.

Nieto A, Mazón A, Boquete M, Carballada F, Asturias JA, Martínez J, i cols. Assessment of profilin as an allergen for latex-sensitized patients. *Allergy*. 2002 Sep; 57(9): 776-84.

Niggemann B, Breiteneder H. Latex allergy in children. *Int Arch Allergy Immunol*. 2000 Feb; 121(2): 98-107.

Nilsson C, Brostedt P, Hidman J, van Odijk J, Borres MP, Sjölander S, Englund H. Recognition pattern of kiwi seed storage proteins in kiwifruit allergic children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015 Jul 16. doi: 10.1111/pai.12449.

Nilsson OB, Binnmyr J, Zoltowska A, Saarne T, van Hage M, Grönlund H. Characterization of the dog lipocalin allergen Can f 6: the role in cross-reactivity with cat and horse. *Allergy*. 2012 Jun; 67(6): 751-7.

Nony E, Timbrell V, Hrabina M, Boutron M, Solley G, Moingeon P, i cols. Specific IgE recognition of pollen allergens from subtropic grasses in patients from the subtropics. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2015 Mar; 114(3): 214-20.

Nordlund B, Konradsen JR, Kull I, Borres MP, Onell A, Hedlin G, i cols. IgE antibodies to animal-derived lipocalin, kallikrein and secretoglobulin are markers of bronchial inflammation in severe childhood asthma. *Allergy*. 2012, 67:661-9.

Norton A, Smith K, James K, Hoskins A, Scott TA, Plunkett G, i cols. Diagnostic utility of concentrated Mus m 1 allergen extract in humans. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2014 Apr; 112(4): 391-2.

Novembre E, Mori F, Contestabile S, Rossi ME, Pucci N. Correlation of anti-Prup 3 IgE levels with severity of peach allergy reactions in children. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012 Apr; 108(4): 271-4.

Nowak-Wegrzyn A, Bloom KA, Sicherer SH, Shreffler WG, Noone S, Wanich N, i cols. Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 122: 342-7.

Nucera E, Rizzi A, Buonomo A, De Pasquale T, Pecora V, Colagiovanni A, i cols. The clinical meaning of positive latex sIgE in patients with food/pollen adverse reactions. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2012 Apr-Jun; 25(2):445-53.

Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A; EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014 Aug; 69(8): 992-1007.

Oberhuber C, Ma Y, Marsh J, Rigby N, Smole U, Radauer C, i cols. Purification and characterisation of relevant natural and recombinant apple allergens. *Mol Nutr Food Res*. 2008; 52 (Suppl 2): S208-19 [Oberhuber, 2008a].

Oberhuber C, Bulley SM, Ballmer-Weber BK, Bublin M, Gaier S, DeWitt AM, i cols. Characterization of Bet v 1-related allergens from kiwifruit relevant for patients with combined kiwifruit and birch pollen allergy. *Mol Nutr Food Res*. 2008; 52 (Suppl. 2): S230-40 [Oberhuber, 2008b].

Orovitg A, Guardia P, Barber D, de la Torre F, Rodríguez R, Villalba M, i cols. Enhanced diagnosis of pollen allergy using specific immunoglobulin E determination to detect major allergens and panallergens. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011; 21(4): 253-9.

Oseroff C, Sidney J, Tripple V, Grey H, Wood R, Broide DH, i cols. Analysis of T cell responses to the major allergens from German cockroach: epitope

specificity and relationship to IgE production. *J Immunol.* 2012 Jul 15; 189(2): 679-88.

Ott H, Baron JM, Heise R, Ocklenburg C, Stanzel S, Merk HF, i cols. Clinical usefulness of microarray-based IgE detection in children with suspected food allergy. *Allergy.* 2008; 63: 1521–8.

Ott H, Fölster-Holst R, Merk HF, Baron JM. Allergen microarrays: a novel tool for high-resolution IgE profiling in adults with atopic dermatitis. *Eur J Dermatol.* 2010 Jan-Feb; 20(1): 54-61 [Ott, 2010a].

Ott H, Schroder C, Raulf-Heimsoth M, Mahler V, Ocklenburg C, Merk HF, i cols. Microarrays of recombinant *Hevea brasiliensis* proteins: a novel tool for the component-resolved diagnosis of natural rubber latex allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010, 20:129–38 [Ott, 2010b].

Palacin A, Quirce S, Armentia A, Fernández-Nieto M, Pacios LF, Asensio T, i cols. Wheat lipid transfer protein is a major allergen associated with baker's asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 120: 1132–8.

Palacin A, Rodriguez J, Blanco C, Lopez-Torrejón G, Sánchez-Monge R, Varela J, i cols. Immunoglobulin E recognition patterns to purified Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) allergens in patients sensitized to Kiwi with different clinical symptoms. *Clin Exp Allergy.* 2008; 38:1220-8.

Palacin A, Varela J, Quirce S, del Pozo V, Tordesillas L, Barranco P, i cols. Recombinant lipid transfer protein Tri a 14: a novel heat and proteolytic resistant tool for the diagnosis of baker's asthma. *Clin Exp Allergy.* 2009; 39:1267–6.

Palacin A, Bartra J, Muñoz R, Diaz-Perales A, Valero A, Salcedo G. Anaphylaxis to wheat flour-derived foodstuffs and the lipid transfer protein syndrome: a potential role of wheat lipid transfer protein Tri a 14. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010; 152(2): 178-83 [Palacin, 2010a].

Palacín A, Tordesillas L, Gamboa P, Sanchez-Monge R, Cuesta-Herranz J, Sanz ML, i cols. Characterization of peach thaumatin-like proteins and their identification as major peach allergens. *Clin Exp Allergy.* 2010; 40(9): 1422-30 [Palacin, 2010b].

Pali-Scholl I, Jensen-Jarolim E. Anti-acid medication as a risk factor for food allergy. *Allergy.* 2011, 66: 469-77.

Palomares O, Villalba M, Quiralte J, Polo F, Rodríguez R. 1,3- beta-glucanases as candidates in latex-pollen-vegetable food cross-reactivity. *Clin Exp Allergy.* 2005; 35: 345–51.

Palomares O, Swoboda I, Villalba M, Balic N, Spitzauer S, Rodríguez R, i cols. The major allergen of olive pollen Ole e 1 is a diagnostic marker for sensitization to oleaceae. *Int Arch Allergy Immunol.* 2006; 141: 110–8.

Palosuo K, Varjonen E, Kekki OM, Klemola T, Kalkkinen N, Alenius H, i cols. Wheat omega-5 gliadin is a major allergen in children with immediate allergy to ingested wheat. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108: 634–8.

Palosuo K, Varjonen E, Nurkkala J, Kalkkinen N, Harvima R, Reunala T, i cols. Transglutaminase-mediated cross-linking of a peptic fraction of omega-5 gliadin enhances IgE reactivity in wheat-dependent, exercise-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 111:1386–92.

Pamies R, Oliver F, Raulf-Heimsoth M, Rihs HP, Barber D, Boquete M, i cols. Patterns of latex allergen recognition in children sensitized to natural rubber latex. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006; 17:55–9.

Panzner P, Vachová M, Vítovcová P, Brodská P, Vlas T. A comprehensive analysis of middle-European molecular sensitization profiles to pollen allergens. *Arch Allergy Immunol.* 2014; 164(1):74-82.

Papadopoulos NG, Arakawa H, Carlsen KH, Custovic A, Gern J, Lemanske R, i cols. International consensus on (ICON) pediatric asthma. *Allergy.* 2012; 67: 976–97.

Pascal M, Muñoz-Cano R, Reina Z, Palacín A, Vilella R, Picado C, i cols. Lipid transfer protein syndrome: clinical pattern, cofactor effect and profile of molecular sensitization to plant-foods and pollens. *Clin Exp Allergy.* 2012, 42:1529–39.

Pascal M, Grishina G, Yang AC, Sánchez-García S, Lin J, Towle D, i cols. Molecular Diagnosis of Shrimp Allergy: Efficiency of Several Allergens to Predict Clinical Reactivity. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2015 Jul-Aug; 3(4): 521-9.

Pasini G, Curioni A, Vegro M, Pagani M, Masi A, Schievano E, i cols. Extraction and mass spectrometry identification of a major peach allergen Pru p 1. *J Sci Food Agric.* 2012 Feb; 92(3): 570-6.

Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Ispano M, Conti A, Ansaloni R, i cols. Sensitization to the major allergen of Brazil nut is correlated with the clinical expression of allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1998; 102: 1021-7.

Pastorello EA, Pompei C, Pravettoni V, Brenna O, Farioli L, Trambaioli C, i cols. Lipid transfer proteins and 2S albumins as allergens. *Allergy.* 2001; 56 (Suppl. 67): 45-7.

Pastorello EA, Vieths S, Pravettoni V, Farioli L, Trambaioli C, Fortunato D, i cols. Identification of hazelnut major allergens in sensitive patients with positive

double-blind, placebo-controlled food challenge results. *J Allergy Clin Immunol.* 2002 Mar; 109(3): 563-70 [Pastorello, 2002a].

Pastorello EA, Pravettoni V, Farioli L, Rivolta F, Conti A, Ispano M, i cols. Hypersensitivity to mugwort (*Artemisia vulgaris*) in patients with peach allergy is due to a common lipid transfer protein allergen and is often without clinical expression. *J Allergy Clin Immunol.* 2002 Aug;110(2): 310-7 [Pastorello, 2002b].

Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Robino AM, Scibilia J, Fortunato D, i cols. Lipid transfer protein and vicilin are important walnut allergens in patients not allergic to pollen. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Oct; 114(4): 908-14.

Pastorello EA, Farioli L, Conti A, Pravettoni V, Bonomi S, Iametti S, i cols. Wheat IgE-mediated food allergy in European patients: alpha-amylase inhibitors, lipid transfer proteins and low-molecular-weight glutenins. Allergenic molecules recognized by double-blind, placebo-controlled food challenge. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007;144(1): 10-22.

Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Scibilia J, Conti A, Fortunato D, i cols. Maize food allergy: lipid-transfer proteins, endochitinases, and alpha-zein precursor are relevant maize allergens in double-blind placebo-controlled maize-challenge-positive patients. *Anal Bioanal Chem.* 2009 Sep; 395(1): 93-102.

Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Scibilia J, Mascheri A, Borgonovo L, i cols. Pru p 3-sensitized Italian peach-allergic patients are less likely to develop severe symptoms when also presenting IgE antibodies to Pru p 1 and Pru p 4. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011; 156(4): 362-72.

Pauli BR, Yunginger JW, Gleich GJ. Melittin: an allergen of honeybee venom. *J Allergy Clin Immunol.* 1977; 59: 334-8.

Pauli G, Oster JP, Deviller P, Heiss S, Bessot JC, Susani M, i cols. Skin testing with recombinant allergens rBet v 1 and birch profilin, rBet v 2: diagnostic value for birch pollen and associated allergies. *J Allergy Clin Immunol.* 1996 May;97(5):1100-9.

Pauli G, Metz-Favre C. Cross reactions between pollens and vegetable food allergens. *Rev Mal Respir.* 2013 Apr;30(4):328-37.

Pedrosa M, Boyano-Martínez T, García-Ara MC, Caballero T, Quirce S. Peanut seed storage proteins are responsible for clinical reactivity in Spanish peanut-allergic children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012 Nov; 23(7): 654-9.

Pedrosa M, Boyano-Martínez T, García-Ara C, Caballero T, Quirce S. Utility of specific IgE to Ara h 6 in peanut allergy diagnosis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2015 Aug; 115(2): 108-12.

Peeters KA, Koppelman SJ, van Hoffen E, van der Tas CW, den Hartog Jager CF, Penninks AH, i cols. Does skin prick test reactivity to purified allergens

correlate with clinical severity of peanut allergy? *Clin Exp Allergy*. 2007; 37: 108-15.

Pérez-Pérez J, Fernández-Caldas E, Marañón F, Sastre J, Bernal ML, Rodríguez J, i cols. Molecular cloning of paramyosin, a new allergen of *Anisakis simplex*. *Int Arch Allergy Immunol*. 2000; 123: 120-9.

Permaul P, Hoffman E, Fu C, Sheehan W, Baxi S, Gaffin J, i cols. Allergens in urban schools and homes of children with asthma. *Pediatr Allergy Immunol*. 2012 Sep; 23(6): 543-9.

Peters S, Siebers R, Wickens K, Crane J. Prevalence of mouse allergen (Mus m 1) in homes of New Zealand rural children. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2006 Mar;24(1): 81-4.

Phipatanakul W, Litonjua AA, Platts-Mills TA, Naccara LM, Celedón JC, Abdulkerim H, i cols. Sensitization to mouse allergen and asthma and asthma morbidity among women in Boston. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 120:954-6.

Pittner G, Vrtala S, Thomas WR, Weghofer M, Kundi M, Horak F, i cols. Component-resolved diagnosis of house-dust mite allergy with purified natural and recombinant mite allergens. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34:597-603.

Platts-Mills TA, Satinover SM, Naccara L, Litonjua AA, Phipatanakul W, Carter MC, i cols. Prevalence and titer of IgE antibodies to mouse allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 120:1058-64.

Polovic N, Wadén K, Binnmyr J, Hamsten C, Grönneberg R, Palmberg C, i cols. Dog saliva - an important source of dog allergens. *Allergy*. 2013; 68(5): 585-92.

Portnoy J, Brothers D, Pacheco F, Landuyt J, Barnes C. Monoclonal antibody-based assay for Alt a1, a major *Alternaria* allergen. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1998 Jul; 81(1): 59-64.

Posch A, Chen Z, Raulf-Heimsoth M, Baur X. Latex allergens. *Clin Exp Allergy*. 1998; 28: 134-40.

Postigo I, Gutiérrez-Rodríguez A, Fernández J, Guisantes JA, Suñén E, Martínez J. Diagnostic value of Alt a 1, fungal enolase and manganese-dependent superoxide dismutase in the component-resolved diagnosis of allergy to Pleosporaceae. *Clin Exp Allergy*. 2011 Mar; 41(3): 443-51.

Poulsen LK Pedersen MH, Dufva M. Allergology on a chip. *Clin Exp Allergy*. 2007; 37, 1736-7.

Pramod SN, Venkatesh YP, Mahesh PA. Potato lectin activates basophils and mast cells of atopic subjects by its interaction with core chitobiose of cell-bound non-specific immunoglobulin E. *Clin Exp Immunol*. 2007; 48(3): 391-401.

Quercia O, Stefanini GF, Scardovi A, Asero R. Patients monosensitized to Hev b 8 (*Hevea brasiliensis* latex profilin) may safely undergo major surgery in a normal (non-latex safe) environment. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2009 Aug; 41(4): 112-6

Quiralte J, Llanes E, Barral P, Arias de Saavedra JM, Saenz de San Pedro B, Villalba M, i cols. Ole e 2 and Ole e 10: new clinical aspects and genetic restrictions in olive pollen allergy. *Allergy*. 2005; 60: 360-5.

Quiralte J, Palacios L, Rodríguez R, Cárđaba B, Arias de Saavedra JM, Villalba M, i cols. Modelling diseases: the allergens of *Olea europaea* pollen. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007;17 Suppl 1: 24-30.

Quirce S, Marañón F, Umpiérrez A, de las Heras M, Fernández-Caldas E, Sastre J. Chicken serum albumin (Gal d 5*) is a partially heat-labile inhalant and food allergen implicated in the bird-egg syndrome. *Allergy*. 2001 Aug; 56(8): 754-62.

Radauer C, Willeroider M, Fuchs H, Hoffmann-Sommergruber K, Thalhamer J, Ferreira F, i cols. Cross-reactive and species-specific immunoglobulin E epitopes of plant profilins: an experimental and structure-based analysis. *Clin Exp Allergy*. 2006 Jul; 36(7): 920-9.

Raulf-Heimsoth M, Rihs HP, Rozynek P, Cremer R, Gaspar A, Pires G, i cols. Quantitative analysis of immunoglobulin E reactivity profiles in patients allergic or sensitized to natural rubber latex (*Hevea brasiliensis*). *Clin Exp Allergy*. 2007; 37: 1657-67.

Reininger R, Varga EM, Zach M, Balic N, Lindemeier AD, Swoboda I, i cols. Detection of an allergen in dog dander that cross-reacts with the major cat allergen, Fel d 1. *Clin Exp Allergy*. 2007 Jan; 37(1): 116-24.

Renaudin JM, Beaudouin E, Ponvert C, Demoly P, Moneret-Vautrin DA. Severe drug-induced anaphylaxis: analysis of 333 cases recorded by the Allergy Vigilance Network from 2002 to 2010. *Allergy*. 2013 Jul; 68(7): 929-37.

Resch Y, Weghofer M, Seiberler S, Horak F, Scheiblhofer S, Linhart B, i cols. Molecular characterization of Der p 10: a diagnostic marker for broad sensitization in house dust mite allergy. *Clinical & Experimental Allergy*. 2011, 41:1468-77.

Restani P, Beretta B, Fiocchi A, Ballabio C, Galli CL. Cross-reactivity between mammalian proteins. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2002 Dec; 89(6 Suppl 1): 11-5.

Restani P, Ballabio C, Cattaneo A, Isoardi P, Terracciano L, Fiocchi A. Characterization of bovine serum albumin epitopes and their role in allergic reactions. *Allergy*. 2004 Aug; 59 Suppl 78:21-4.

Restani P, Ballabio C, Di Lorenzo C, Tripodi S, Fiocchi A. Molecular aspects of milk allergens and their role in clinical events. *Anal Bioanal Chem.* 2009; 395: 47-56.

Rihs HP, Chen Z, Ruëff F, Petersen A, Rozynek P, Heimann H, i cols. IgE binding of the recombinant allergen soybean profilin (rGly m 3) is mediated by conformational epitopes. *J Allergy Clin Immunol.* 1999 Dec;104(6):1293-301.

Rodrigues-Alves R, Lopez A, Pereira-Santos MC, Lopes-Silva S, Spínola-Santos A, Costa C, i cols. Clinical, anamnestic and serological features of peach allergy in portugal. *Int Arch Allergy Immunol.* 2009; 149(1): 65-73.

Rodríguez R, Villalba M, Monsalve RI, Batanero E. The spectrum of olive pollen allergens. *Int Arch Allergy Immunol.* 2001; 125: 185–95.

Rodríguez R, Villalba M, Batanero E, Palomares O, Quiralte J, Salamanca G, i cols. Olive pollen recombinant allergens: value in diagnosis and immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2007; 17 Suppl 1: 4-10.

Romano A, Scala E, Rumi G, Gaeta F, Caruso C, Alonzi C, i cols. Lipid transfer proteins: the most frequent sensitizer in Italian subjects with food-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy.* 2012; 42: 1643-53.

Rosenfeld L, Shreffler W, Bardina L, Niggemann B, Wahn U, Sampson HA, i cols. Walnut allergy in peanut-allergic patients: significance of sequential epitopes of walnut homologous to linear epitopes of Ara h 1, 2 and 3 in relation to clinical reactivity. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012; 157(3): 238-45.

Rossi RE, Monasterolo G, Monasterolo S. Measurement of IgE antibodies against purified grass-pollen allergens (Phl p 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, and 12) in sera of patients allergic to grass pollen. *Allergy.* 2001 Dec; 56(12): 1180-5.

Rossi RE, Monasterolo G, Prina P, Coco G, Operti D, Rossi L. IgE profiles of Bermuda grass pollen sensitised patients evaluated by Phleum pratense allergens Phl p 1, 2, 4, 5, 6, 7, 11,12. *Allergol Int.* 2008 Jun; 57(2): 157-64.

Rossi RE, Melioli G, Monasterolo G, Harwanegg C, Rossi L, Canonica GW, i cols. Sensitization profiles in polysensitized patients from a restricted geographical area: further lessons from multiplexed component resolved diagnosis. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2011 Dec; 43(6): 171-5.

Roux KH, Teuber SS, Sathe SK. Tree nut allergens. *Int Arch Allergy Immunol.* 2003, 131: 234-44.

Saarelainen S, Taivainen A, Rytönen-Nissinen M, Auriola S, Immonen A, Mäntyjärvi R, i cols. Assessment of recombinant dog allergens Can f 1 and Can f 2 for the diagnosis of dog allergy. *Clin Exp Allergy.* 2004; 34:1576-82.

Saarelainen S, Rytönen-Nissinen M, Rouvinen J, Taivainen A, Auriola S, Kauppinen A, i cols. Animal-derived lipocalin allergens exhibit immunoglobulin E cross-reactivity. *Clin Exp Allergy*. 2008; 38: 374-81.

Salo PM, Jaramillo R, Cohn RD, London SJ, Zeldin DC. Exposure to mouse allergen in U.S. homes associated with asthma symptoms. *Environ Health Perspect*. 2009; 117: 387-91.

Samasca G, Sur G, Iancu M, Lupan I, Deleanu D. Current Trends and Investigative Developments in Wheat Allergy. *Int Rev Immunol*. 2015 Aug 19: 1-4.

Samuel T, Kolk AH, Rümke P. Studies on the immunogenicity of protamines in humans and experimental animals by means of a micro-complement fixation test. *Clin Exp Immunol*. 1978 Aug;33(2):252-60.

Sánchez-López J, Asturias JA, Enrique E, Suárez-Cervera M, Bartra J. Cupressus arizonica pollen: a new pollen involved in the lipid transfer protein syndrome? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(7):522-6.

Sánchez-López J, Tordesillas L, Pascal M, Muñoz-Cano R, Garrido M, Rueda M, i cols. Role of Art v 3 in pollinosis of patients allergic to Pru p 3. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Apr; 133(4): 1018-25.

Sánchez-Monge R, Blanco C, Lopez-Torrejon G, Cumplido J, Recas M, Figueroa J, i cols. Differential allergen sensitization patterns in chestnut allergy with or without associated latex-fruit syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2006; 118: 705-10.

Sastre J, Lluch-Bernal M, Quirce S, Arrieta I, Lahoz C, Del Amo A, i cols. A double-blind, placebo-controlled oral challenge study with lyophilized larvae and antigen of the fish parasite, *Anisakis simplex*. *Allergy*. 2000; 55: 560-4.

Sastre J, Fernández-Nieto M, Rico P, Martín S, Barber D, Cuesta J, i cols. Specific immunotherapy with a standardized latex extract in allergic workers: a double-blind, placebo-controlled study. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 111: 985-94.

Sastre J, Lluch-Bernal M, Bustillo AM, Carnés J, Marañón F, Casanovas M, i cols. Allergenicity and cross-reactivity of Russian olive pollen (*Eleagnus angustifolia*). *Allergy*. 2004; 59:1181-6.

Sastre J, Raulf-Heimsoth M, Rihs HP, Fernández-Nieto M, Barber D, Lombardero M, i cols. IgE reactivity to latex allergens among sensitized healthcare workers before and after immunotherapy with latex. *Allergy*. 2006; 61: 206-10.

Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40(10):1442-60.

Sastre J, Landivar ME, Ruiz-García M, Andregnette-Rosigno MV, Mahillo I. How molecular diagnosis can change allergen-specific immunotherapy prescription in a complex pollen area. *Allergy*. 2012 May; 67(5): 709-11.

Satoh R, Koyano S, Takagi K, Nakamura R, Teshima R, Sawada J. Immunological characterization and mutational analysis of the recombinant protein BWp16, a major allergen in buckwheat. *Biol Pharm Bull*. 2008; 31:1079-85.

Sato S, Nagao R, Hujioaka T, Suzuki K, Tsuyuki K, Hoshika A. A case of food dependent exercise-induced anaphylaxis due to ingestion of peach. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009; 19: 337.

Scala E, Alessandri C, Bernardi ML, Ferrara R, Palazzo P, Pomponi D, i cols. Cross-sectional survey on immunoglobulin E reactivity in 23.077 subjects using an allergenic molecule-based microarray detection system. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40(6): 911-21.

Scala E, Alessandri C, Palazzo P, Pomponi D, Liso M, Bernardi ML, i cols. IgE recognition patterns of profilin, PR-10, and tropomyosin panallergens tested in 3.113 allergic patients by allergen microarray-based technology. *PLoS One*. 2011; 6(9): e24912.

Scala E, Till SJ, Asero R, Abeni D, Guerra EC, Pirrotta L, i cols. Lipid transfer protein sensitization: reactivity profiles and clinical risk assessment in an Italian cohort. *Allergy*. 2015 Aug; 70(8): 933-43.

Schocker F, Lüttkopf D, Scheurer S, Petersen A, Cisteró-Bahima A, Enrique E, i cols. Recombinant lipid transfer protein Cor a 8 from hazelnut: a new tool for in vitro diagnosis of potentially severe hazelnut allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113: 141-7.

Schuler S, Ferrari G, Schmid-Grendelmeier P, Harr T. Microarray-based component-resolved diagnosis of latex allergy: isolated IgE-mediated sensitization to latex profilin Hev b8 may act as confounder. *Clin Transl Allergy*. 2013 Mar 28; 3(1): 11.

Schulten V, Radakovics A, Hartz C, Mari A, Vázquez-Cortés S, Fernández-Rivas M, i cols. Characterization of the allergic T-cell response to Pru p 3, the nonspecific lipid transfer protein in peach. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Jul; 124(1): 100-7.

Sekerel BE, Sahiner UM. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens: some concerns. *Allergy*. 2012; 67: 442-3.

Sekerkova A, Polackova M, Striz I. Detection of Phl p 1, Phl p 5, Phl p 7 and Phl p 12 specific IgE antibodies in the sera of children and adult patients allergic to Phleum pollen. *Allergol Int*. 2012 Jun; 61(2): 339-46.

Shanti KN, Martin B, Nagpal S, Metcalfe DD, Subba Rao PV. Identification of tropomyosin as the major shrimp allergen and characterization of its IgE-binding epitopes. *J Allergy Clin Immunol*. 1993; 151: 5354-63.

Sharpe RA, Thornton CR, Tyrrell J, Nikolaou V, Osborne NJ. Variable risk of atopic disease due to indoor fungal exposure in NHANES 2005-2006. *Clin Exp Allergy*. 2015 Apr 3. doi: 10.1111/cea.12549. .

Shreffler WG, Beyer K, Chu TH, Burks AW, Sampson HA. Microarray immunoassay: association of clinical history, in vitro IgE function, and heterogeneity of allergenic peanut epitopes. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113:776-82.

Simon-Nobbe B, Denk U, Schneider PB, Radauer C, Teige M, Cramer R, i cols. NADP-dependent mannitol dehydrogenase, a major allergen of *Cladosporium herbarum*. *J Biol Chem*. 2006 Jun 16; 281(24): 16354-60.

Slater JE, Vedvick T, Arthur-Smith A, Trybul DE, Kekwick RG. Identification, cloning, and sequence of a major allergen (Hev b 5) from natural rubber latex (*Hevea brasiliensis*). *J Biol Chem*. 1996; 271: 25394-9.

Smith W, Butler AJ, Hazell LA, Chapman MD, Pomés A, Nickels DG, i cols. Fel d 4, a cat lipocalin allergen. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34:1732-8.

Smole U, Bublin M, Radauer C, Ebner C, Breiteneder H. Mal d 2, the thaumatin-like allergen from apple, is highly resistant to gastrointestinal digestion and thermal processing. *Int Arch Allergy Immunol*. 2008;147(4):289-98. doi: 10.1159/000144036. Epub 2008 Jul 11.

Song Y, Wang J, Leung N, Wang LX, Lisann L, Sicherer SH, i cols. Correlations between basophil activation, allergen-specific IgE with outcome and severity of oral food challenges. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2015 Apr; 114(4): 319-26.

Spitzauer S, Pandjaitan B, Söregi G, Mühl S, Ebner C, Kraft D, i cols. IgE cross-reactivities against albumins in patients allergic to animals. *J Allergy Clin Immunol*. 1995; 96: 951-9.

Sposato B, Liccardi G, Russo M, Folletti I, Siracusa A, Scichilone N, i cols. Cypress pollen: an unexpected major sensitizing agent in different regions of Italy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2014; 24(1): 23-8.

Stumvoll S, Westritschnig K, Lidholm J, Spitzauer S, Colombo P, Duro G, i cols. Identification of cross-reactive and genuine *Parietaria judaica* pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 111: 974-9.

Suratannon N, Ngamphaiboon J, Wongpiyabovorn J, Puripokai P, Chatchatee P. Component-resolved diagnostics for the evaluation of peanut allergy in a low-prevalence area. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013 Nov; 24(7): 665-70.

Sutherland MF, Drew A, Rolland JM, Slater JE, Suphioglu C, O'Hehir RE. Specific monoclonal antibodies and human immunoglobulin E show that Hev b 5 is an abundant allergen in high protein powdered latex gloves. *Clin Exp Allergy*. 2002; 32: 583-9.

Swärd-Nordmo M, Wold JK, Paulsen BS, Aukrust L. Purification and partial characterization of the allergen Ag-54 from *Cladosporium herbarum*. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1985; 78(3): 249-55.

Swärd-Nordmo M, Paulsen BS, Wold JK. The glycoprotein allergen Ag-54 (Cl h II) from *Cladosporium herbarum*. Structural studies of the carbohydrate moiety. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1988; 85(3): 288-94.

Swoboda I, Bugajska-Schretter A, Verdino P, Keller W, Sperr WR, Valent P, i cols. Recombinant carp parvalbumin, the major cross-reactive fish allergen: a tool for diagnosis and therapy of fish allergy. *J Immunol*. 2002 May 1; 168(9): 4576-84 [Swoboda, 2002a].

Swoboda I, Bugajska-Schretter A, Valenta R, Spitzauer S. Recombinant fish parvalbumins: Candidates for diagnosis and treatment of fish allergy. *Allergy*. 2002; 57 Suppl 72:94-6 [Swoboda, 2002b].

Swoboda I, Twaroch T, Valenta R, Grote M. Tree pollen allergens. *Clin Allergy Immunol*. 2008; 21:87-105.

Tabar AI, Lizaso MT, García BE, Gómez B, Echechipía S, Aldunate MT, i cols. Double-blind, placebo-controlled study of *Alternaria alternata* immunotherapy: clinical efficacy and safety. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008 Feb; 19(1): 67-75.

Tamburrini M, Cerasuolo I, Carratore V, Stanziola AA, Zofra S, Romano L, i cols. Purification, biochemical characterization and identification as an allergen. *Protein J*. 2005; 24: 423-9.

Tanabe S, Kobayashi Y, Takahata Y, Morimatsu F, Shibata R, Nishimura T. Some human B and T cell epitopes of bovine serum albumin, the major beef allergen. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 May 24; 293(5): 1348-53.

Tanaka K, Matsumoto K, Akasawa A, Nakajima T, Nagasu T, Iikura Y, i cols. Pepsin-resistant 16-kD buckwheat protein is associated with immediate hypersensitivity reaction in patients with buckwheat allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002; 129: 49-56.

Taniai M, Ando S, Usui M, Kurimoto M, Sakaguchi M, Inouye S, i cols. N-terminal amino acid sequence of a major allergen of Japanese cedar pollen (Cry j I). *FEBS Lett*. 1988 Nov 7; 239(2): 329-32.

Teuber SS, Dandekar AM, Peterson WR, Sellers CL. Cloning and sequencing of a gene encoding a 2S albumin seed storage protein precursor from English

walnut (*Juglans regia*), a major food allergen. *J Allergy Clin Immunol.* 1998; 101: 807-14.

Teuber SS, Jarvis KC, Dandekar AM, Peterson WR, Ansari AA. Identification and cloning of a complementary DNA encoding a vicilin-like proprotein, jug r 2, from english walnut kernel (*Juglans regia*), a major food allergen. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 104: 1311–20.

Teuber SS, Sathe SK, Peterson WR, Roux KH. Characterization of the soluble allergenic proteins of cashew nut (*Anacardium occidentale* L). *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 6543–9.

Thalayasingam M, Lee BW. Fish and shellfish allergy. *Chem Immunol Allergy.* 2015; 101: 152-61.

Thomas WR, Smith WA, Hales BJ, Mills KL, O'Brien RM. Characterization and immunobiology of house dust mite allergens. *Int Arch Allergy Immunol.* 2002; 129: 1-18.

Tighe H, Takabayashi K, Schwartz D, Van Nest G, Tuck S, Eiden JJ, i cols. Conjugation of immunostimulatory DNA to the short ragweed allergen Amb a 1 enhances its immunogenicity and reduces its allergenicity. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 106: 124-34.

Tordesillas L, Sirvent S, Díaz-Perales A, Villalba M, Cuesta-Herranz J, Rodríguez R, i cols. Plant lipid transfer protein allergens: no cross-reactivity between those from foods and olive and *Parietaria* pollen. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011; 156(3): 291-6.

Torres Borrego J, Martinez Cuevas JF, Tejero Garcia J. Cross reactivity between fish and shellfish. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2003; 31:146-51.

Towbin H, Staehelin Y, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrilamide gels to nitro- cellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979; 76: 4350-4.

Treudler R, Simon JC. Overview of component resolved diagnostics. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013 Feb; 13(1): 110-7.

Tripodi S, Frediani T, Lucarelli S, Macrì F, Pingitore G, Di Rienzo Businco A, i cols. Molecular profiles of IgE to *Phleum pratense* in children with grass pollen allergy: implications for specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Mar; 129(3): 834-39.

Tsabouri S, Triga M, Makris M, Kalogeromitros D, Church MK, Priftis KN. Fish and shellfish allergy in children: review of a persistent food allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012 Nov; 23(7): 608-15.

Tuppo L, Alessandri C, Pomponi D, Picone D, Tamburrini M, Ferrara R, i cols. Peamacleina new peach allergenic protein: similarities, differences and

misleading features compared to Pru p 3. *Clin Exp Allergy*. 2013 Jan; 43(1): 128-40.

Unger A, Stöger P, Simon-Nobbe B, Susani M, Crameri R, Ebner C, Hintner H, Breitenbach M. Clinical testing of recombinant allergens of the mold *Alternaria alternata*. *Int Arch Allergy Immunol*. 1999; 118: 220-1.

Vailes LD, Perzanowski MS, Wheatley LM, Platts-Mills TA, Chapman MD. IgE and IgG antibody responses to recombinant Alt a 1 as a marker of sensitization to *Alternaria* in asthma and atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy*. 2001 Dec; 31(12): 1891-5 [Vailes, 2001a].

Vailes L, Sridhara S, Cromwell O, Weber B, Breitenbach M, Chapman M. Quantitation of the major fungal allergens, Alt a 1 and Asp f 1, in commercial allergenic products. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Apr; 107(4): 641-6 [Vailes, 2001b].

Valenta R, Hayek B, Seiberler S, Bugajska-Schretter A, Niederberger V, Twardosz A, i cols. Calcium-binding allergens: from plants to man. *Int Arch Allergy Immunol*. 1998; 117: 160-6.

Valenta R, Lidholm J, Niederberger V, Hayek B, Kraft D, Grönlund H. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). *Clin Exp Allergy*. 1999; 29: 896-904.

Valero AL, Bartra J, Mullol J, Berenguer J. Técnicas diagnósticas en las enfermedades nasales. En: A. Peláez, I.J. Dávila. *Tratado de Alergología*. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Madrid, Editorial Ergon 2007: 145-73.

Vallverdú A, García-Ortega P, Martínez J, Martínez A, Esteban MI, de Molina M, i cols. *Mercurialis annua*: characterization of main allergens and cross-reactivity with other species. *Int Arch Allergy Immunol*. 1997 Apr; 112(4): 356-64.

Van Boxtel EL, Koppelman SJ, van den Broek LA, Gruppen H. Heat denaturation of Brazil nut allergen Ber e 1 in relation to food processing. *Food Chem*. 2008 Oct 15; 110(4): 904-8.

Van Do T, Hordvik I, Endresen C, Elsayed S. Characterization of parvalbumin, the major allergen in Alaska pollack, and comparison with codfish Allergen M. *Mol Immunol*. 2005 Feb; 42(3): 345-53 [Van Do, 2005a].

Van Do T, Elsayed S, Florvaag E, Hordvik I, Endresen C. Allergy to fish parvalbumins: studies on the cross-reactivity of allergens from 9 commonly consumed fish. *J Allergy Clin Immunol*. 2005 Dec; 116(6): 1314-20 [Van Do, 2005b].

Van Metre TE Jr, Marsh DG, Adkinson NF Jr, Fish JE, Kagey-Sobotka A, Norman PS, i cols. Dose of cat (*Felis domesticus*) allergen 1 (Fel d 1) that induces asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1986 Jul; 78(1 Pt 1): 62-75.

Van Ree R, Driessen MN, Van Leeuwen WA, Stapel SO, Aalberse RC. Variability of crossreactivity of IgE antibodies to group I and V allergens in eight grass pollen species. *Clin Exp Allergy*. 1992 Jun; 22(6): 611-7.

Van Ree R, Antonicelli L, Akkerdaas JH, Garritani MS, Aalberse RC, Bonifazi F. Possible induction of food allergy during mite immunotherapy. *Allergy*. 1996; 51: 108-13.

Van Ree R, van Leeuwen WA, Bulder I, Bond J, Aalberse RC. Purified natural and recombinant Fel d 1 and cat albumin in in vitro diagnostics for cat allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1999; 104: 1223-30.

Van Winkle RC, Chang C. The biochemical basis and clinical evidence of food allergy due to lipid transfer proteins: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2014 Jun; 46(3): 211-24.

Vereda A, van Hage M, Ahlstedt S, Ibañez MD, Cuesta-Herranz J, van Odijk J, i cols. Peanut allergy: Clinical and immunologic differences among patients from 3 different geographic regions. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Mar; 127(3): 603-7.

Verweij MM, Hagendorens MM, De Knop KJ, Bridts CH, De Clerck LS, Stevens WJ, i cols. Young infants with atopic dermatitis can display sensitization to Cor a 9, an 11S legumin-like seed-storage protein from hazelnut (*Corylus avellana*). *Pediatr Allergy Immunol*. 2011; 22: 196-201.

Vidal C, Sanmartin C, Armisen M, Rodriguez V, Linneberg A, Gonzalez-Quintela A. Minor Interference of Cross-Reactive Carbohydrates with the Diagnosis of Respiratory Allergy in Standard Clinical Conditions. *Journal Int Arch Allergy Immunol*. 2012; 157(2): 176-85.

Vidal C, Bartolomé B, Rodríguez V, Armisen M, Linneberg A, González-Quintela A. Sensitization pattern of crustacean-allergic individuals can indicate allergy to molluscs. *Allergy*. 2015 Jul 17. doi: 10.1111/all.12693.

Vieira T, Cunha L, Neves E, Falcão H. Diagnostic usefulness of component-resolved diagnosis by skin prick tests and specific IgE to single allergen components in children with allergy to fruits and vegetables. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2014 Mar-Apr; 42(2): 127-35.

Vieths S, Lüttkopf D, Reindl J, Anliker MD, Wüthrich B, Ballmer-Weber BK. Allergens in celery and zucchini. *Allergy*. 2002; 57 Suppl 72: 100-5.

Vila L, Beyer K, Jarvinen KM, Chatchatee P, Bardina L, Sampson HA. Role of conformational and linear epitopes in the achievement of tolerance in cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy*. 2001; 31: 1599-606.

Villalta D, Asero R. Sensitization to the pollen pan-allergen profilin. Is the detection of immunoglobulin E to multiple homologous proteins from different sources clinically useful? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2010; 20(7): 591-5.

Villalta D, Asero R. Analysis of the allergenic profile of patients hypersensitive to pollen pan-allergens living in two distinct areas of northern Italy. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2011 Mar; 43(2): 54-7.

Villalta D, Conte M, Asero R, Da Re M, Stella S, Martelli P. Isolated IgE reactivity to native walnut vicilin-like protein (nJug r 2) on ISAC™ microarray is due to cross-reactive carbohydrate epitopes. *Clin Chem Lab Med*. 2013 Oct; 51(10): 1991-5.

Villalta D, Da Re M, Conte M, Martelli P, Uasuf CG, Barrale M, i cols. Allergen component specific Ige measurement with the Immulite™ 2000 system: diagnostic accuracy and intermethod comparison. *J Clin Lab Anal*. 2015 Mar; 29(2): 135-41.

Vlieg-Boerstra BJ, Bijleveld CM, van der Heide S, Beusekamp BJ, Wolt-Plompen SA, Kukler J, i cols. Development and validation of challenge materials for double-blind, placebo-controlled food challenges in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Feb; 113(2): 341-6.

Wagner GE, Gutfreund S, Fauland K, Keller W, Valenta R, Zangger K. Backbone resonance assignment of Alt a 1, a unique β -barrel protein and the major allergen of *Alternaria alternata*. *Biomol NMR Assign*. 2014 Oct;8(2): 229-31.

Wagner S, Breiteneder H. The latex-fruit syndrome. *Biochem Soc Trans*. 2002; 30(6): 935-40.

Wal JM. Bovine milk allergenicity. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2004; 93:S2-11.

Wallowitz M, Peterson WR, Uratsu S, Comstock SS, Dandekar AM Teuber SS. Jug r 4, a legumin group food allergen from walnut (*Juglans regia* Cv. Chandler). *J Agric Food Chem*. 2006; 54: 8369-75.

Wang DY, Raza MT, Goh DY, Lee BW, Chan YH. Acoustic rhinometry in nasal allergen study: which dimensional measures are meaningful? *Clin Exp Allergy*. 2004; 34: 1093-8.

Wang F, Robotham JM, Teuber SS, Sathe SK, Roux KH. Ana o 2, a major cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut allergen of the legumin family. *Int Arch Allergy Immunol*. 2003; 132: 27-39.

Wang J, Sampson HA. Food allergy. *J Clin Invest*. 2011; 121(3): 827-45.

Wangorsch A, Ballmer-Weber BK, Rösch P, Holzhauser T, Vieths S. Mutational epitope analysis and cross-reactivity of two isoforms of Api g 1, the major celery allergen. *Mol Immunol*. 2007 Apr; 44(10): 2518-27.

Wangorsch A, Weigand D, Peters S, Mahler V, Fötisch K. Identification of a Dau c PRPlike protein (Dau c 1.03) as a new allergenic isoform in carrots (cultivar Rodelika). *Clin Exp Allergy*. 2012 Jan; 42(1): 156-66.

Wensing M, Knulst AC, Piersma S, O'Kane F, Knol EF, Koppelman SJ. Patients with anaphylaxis to pea can have peanut allergy caused by cross-reactive IgE to vicilin (Ara h 1). *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 111: 420-4.

Westman M, Lupinek C, Bousquet J, Andersson N, Pahr S, Baar A, i cols. Mechanisms for the Development of Allergies Consortium. Early childhood IgE reactivity to pathogenesis-related class 10 proteins predicts allergic rhinitis in adolescence. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 May; 135(5): 1199-206.

Westritschnig K, Linhart B, Focke-Tejkl M, Pavkov T, Keller W, Ball T, i cols. A hypoallergenic vaccine obtained by tail-to-head restructuring of timothy grass pollen profilin, Phl p 12, for the treatment of cross-sensitization to profilin. *J Immunol*. 2007 Dec 1; 179(11): 7624-34.

Wihl J.A. Methodological aspects of nasal allergen challenges based on a three-year tree pollen immunotherapy study. *Allergy*. 1986; 41: 357-64.

Wild LG, Lehrer SB. Fish and shellfish allergy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2005 Jan; 5(1): 74-9.

Winberg A, West CE, Strinnholm Å, Nordström L, Hedman L, Rönmark E. Assessment of Allergy to Milk, Egg, Cod, and Wheat in Swedish Schoolchildren: A Population Based Cohort Study. *PLoS One*. 2015 Jul 2; 10(7): e0131804.

Wohrl S, Vigl K, Zehetmayer S, Hiller R, Jarisch R, Prinz M, i cols. The performance of a component-based allergen-microarray in clinical practice. *Allergy*. 2006 May; 61(5): 633-9.

Wolthers OD. Component-resolved diagnosis in pediatrics. *ISRN Pediatr*. 2012; 2012: 806920.

Worm M, Babina M, Hompes S. Causes and risk factors for anaphylaxis. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2013 Jan; 11(1): 44-50.

Yagami A, Nakazawa Y, Suzuki K, Matsunaga K. Curry spice allergy associated with pollen-food allergy syndrome and latex fruit-syndrome. *J Dermatol*. 2009 Jan; 36(1): 45-9.

Yeang HY, Cheong KF, Sunderasan E, Hamzah S, Chew NP, Hamid S, i cols. The 14.6 kd rubber elongation factor (Hev b 1) and 24 kd (Hev b 3) rubber

particle proteins are recognized by IgE from patients with spina bifida and latex allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1996; 98: 628-39.

Yu CJ, Lin YF, Chiang BL, Chow LP. Proteomics and immunological analysis of a novel shrimp allergen, Pen m 2. *J Immunol.* 2003; 170: 445-53.

Yunginger JW, Jones RT, Nesheim ME, Geller M. Studies on alternaria allergens. III. Isolation of a major allergenic fraction (ALT-I). *J Allergy Clin Immunol.* 1980; 66:138-47.

Zheng YW, Li J, Lai XX, Zhao DY, Liu XF, Lin XP, et al. Allergen micro-array detection of specific IgE-reactivity in Chinese allergy patients. *Chin Med J (Engl).* 2011 Dec; 124(24): 4350-4.

Zhu J, Pouillot R, Kwegyir-Afful EK, Luccioli S, Gendel SM. A retrospective analysis of allergic reaction severities and minimal eliciting doses for peanut, milk, egg, and soy oral food challenges. *Food Chem Toxicol.* 2015 Jun; 80: 92-100.

Zogaj D, Ibranjic A, Hoxha M. Exercise-induced Anaphylaxis: the Role of Cofactors. *Mater Sociomed.* 2014 Dec; 26(6): 401-4.