



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL

“Fenotipos de alergia alimentaria por sensibilización a proteínas transferidoras de lípidos (LTP) en adultos del área mediterránea”

Nuria Moreno Pérez

Universidad Autónoma de Barcelona, 2018

Programa de Doctorado en Medicina

Departamento de Medicina



Directores de tesis:

Dra. Olga Luengo Sánchez

Dr. Moisés Labrador Horrillo

Tutor de tesis:

Dr. Albert Selva O'Callaghan

Doña Olga Luengo Sánchez y Don Moisés Labrador Horrillo, Facultativos especialistas en la Sección de Alergia del Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitari Vall d'Hebron,

CERTIFICAN

Que Nuria Moreno Pérez, Licenciada en Medicina por la Universidad de Murcia, ha realizado bajo su dirección el trabajo titulado "Fenotipos de alergia alimentaria por proteínas transferidoras de lípidos (LTP) en adultos del área mediterránea" dentro del Programa de Doctorado en Medicina del Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona, con el Dr. Albert Selva O'Callaghan como Tutor de Tesis y que presenta como Tesis Doctoral para alcanzar el grado de Doctora por la Universidad Autónoma de Barcelona.

Y para que conste, firmamos la presente en Barcelona, a 27 de julio de 2018.

La doctoranda,

Nuria Moreno Pérez

Los directores de tesis,

Dra. Olga Luengo Sánchez

Dr. Moisés Labrador Horrillo

AGRADECIMIENTOS

A mis directores Olga Luengo y Moisés Labrador, por apoyar el proyecto desde el principio y sus valiosos consejos

A Victoria Cardona, por su ayuda y darme la oportunidad de dedicarme a la investigación

A toda la Sección de Alergia del Vall d'Hebron por su ayuda y participar como voluntarios: Anna Sala, Mar Guilarte, Emi Cid, Albert Hernández, Lucía Elvira, Dani Granados, Paula Galván, Johana Gil, Mónica González, Gustavo Molina, Julia León, Vero Palau, Antonia Lozano y Aarón Gómez.

A Esther Muñoz, por ser una guía en todo el proceso

A los estadísticos del VHIR, Míriam Mota y Santiago Pérez, por su interés en el proyecyo y su excelente trabajo

A Juan Carlos Miralles, por su ayuda logística

A todas las personas que han participado como voluntarios

A los 306 pacientes que han participado en el estudio, sin ellos ni ellas no hubiera sido posible

A Mariano Cantabella, por ayudarme a conseguir los melocotones para las pruebas

A Alba García, por su amistad

A Cristina López, por el largo recorrido juntas

A todos mis amigos y amigas de Murcia

A Marcos Orellana, por cruzarse en mi camino

A Manuel Ayllón, Elisa Luzón, Gustavo Resler, Gema Monteagudo, Marta González, M^aJosé Escarpenter, Nice Fitas, Laura Terceño, Sergio Barroso, Jesús Tena y Maite Pérez, por aportarme tanto en tan poco tiempo.

A mi tío Mariano, por sus ánimos y las tardes de paseo y cine

A mi hermana Marta, que a pesar de estar tan lejos, estás muy cerca

En especial, a mi madre, M^aJosé y mi padre, Miguel por su incondicional apoyo y ánimo

Por todo lo que he aprendido como investigadora, médico y persona, durante toda esta aventura llamada “Tesis”

ABREVIACIONES

AINEs: antiinflamatorios no esteroideos

ANF: anafilaxia

CEFA: alergia alimentaria potenciada por cofactor

DBPCFC: exposición oral doble ciego controlada con placebo

EAACI: Sociedad Europea de Alergia e Inmunología Clínica (del inglés, “*European Academy of Allergy and Clinical Immunology*”)

ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (del inglés, “*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*”)

EPIT: inmunoterapia epicutánea

FAMD: análisis factorial para datos mixtos

FcεRI: receptor de alta afinidad de la IgE específica

IgE: inmunoglobulina E

ITE: inmunoterapia específica

LTP: proteínas transferidoras de lípidos

MIA: “Microarray Image Analysis”

OIT: inmunoterapia oral

PAM: partición alrededor de medoids

PCA: análisis de componentes principales (del inglés, “*Principals Components Analysis*”)

PM: peso molecular

QOFC: cuasi-exposición oral abierta (del inglés, “*quasi-open food challenge*”)

RC: reactividad cruzada

SAO: síndrome de alergia oral

SEAIC: Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica

SDS-PAGE: electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (del inglés, “*sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*”)

sIgE: inmunoglobulina E específica

SPT: skin prick test

SLIT: inmunoterapia sublingual (del inglés, “*Sublingual immunotherapy*”)

SLTP: índrome LTP

Shock ANF: shock anafilático

TAB: test de activación de basófilos

TLPs: taumatinas (del inglés, “*thaumatin-like proteins*”)

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	5
ABREVIACIONES.....	7
ÍNDICE.....	9
RESUMEN.....	13
ABSTRACT.....	15
INTRODUCCIÓN.....	17
1. Alergia a alimentos.....	17
1.1. Epidemiología.....	19
1.2. Fisiopatología.....	20
1.3. Vías de sensibilización.....	23
1.4. Alérgenos alimentarios.....	25
1.5. Manifestaciones clínicas de la alergia a los alimentos mediada por IgE.....	25
1.6. Factores que influyen en la gravedad de las manifestaciones clínicas de la alergia a los alimentos.....	28
1.7. Diagnóstico.....	30
1.7.1. Historia clínica.....	30
1.7.2. Pruebas cutáneas intraepidérmicas (SPT).....	31
1.7.3. Determinación en suero de IgE específica.....	32
1.7.4. Diagnóstico molecular en la alergia a alimentos.....	32
1.7.5. Prueba de exposición oral con alimentos.....	38
1.7.6. Test de activación de basófilos.....	40
1.8. Manejo y tratamiento de la alergia alimentaria.....	41
1.8.1. Tratamiento agudo de las reacciones.....	41
1.8.2. Manejo a largo plazo.....	42
1.8.3. Inmunoterapia.....	42
1.8.4. Anticuerpos monoclonales.....	43
2. Reactividad cruzada.....	43
3. Alérgenos alimentarios.....	43
3.1. Panalérgenos.....	44
3.1.1. Profilinas.....	45
3.2. Taumatinas (PR-5).....	47
3.3. Proteínas transferidoras de lípidos (LTP).....	49
3.4. Proteínas relacionadas con la patogénesis (PR-10).....	49

3.5. Proteínas de almacenamiento.....	50
3.6. Determinantes carbohidratados de reactividad cruzada (CCD).....	53
4. LTP.....	54
4.1. Función.....	54
4.2. Estructura.....	55
4.3. Prevalencia.....	55
4.4. Distribución geográfica.....	57
4.5. LTPs y su papel como alérgenos.....	57
4.6. Vías de sensibilización.....	58
4.7. Reactividad cruzada.....	58
4.8. Síndrome polen-alimentos por sensibilización a LTP.....	60
4.8.1. Artemisia.....	61
4.8.2. Plátano de sombra.....	61
4.9. Manifestaciones clínicas.....	62
4.10. Diagnóstico.....	64
4.11. Tratamiento.....	65
HIPÓTESIS.....	67
OBJETIVOS.....	67
MATERIAL Y MÉTODOS.....	68
1. Diseño del estudio.....	69
2. Tamaño de la muestra.....	69
3. Selección de pacientes.....	69
4. Procedimientos.....	69
4.1. Cuaderno de recogida de datos.....	69
4.2. Pruebas cutáneas.....	69
4.3. Determinación en suero de IgE total y específica.....	69
4.4. Pruebas de exposición controlada.....	70
4.4.1. Cuantificación de Pru p 3 en zumo de melocotón.....	71
4.4.2. Receta para la prueba de exposición oral con melocotón y placebo.....	72
4.4.3. Validación de la receta para la prueba de exposición controlada...	72
4.4.4. Prueba de exposición oral con melocotón doble ciego controlada con placebo.....	73
4.4.5. Interpretación del resultado final de las pruebas de exposición oral.....	77

4.4.6. Test del frotamiento o “Rubbing test” con piel de melocotón.....	78
5. Aspectos éticos.....	79
6. Análisis estadístico.....	80
6.1. Análisis estadístico de fenotipos.....	81
RESULTADOS.....	81
1. Población del estudio.....	82
1.1. Diagrama de reclutamiento.....	82
1.2. Características generales de la población de estudio.....	83
2. Descripción de los alimentos implicados.....	85
3. Clínica.....	89
3.1. Fenotipo clínico en función de la reacción más grave presentada con cualquier alimento vegetal.....	89
3.2. Alergia alimentaria potenciada por cofactor (CEFA).....	90
3.3. Análisis comparativo de la forma de presentación del SLTP en función del alimento responsable de la primera reacción alérgica.....	93
4. Estudio in vitro.....	97
4.1. IgE total e IgE específica a Pru p 3 y extractos completos de alimentos.....	97
4.2. Ratio IgE específica Pru p 3/IgE total.....	98
4.3. IgE específica a alérgenos individuales.....	99
4.3.1. Frecuencia de sensibilización a las distintas LTP.....	99
4.3.2. Puntos de corte de IgE específica a Pru p 3 para predecir la gravedad de la reacción.....	101
5. Análisis del perfil de sensibilización molecular en función de los diferentes fenotipos clínicos.....	103
5.1. Comparación del perfil de sensibilización molecular entre asintomáticos y sintomáticos.....	103
5.2. Comparación del perfil de sensibilización molecular según la gravedad de los síntomas.....	105
6. Creación de “clústers”.....	109
6.1. Variables clínicas y alimentos implicados en la reacción.....	109
6.2. Datos comunes.....	116
6.3. Comparación entre los “clústers” 1 y 2 generados según los datos fijos y las variables alimentos.....	122
6.4. InmunoCAP ISAC 112®.....	124
6.5. Comparación entre los “clústers” 1 y 2 generados según los datos de los alérgenos individuales y las variables alimentos.....	128

6.6. Mapa de calor o “Heatmap”	130
7. Pruebas de exposición oral a melocotón controlada con placebo.....	132
7.1. Cuantificación de Pru p 3 en el zumo de melocotón.....	132
7.2. Validación de la receta de melocotón.....	132
7.3. Población.....	134
7.4. Pruebas de exposición oral con melocotón.....	139
8. Test de frotamiento o “Rubbing test” con piel de melocotón.....	144
DISCUSIÓN.....	146
CONCLUSIONES.....	168
PERSPECTIVA DE FUTURO.....	169
BIBLIOGRAFÍA.....	170
ANEXOS.....	189
I. Consentimiento informado.....	189
II. Cuaderno de recogida de datos (CRD).....	190
III. Pruebas cutáneas.....	194
IV. Cuestionario para la validación de la receta.....	196
V. Formulario para la prueba de exposición oral.....	197
VI. Formulario para la prueba de frotamiento o “rubbing test” con piel de melocotón.....	198
VII. Comité de ética.....	199

RESUMEN

Introducción: Las proteínas transferidoras de lípidos (LTP) son la causa más frecuente de alergia alimentaria y anafilaxia inducida por alimentos en adultos en el área mediterránea. La variabilidad en el perfil de reconocimiento molecular frente a estas proteínas, así como los distintos patrones de reactividad cruzada entre ellas, la gran heterogeneidad y los distintos grados de gravedad de la expresión clínica, hacen necesaria la realización de estudios en nuestra población para identificar fenotipos clínicos con características definidas, así como marcadores pronósticos que nos permitan un manejo diagnóstico y terapéutico óptimo de estos pacientes. Además, a pesar de la elevada frecuencia de alergia alimentaria por sensibilización a LTP en nuestro medio, actualmente no disponemos de protocolos estandarizados ni recetas validadas para realizar pruebas de exposición controlada para su correcto diagnóstico. El objetivo principal de este estudio fue identificar fenotipos clínicos y/o moleculares que pudieran predecir la gravedad de las reacciones alérgicas de los pacientes tras consumir el alimento responsable.

Métodos: Se incluyeron pacientes adultos con sensibilización a LTP de melocotón, determinada por pruebas cutáneas positivas a extracto de LTP purificada e IgE específica a Pru p 3 mayor o igual a 0.1 kU/l. Se recogieron las variables demográficas, las características de la primera reacción alérgica presentada tras la ingesta de un alimento vegetal y la tolerancia a alimentos vegetales previamente incluidos en un cuestionario. Se determinaron los valores séricos de IgE total e IgE específicas a extracto completo de melocotón, rPru p 3 y a los alimentos con los que hubieran presentado clínica alérgica, además de IgE específica a los alérgenos individuales contenidos en ImmunoCAP ISAC®. Se consideró que un paciente presentaba síndrome LTP (SLTP) cuando presentaba síntomas con dos o más grupos de alimentos vegetales taxonómicamente distantes. A un subgrupo de pacientes se les realizó prueba de exposición controlada con placebo y/o prueba de frotamiento o “rubbing test” con un protocolo e interpretación de los resultados estandarizados. La receta de enmascaramiento utilizada fue diseñada y validada por medio del test del triángulo y un test binomial exacto en voluntarios sanos. Con las tablas de frecuencia de las variables evaluadas se realizaron análisis de agrupaciones (“clúster”) que permitieran identificar características comunes de los diferentes fenotipos. Con el objetivo de evaluar si las diferentes variables clínicas y de laboratorio se podían agrupar en “clústers” diferenciando fenotipos, se llevó a cabo un análisis de conglomerados y el método “Partición Alrededor de Medoids” (PAM).

Resultados: Se incluyeron 306 pacientes, de los que un 84% fueron diagnosticados de SLTP. La mayoría de los pacientes estaban polisensibilizados a neumoalérgenos, siendo los pólenes más frecuentes los de plátano de sombra y artemisia. Globalmente la forma de presentación más frecuente fue el síndrome de alergia oral (SAO) y en un tercio de los casos la reacción se produjo en presencia de cofactores.

Los alimentos principalmente implicados en este SLTP fueron: el melocotón, que produjo sobre todo urticaria de contacto, la nuez, que indujo síntomas de anafilaxia y la lechuga, más frecuentemente relacionada con reacciones exacerbadas por cofactor.

La gravedad de las reacciones y la edad de presentación de los síntomas se relacionaron de manera significativa con el alimento implicado en la primera reacción alérgica, predominando las reacciones locales en la infancia cuando era el melocotón y las reacciones sistémicas en la edad adulta con cualquier otro alimento vegetal.

Las LTP reconocidas con mayor frecuencia por los pacientes con SLTP, fueron la de melocotón (Pru p 3), nuez (Jug r 3) y polen de plátano de sombra (Pla a 3). La forma de presentación clínica sistémica se asoció significativamente con mayor número de LTP positivas y con positividad para la LTP de polen de plátano de sombra (Pla a 3) y artemisia (Art v 3).

La receta a base de zumo comercial de melocotón fue validada en un grupo de 32 voluntarios sanos y posteriormente utilizada en la prueba de exposición oral enmascarada con placebo en un subgrupo de 25 pacientes del estudio. La realización según un protocolo estandarizado permitió confirmar el diagnóstico en un 72% de la muestra, con dosis acumuladas en torno a 281.19 μ g y 845.91 μ g de Pru p 3, y descartar alergia a melocotón en el momento de la prueba en 7 pacientes (28%).

Se pudieron identificar diferentes “clústers” en función de si se analizaban los alimentos implicados, la clínica de debut de la alergia alimentaria y la del momento del estudio o los resultados de IgE total, IgE específica frente a extractos completos y frente a alérgenos individuales. El análisis de las variables clínicas y de los alimentos permitió diferenciar 2 “clústers”. El “clúster” 1 se caracterizaba por presentar reacciones más graves al debut y en el momento del diagnóstico con un mayor número de alimentos vegetales, principalmente nuez, pipa de girasol, castaña, cacahuete, guisante y altramuza. En este grupo el alimento responsable de la primera reacción no acostumbraba a ser melocotón, mientras que en el “clúster” 2 los pacientes acostumbraban a presentar reacciones leves con un menor número de alimentos vegetales y debutaban con alergia a melocotón.

Conclusiones: En alergia a LTP de pacientes adultos de nuestra área de influencia se diferencian dos “clústers” de pacientes con características diferenciales, uno leve, de debut con melocotón y otro grave, con inicio como clínica sistémica con múltiples alimentos vegetales. Además, se ha validado la primera receta con zumo de melocotón comercial, cuantificado en Pru p 3 para pruebas de exposición oral con melocotón controladas con placebo y se ha demostrado la utilidad de un protocolo estandarizado para interpretar los resultados de dicha prueba y el test de frotamiento o “rubbing test”

ABSTRACT

Background: Lipid transfer proteins (LTP) are the main cause of food allergy and food-induced anaphylaxis in adults in the Mediterranean area. The high variability of their molecular recognition profile and the different patterns of cross-reactivity between them, as well as the wide heterogeneity and ranges of severity of their clinical expression, make necessary studies in our population in order to identify clinical phenotypes and prognostic biomarkers to allow clinicians to improve diagnostic accuracy and therapeutic management. Despite the major importance of lipid transfer protein (LTP) allergy in our area, to date peach recipes for oral food challenges and standardize protocols to its interpretation have not yet been standardized nor validated. The aim of this study was to identify clinical and/or molecular phenotypes that could predict the severity of allergic reactions from patients after consuming the culprit foods.

Methods: Sensitized adults to LTP from peach were included determined by positive skin prick test to commercial purified peach LTP extract and specific IgE to Pru p 3 equal or greater than 0.1 Ku/L. Demographic data and clinical features of the first allergic reaction upon plant-foods ingestion and tolerance to predefined plant-foods were collected. Total IgE, specific IgE to peach, Pru p 3 and to any plant-foods which patients referred symptoms and all individual allergens included in ImmunoCAP ISAC® were determined in all patients. They were considered as having an LTP syndrome (LTPS) when they showed clinical reactivity to two or more groups of taxonomically distant plant-derived foods known to contain LTP. A subgroup of patients underwent to double-blind placebo controlled peach challenge and/or peach rubbing test by means a standardized protocol and interpretation of the results. The masking recipe was designed and validated by means of a triangle sensory test and binomial exact test in healthy volunteers. Frequency tables from the variables evaluated were used to carried out “clusters” analysis that allowed to identify common characteristics of the different phenotypes. In order to evaluate if the different clinical and laboratory variables could be grouped into “clusters” differentiating phenotypes, a “cluster” analysis and the Partition Around Medoids (PAM) method were carried out.

Results: 306 patients were included, which 84% were diagnosed of LTPS. Most patients were polysensitized to aeroallergens, being plane tree and mugwort pollen the most frequent. Overall the most common clinic expression was oral allergy syndrome (OAS) and in one third of patients the reaction was produced by the presence of cofactors.

The foods mainly implicated in this LTPS were: peach, that produced primarily contact urticaria, walnut that induced anaphylaxis and lettuce, mostly related in reactions induced by cofactors.

Reactions severity and the age of clinical appearance were significantly related with the culprit plant food of the first allergic reaction, mainly local reactions in the childhood when was the peach and systemic reactions in the adulthood with any other plant food.

The most common LTP recognized by LTPS patients were those from peach (Pru p 3), walnut (Jug r 3) and plane tree pollen (Pla a 3). The systemic clinical presentation is significantly associated with higher number of positive LTPs and positivity to LTPs from plane tree pollen (Pla a 3) and mugwort (Art v 3).

The commercial peach juice recipe was validated in a group of 32 healthy volunteers and subsequently used in the masked oral food challenge with placebo in a subgroup of 25 patients from the study. The performance with a standardized protocol allowed to confirm the diagnose in a 72% of the sample, with cumulative dose around 281.19µg and 845.91µg of Pru p 3, and rule out peach allergy by the time of the oral challenge in 7 patients (28%).

Several “clústers” could be identified depending on the analysis of the food involved, the first clinical reaction, clinical presentation in the moment of the study and the results from total IgE, specific IgE to whole extracts and individual allergens. The clinical and food variables analysis allowed to differentiate 2 “clústers”. “clúster” 1 was carecterized by first clinical reactions more severe and more reactions in the moment of diagnosed with a greater number of plant food, maninly walnut, sunflower, chestnut, peanut, peas and lupine. In that group the plant food involves in the first allergic reaction used not to be peach, while in “clúster” 2 patients used to suffer mild reactions with a lower number of plant food and they debuted with peach.

Conclusions: 2 “clústers” of patients can be differentiated in LTP allergy in adults in our area of influence with spreads features, one “mild” with peach as debut food, and other “severe”, starting with systemic reactions with multiple plant foods. Besides, the first commercial peach juice recipe has been validated, quantified in Pru p 3 to perform placebo controlled oral food challenges and it has been demonstrated the utility of a standardized protocol to interpret the results of oral challenges and rubbing test.

INTRODUCCIÓN

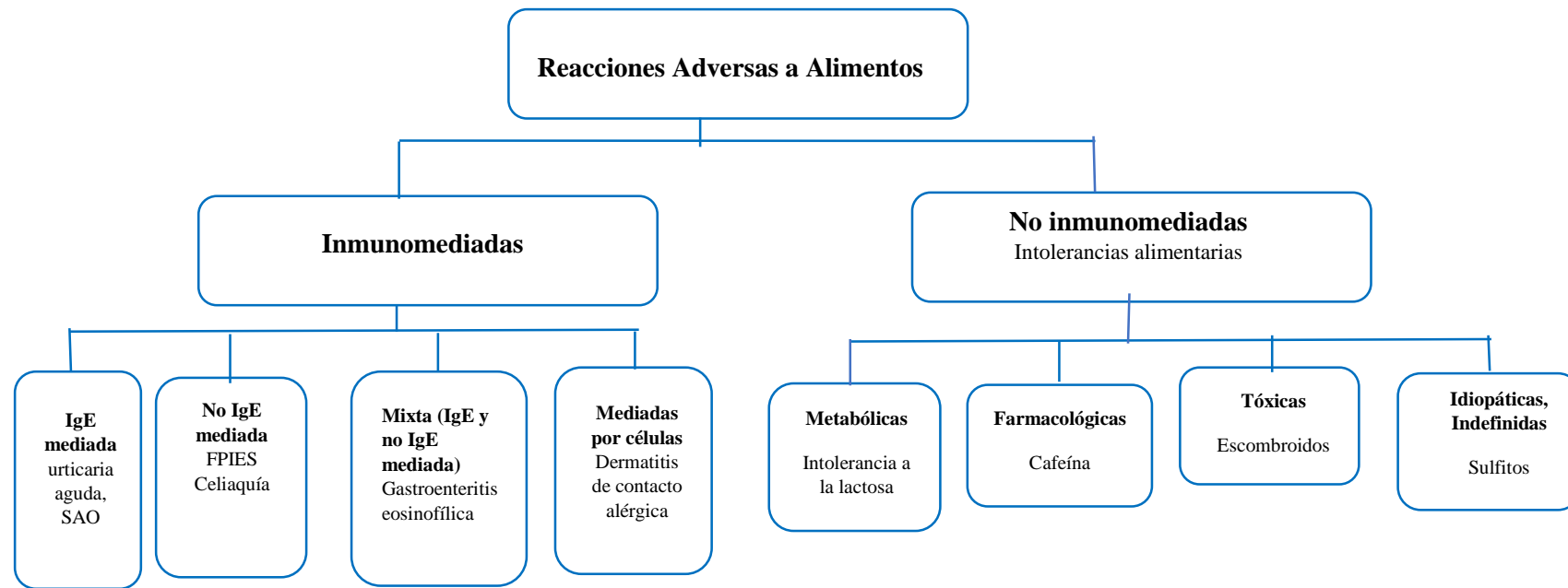
1. Alergia a alimentos

El término alergia a los alimentos se refiere a una respuesta clínica en la que se puede demostrar una respuesta inmunológica dirigida frente a un alimento (1). En el pasado ha existido cierta confusión respecto al concepto de alergia alimentaria que ha ido evolucionando con el tiempo hasta que en el año 2001 la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica (EAACI) publicó un documento de posición en el que revisaba la nomenclatura de las reacciones alérgicas basada en los mecanismos fisiopatológicos denominando “*Hipersensibilidad a alimentos*” a cualquier reacción adversa a alimentos y “*Alergia a alimentos*” a aquella reacción en la que se demuestra la implicación de un mecanismo inmunológico especificando si es IgE mediada “*Alergia a alimentos IgE mediada*” (2). Posteriormente esta nomenclatura fue revisada y avalada en 2003 por el Comité de Revisión de Nomenclatura de la Organización Mundial de Alergia (WAO)(3).

En 2010 Boyce y colaboradores (1) del Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas (NIAID) de EEUU propusieron una actualización de la clasificación de las reacciones adversas a alimentos definiendo la alergia alimentaria como “efecto adverso en la salud que surge de una respuesta inmunológica específica que se produce tras la exposición al alimento”. Estos autores clasificaron las reacciones en cuatro tipos dependiendo del mecanismo inmunológico implicado:

1. Mediadas por IgE: síndrome de alergia oral, urticaria y anafilaxia
2. No mediadas por IgE: enteropatía inducida por proteínas de la dieta y enfermedad celiaca
3. Mixtas: gastroenteritis eosinofílica
4. Mediada por células: dermatitis de contacto alérgica

Por otra parte, las reacciones adversas no inmunomediadas también conocidas como intolerancias alimentarias incluyen: mecanismos metabólicos debido a defectos de enzimas involucradas en el metabolismo del alimento (intolerancia a la lactosa), la acción farmacológica de compuestos químicos presentes de forma natural o añadida al alimento (cafeína), reacciones por la presencia de toxinas en el alimento por manipulación incorrecta (escombroidosis) y otros mecanismos idiopáticos o indefinidos (sulfitos) (Figura 1). Es importante conocer estas diferencias ya que en algunas ocasiones estas reacciones pueden simular reacciones alérgicas.



Abreviaciones: SAO: Síndrome de alergia oral; FPIES: enteropatía inducida por proteínas de la dieta.

Figura 1. Tipos de reacciones adversas a alimentos (Modificada de Boyce y colaboradores) (1).

El presente trabajo se centra en el estudio de la alergia a los alimentos en adultos mediada por IgE que se caracteriza por la aparición de síntomas cutáneos (urticaria y angioedema), respiratorios (rinitis, conjuntivitis y/o asma) o gastrointestinales (dolor abdominal, diarrea y/o vómitos) generalmente durante las 2 horas siguientes tras la ingestión o exposición al alimento desencadenantes y la presencia de IgE específica contra el alimento determinada por pruebas de sensibilización “in vivo” (pruebas cutáneas) y/o “in vitro” (determinación de IgE específica en suero).

1.1. Epidemiología

Actualmente la alergia alimentaria supone un importante problema de salud público que afecta tanto a niños como adultos y cuya prevalencia va en aumento (1). Además, la alergia alimentaria afecta a la calidad de vida y al bienestar psicológico de las personas que la padecen y sus cuidadores, y supone un importante una importante carga social y económica de los países desarrollados (4)(5)(6).

Los datos disponibles sobre prevalencia de la alergia a los alimentos varían según la definición de alergia alimentaria, la metodología del diagnóstico, la población de estudio, las variaciones geográficas, la edad, la raza, la etnia y los hábitos dietéticos (6)(7)(8).

Según una revisión sistemática y metaanálisis de la literatura realizada por la Sociedad Europea de Alergia e Inmunología Clínica (EAACI), se estima que la alergia alimentaria afecta aproximadamente a un 6% de la población europea y que su prevalencia ha aumentado en las últimas décadas (9).

El estudio epidemiológico realizado en España por la Sociedad Española de Alergia en 2015 (Alergológica 2015) (10), reveló que la prevalencia de alergia a los alimentos entre los pacientes que acuden por primera vez a Consultas de Alergia es del 11,4% (IC 95%:10,3-12,6%), siendo la quinta enfermedad en orden de frecuencia de las diagnosticadas por especialistas en Alergia de nuestro país. El estudio alergológico realizado con la misma metodología en sus tres ediciones Alergológica 92, 2005 y 2015 pone de manifiesto que la alergia a alimentos se ha triplicado en nuestro país, pasando de una prevalencia de 3,6% en 1992 al 7,4% en 2005 y al 11,4% en 2015 (10).

La alergia a alimentos varía según la edad y el sexo, siendo más frecuente en niños que en adultos. Durante la edad pediátrica afecta más a niños que a niñas, pero en la edad adulta la alergia alimentaria es más frecuente en mujeres, sugiriendo influencias genéticas o endocrinológicas como posible causa (6)(10).

Los alimentos más frecuentemente implicados en la alergia alimentaria en el estado español según los datos obtenidos en Alergológica 2015 son la leche y el huevo en niños, mientras que en adultos son las frutas y los frutos secos (10), siendo las rosáceas las frutas que más reacciones alérgicas produjeron (59,4%). Estos datos son consistentes con los obtenidos en el "Proyecto Cibus", el primer estudio epidemiológico realizado en Cataluña por Sánchez-López y colaboradores (11). En el área mediterránea se considera que el melocotón es la principal causa de alergia alimentaria en adultos y en concreto debido a la sensibilización a su proteína transferidora de lípidos (LTP), Pru p 3 (12).

Entre los factores de riesgo asociados con el desarrollo de alergia a alimentos hay numerosos descritos, destacan factores ambientales y socioeconómicos (estilo de vida occidental), menor exposición a productos microbianos, alteraciones en la composición de la microbiota, historia familiar previa de alergia (la herencia materna presenta mayor riesgo que la paterna), factores genéticos (mutaciones en el gen de la filagrina, asociaciones familiares y polimorfismos HLA), interacciones del genoma con el medio ambiente como mutaciones epigenéticas, presencia de otras condiciones de atopia (dermatitis atópica), deficiencia de vitamina D, edad de exposición a los alimentos, incremento en la edad materna, la etnia (presentan más riesgo las razas no caucásicas y la raza negra de origen no hispano) y el sexo, como se ha comentado previamente (6)(13)(7)(8). Los cambios epigenéticos regulan la adaptación genómica a factores ambientales, siendo el más conocido la hipermetilación de ADN que puede inducir cambios en la función del ADN modificando su expresión génica que pueden ser transmitidos de una generación a otra (efectos transgeneracionales). Recientemente se ha relacionado la metilación de la interleuquina IL-17A con el desarrollo de alergia alimentaria sugiriendo que tenga un papel clave como mediador regulando procesos inflamatorios (14).

1.2. Fisiopatología

Cuando una proteína alimentaria (alérgeno) se pone en contacto con el sistema inmune en individuos genéticamente predispuestos, dependiendo de la estructura del alérgeno y de la presencia de los factores de riesgo previamente descritos, así como del tipo de citoquinas del medio que actúan como inmunomoduladores, los linfocitos T vírgenes (Th0) se diferenciarán a células efectoras dando lugar a tres posibles respuestas por parte del huésped: tolerancia, alergia IgE mediada o alergia no IgE mediada (Figura 2)(7). A continuación, se detallarán en profundidad los procesos de tolerancia oral y generación de alergia alimentaria mediada por IgE.

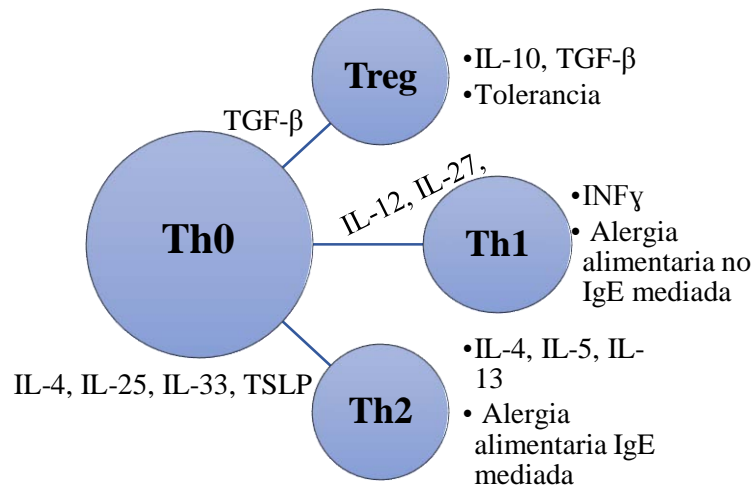


Figura 2. Vías inmunológicas tras el contacto con un antígeno (Modificado de Moore y colaboradores (7)).

1. *Tolerancia oral*: en condiciones normales, la exposición a antígenos de alimentos desencadena un mecanismo inmunológico de hiporrespuesta conocido como tolerancia oral. Una población específica de células dendríticas (DCs) reconoce e internaliza al antígeno y migran hacia los nódulos linfáticos para la presentación del antígeno a linfocitos T vírgenes (Th0) promoviendo su diferenciación a células T reguladoras (Treg), que a través de la secreción de interleuquina 10 (IL10) y factor de crecimiento transformante beta (TGF-β) suprimen las respuestas inmunes efectoras celulares CD4⁺ y CD8⁺, generando tolerancia (figura 3). Se ha demostrado que entre los componentes del sistema inmune que presentan un importante papel en la inducción de la tolerancia oral se encuentran las células T reguladoras (Foxp3⁺), células T γδ, células natural killer (NK) y citocinas como la linfopoyetina estromal tímica (TSLP), así como el epitelio de la mucosa del intestino grueso (15)(16)(17)(18)(8). Actualmente se cree que la alergia alimentaria es el resultado de la pérdida de tolerancia oral o del fracaso del proceso de inducción de tolerancia, aunque se desconoce cuándo y en qué eslabón se produce esta pérdida (16)(18)(8).

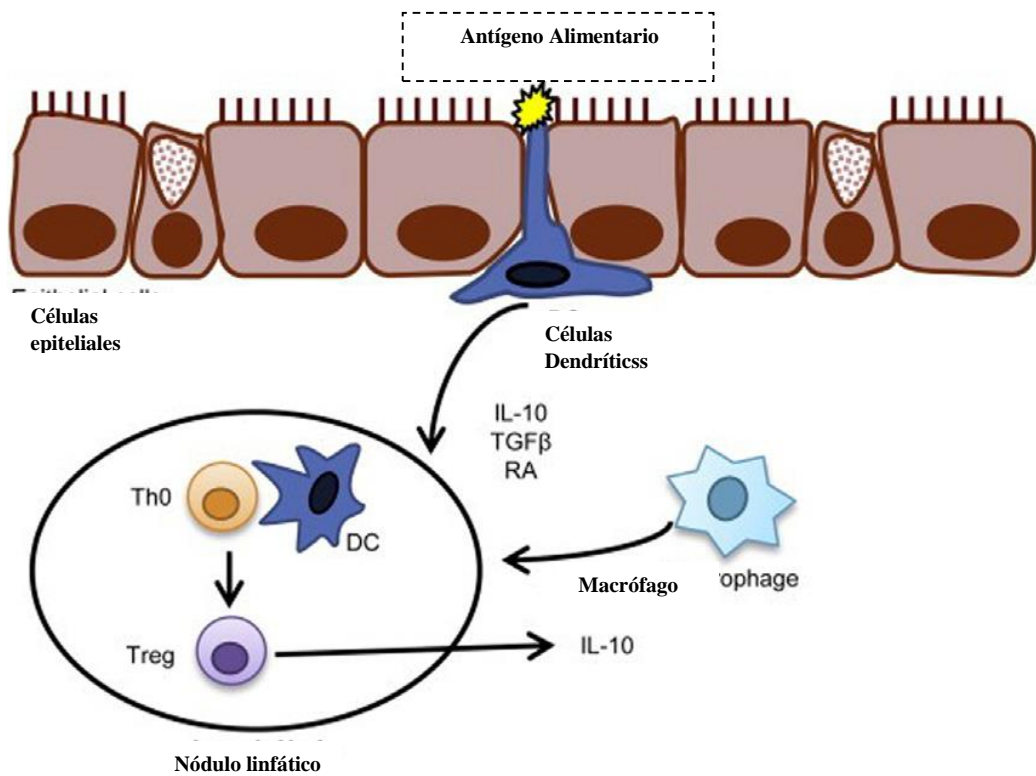


Figura 3. Reconocimiento del antígeno y Tolerancia Oral (Modificada de Moore y colaboradores(7)).

2. La pérdida de tolerancia oral conduce a la *sensibilización del alimento*. El aumento de permeabilidad entre las células epiteliales (CE) de la mucosa intestinal permite el acceso de alérgenos al interior del organismo. Las CE producen citoquinas como la TSLP, IL-33 y IL-25 que provocan un cambio del fenotipo de las células dendríticas (DCs) hacia DCs proinflamatorias, activando a las células innatas linfoides (ILCs) y promoviendo una respuesta inmune tipo 2 (T2). Las DCs proinflamatorias capturan el antígeno alimentario y migran hacia el nódulo linfático donde son presentados a linfocitos T vírgenes (Th0) en presencia de mediadores T2 (IL-4) para promover el desarrollo de linfocitos Th2, que a su vez segregan citoquinas adicionales de tipo 2 (IL-4, IL-5 e IL-13) que a su vez promueven el cambio de células B hacia el isotipo productor de IgE específica frente al antígeno. En esta fase no se producen manifestaciones clínicas, sino que la generación de IgE específica frente al alimento al que se ha expuesto el sujeto y su unión a receptores en células efectoras en los tejidos como mastocitos y basófilos constituye el proceso denominado sensibilización (18)(8).

3. Tras exposiciones antigénicas repetidas cuando el sujeto ingiere el alimento al que previamente se ha sensibilizado, la unión de dicho alérgeno al menos a dos moléculas de IgE acopladas a receptores de alta afinidad para IgE en superficie de los mastocitos y basófilos puede activarlos y desencadenar una cascada de interleuquinas T2 (IL-4, IL-5 e IL-13) y

liberación de mediadores inflamatorios como la histamina, prostaglandinas (PGD₂), leucotrienos (LC) y triptasa que producen una respuesta tisular responsable de los síntomas clínicos en piel, mucosas y otros tejidos típicas de las reacciones alérgicas que se producen entre pocos segundos tras la ingestión del alimento hasta 1-2 horas (figura 4) (7)(18). Es importante distinguir entre el concepto de sensibilización a un alimento (generación de anticuerpos IgE específicos sin manifestaciones clínicas tras su ingestión) y alergia a dicho alimento (presencia de anticuerpos específicos a un alimento específico y reactividad clínica tras su ingestión) ya que se estima que sólo entre un 30-40% de los pacientes sensibilizados a un alimento presentan manifestaciones clínicas tras la ingestión de dicho alimento (7).

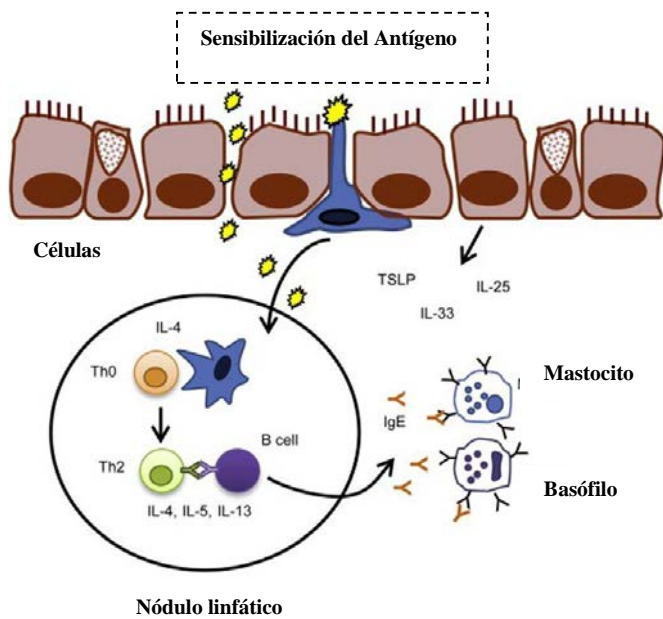


Figura 4. Fracaso de tolerancia Oral y Sensibilización alérgica (Modificada de Moore y colaboradores (7)).

1.3. Vías de sensibilización

Actualmente se conocen tres vías de sensibilización por las que un antígeno puede ser reconocido por el sistema inmune del sujeto:

- **Gastrointestinal.**

La sensibilización primaria al alimento se produce a través de la mucosa del tracto digestivo y se conoce como *Alergia Alimentaria de Clase I* (15)(19). Los antígenos que con más frecuencia generan este tipo de alergia en adultos en el área mediterránea son las proteínas transferidoras de lípidos (LTP). Se han descrito varios factores que pueden facilitar la entrada del antígeno a través del epitelio al alterar la función de barrera del intestino como la disfunción de las uniones estrechas que unen las células epiteliales, el tipo de alérgeno, la disminución del

ph gástrico (con la toma de inhibidores de la bomba de protones), la composición de la microbiota comensal y la madurez tanto del sistema inmune como del tracto digestivo, como sugieren algunos estudios epidemiológicos al presentar mayor tasa de alergia alimentaria los niños que los adultos (16)(20)(21).

- **Vía área.**

Se produce por la sensibilización primaria de aeroalérgenos por la vía respiratoria y como consecuencia de un mecanismo de reactividad cruzada entre alérgenos inhalantes y sus homólogos alimentarios se produce una sensibilización secundaria que puede producir síntomas a nivel del tracto digestivo tras la ingestión del alimento. Este fenómeno es el responsable del denominado “Síndrome polen-alimentos”, y constituye la *Alergia Alimentaria de Clase II*. Característicamente los síntomas digestivos suelen producirse años después de la sensibilización respiratoria y éstos suelen ser leves y confinados a la cavidad oral como el síndrome de alergia oral (SAO), aunque también se han descrito reacciones sistémicas graves como anafilaxia. Este tipo de alergia alimentaria es más frecuente en la edad adulta (19)(15)(20)(13).

- **Cutánea**

Recientemente se ha propuesto la piel como una tercera vía de sensibilización a alérgenos alimentarios. Estudios en modelos murinos de alergia alimentaria han demostrado que la sensibilización epicutánea a ovoalbúmina conlleva a la expansión de la respuesta inmune mediada por IgE a los mastocitos en el tracto intestinal pudiendo inducir reacciones alérgicas tras la ingestión de dicha ovoalbúmina. Las mutaciones en el gen de la filagrina que alteran la integridad de la barrera epitelial de la piel se ha descrito que favorecen la sensibilización alérgica a través de la piel en pacientes con dermatitis atópica. Por ejemplo en estos pacientes se ha observado un incremento en la prevalencia de alergia al cacahuete tras el uso de ungüentos que contenían aceite de cacahuete (20)(13)(7). En un estudio realizado por Cuesta-Herranz y colaboradores en una cohorte española de pacientes alérgicos al melocotón, la urticaria de contacto a la piel del melocotón fue la segunda manifestación clínica más frecuente después del SAO (22).

1.4. Alérgenos alimentarios

Aunque cualquier alimento puede desencadenar una respuesta alérgica, relativamente pocas familias de proteínas son responsables de la mayoría de las reacciones alérgicas por alimentos (16). Aunque existen excepciones, los alérgenos alimentarios se pueden dividir en dos clases principales en función del mecanismo por el que inducen la sensibilización alérgica:

- **Alérgenos alimentarios tipo 1**

La mayoría de los alérgenos alimentarios de clase 1 son glicoproteínas con un tamaño de entre 10 a 70kDa, solubles en agua, termoestables y resistentes a la acción del pH ácido gástrico y a la acción de las enzimas proteolíticas del tubo digestivo y a detergentes, como las sales biliares. Estas características les capacitan para poder sensibilizar vía digestiva por lo que se les ha denominado “alérgenos completos” y son los responsables de inducir una alergia Alimentaria de Clase I. Pertenecen a este grupo de alérgenos las proteínas de almacenamiento de semillas y las LTP (19)(15)(16)(23).

- **Alérgenos alimentarios tipo 2**

Se trata de alérgenos lábiles a altas temperaturas y sensibles al pH ácido gástrico y a la acción proteolítica de las enzimas del tracto digestivo, no siendo capaces de sensibilizar por vía digestiva, por lo que se han denominado “alérgenos incompletos”. Suelen inducir la sensibilización primaria por vía inhalada e inducen síntomas tras la ingestión de alimentos por reactividad cruzada desencadenando una alergia de clase 2 con síntomas mayoritariamente leves en la cavidad oral (SAO). A este grupo pertenecen la familia de las profilinas y los homólogos de Bet v1 (15)(24)(23).

1.5. Manifestaciones Clínicas de la Alergia a los Alimentos mediada por IgE

La alergia alimentaria es una entidad con una presentación clínica muy heterogénea, pudiendo distinguir entre individuos con sensibilización asintomática y sintomáticos. Entre los pacientes sintomáticos, no existe una sintomatología patognomónica de la alergia alimentos, sino que la presentación clínica del sujeto puede presentar un amplio espectro de síntomas desde leves hasta reacciones graves como anafilaxia (25), que clásicamente aparece desde pocos minutos hasta 1 ó 2 horas tras la ingesta del alimento, aunque pueden presentarse hasta 4-6 horas tras la ingesta (26)(25). En un estudio epidemiológico realizado en España (Alergológica

2015), la forma clínica más frecuente de presentación en los pacientes alérgicos a alimentos fueron las manifestaciones cutáneas (57.9%), seguidas por el síndrome de alergia oral (37.2%) y los síntomas digestivos (19.1%) (10). Estos datos son similares a los descritos en Cataluña, siendo el síntoma más frecuente la urticaria (48.2%), seguido del SAO (25.6%) (11).

- **Manifestaciones cutáneas**

Como se ha detallado previamente, las manifestaciones cutáneas son la forma de presentación más frecuente de la alergia alimentaria e incluyen el: prurito, eritema, urticaria aguda y/o angioedema (15)(26). La urticaria puede ser provocada no sólo tras la ingestión del alimento, sino por el roce o contacto directo del alérgeno en la piel previa sensibilización, denominada “urticaria de contacto inmunológica” (27) como ocurre en algunos sujetos tras manipular la piel del melocotón en áreas mediterráneas, o indirecto con el alimento, o incluso sus partículas volátiles. Una fuente de exposición cutánea accidental con alimentos en los pacientes alérgicos lo constituyen los contactos interpersonales, sobre todo en la infancia, a través de besos, caricias o partes expuestas de la persona que cocina o manipula alimentos (24)(25).

- **Síndrome de Alergia Oral (SAO)**

Consiste en la aparición de prurito orofaríngeo, del paladar y/u ótico, con o sin lesiones peribucales y/o ligero edema de labios y es la forma de presentación típica del síndrome polen-alimentos tras la ingestión de alimentos vegetales crudos. Los síntomas suelen aparecer dentro de los 15 minutos tras la ingestión del alimento como síntoma aislado, que desaparece de forma espontánea, o acompañado de otros síntomas sistémicos (24)(25).

- **Síntomas respiratorios**

La manifestación de rinitis, conjuntivitis, dificultad respiratoria por edema de vía aérea y/o broncoespasmo de forma aislada como expresión de alergia alimentaria es infrecuente. Estos síntomas suelen aparecer en el contexto de una reacción sistémica grave. Los alimentos también pueden producir síntomas respiratorios por inhalación de proteínas volátiles (vapores de cocción, olor, pulverización) en ámbitos domésticos, en actividades profesionales, por contaminación ambiental, en transportes o restaurantes (25).

- **Síntomas gastrointestinales**

Incluyen la disfagia, la dispepsia funcional, la epigastralgia, el dolor abdominal cólico, la distensión abdominal, el meteorismo, las náuseas, vómitos y/o diarrea.

- **Anafilaxia**

La anafilaxia es una reacción alérgica sistémica grave de instauración rápida y potencialmente mortal que ocurre de forma súbita tras el contacto con una sustancia alérgica (28). Es la manifestación más grave de la alergia alimentaria y se produce tras una liberación generalizada de mediadores de mastocitos y basófilos después del contacto con el alérgeno, tanto en la piel (eritema, prurito generalizado, urticaria aguda y/ angioedema) como en otros órganos, gastrointestinal (disfagia, náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal tipo cólico), respiratorio (rinitis, conjuntivitis, disnea, tos, disfonía, sibilancias, broncoespasmo, estridor, disminución del pico de flujo espiratorio, hipoxemia) o cardiovascular (disminución de la presión arterial, mareo, síncope, dolor torácico, parada cardíaca). De forma menos frecuente, puede aparecer incontinencia urinaria, contracciones uterinas, metrorragia, disminución del estado conciencia o sensación de muerte inminente. Cuando existe afectación cardiovascular con hipotensión se denomina shock anafiláctico. La afectación cutánea es la más frecuente y orientativa para el diagnóstico, pero puede estar ausente hasta en un 20% de los casos (29). Se estima que el 0.3% de la población europea presentará anafilaxia por cualquier causa en algún momento de su vida (30). En los últimos 10-15 años se ha producido un aumento de 5 a 7 veces en el número de admisión por anafilaxia en los hospitales, sin embargo la mortalidad ha permanecido estable siendo de 0.35-1.06 de muertes por millón de personas y año (31). En España, según los datos publicados en *Alergológica* 2015 (10) un 12.1% de los pacientes presentó anafilaxia, sin cambios respecto a los resultados obtenido en *Alergológica* 2005. Los alimentos son una de las causas más frecuentes de anafilaxia, ocupando el primer lugar en algunas series como ocurre en el área mediterránea, donde la sensibilización a LTP de alimentos vegetales es la causa más frecuente de anafilaxia (24).

- **Anafilaxia por alimentos potenciada por cofactor**

En ocasiones los alimentos no son capaces de inducir una reacción alérgica por sí solos o los síntomas que producen son muy leves, mientras que en presencia de determinados cofactores, entre dos horas antes y cuatro horas después de la ingestión del alimento culpable, son capaces de inducir una reacción alérgica o aumentar su gravedad (32). Es muy típico de esta entidad que los pacientes toleren el alimento implicado en ausencia de dichos

cofactores. Diversos estudios sugieren que los cofactores están implicados hasta en un 30% de las reacciones anafilácticas en adultos (33)(34). Se han propuesto varios mecanismos no excluyentes como responsables de dicho fenómeno como el aumento de la biodisponibilidad del alérgeno y disminución del umbral de activación celular (mastocitos y basófilos) (32). Los cofactores descritos como más importantes son los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), el ejercicio físico, la ingesta de alcohol, la menstruación, el estrés o cualquier combinación de los anteriores (33).

Una de las entidades mejor estudiadas en este grupo es la anafilaxia por ingesta de trigo dependiente de ejercicio, cuyo alérgeno más frecuentemente implicado es la ω -5-gliadina (Tri a 19). Sin embargo las proteínas transferidoras de lípidos (LTP) son los alérgenos más frecuentemente implicados en las reacciones anafilácticas potenciadas por cofactor en el área mediterránea (32).

1.6. Factores que influyen en la gravedad de las manifestaciones clínicas de la alergia a los alimentos

Los datos actuales sugieren que la proporción de reacciones alérgicas desencadenadas por alimentos que resultan en una anafilaxia varía ampliamente entre 0.4 y 39.9% (30). A su vez, la evidencia sugiere que la mayoría de reacciones anafilácticas inducidas por alimentos no son potencialmente mortales. De hecho, en una revisión sistemática reciente se estima que la incidencia de anafilaxia potencialmente mortal en individuos alérgicos a alimentos es de 1.81 por millón persona-año (35). Todo ello indica la existencia de factores que pueden contribuir a aumentar la gravedad de la reacción. Turner y colaboradores (36) han propuesto una clasificación de estos factores en cuatro grupos (Figura 5):

1. Factores relacionados con el alérgeno:

- Dosis de alimento: cada paciente tiene una dosis umbral específica para cada alimento con la que presentan manifestaciones clínicas, la cual puede variar con el tiempo y con la presencia de otros factores concomitantes (25).
- Ruta de exposición al alimento: generalmente la exposición a un alimento vía oral genera reacciones más graves que por contacto con la piel.
- Estructura molecular del alérgeno: los alérgenos alimentarios completos, como las proteínas transferidoras de lípidos (LTP), se asocian más con reacciones graves.

- La alergenicidad del alimento puede variar dependiendo de su procesamiento, preparación, manipulación y matriz en la que se consume. Por ejemplo, los productos cocinados se suelen tolerar mejor que los crudos en las reacciones por alergia alimentaria de tipo II. Los productos horneados se toleran mejor en pacientes alérgicos a la leche y el huevo. Las grasas pueden inhibir la unión de la IgE al alimento.
- Niveles de IgE específica al alimento en sangre y su afinidad de unión al alérgeno.
- Capacidad inmunogénica del alérgeno para inducir respuestas inmunes celulares en el sujeto.

2. Factores dependientes del comportamiento del sujeto. Se asocia con mayor gravedad el establecer conductas de riesgo como: no realizar correctamente la dieta de evitación de alimentos y/o cofactores o no llevar consigo el kit de emergencia incluyendo el autoinyector de adrenalina si está indicado, sobre todo si va en zonas con difícil acceso a la asistencia sanitaria.

3. Compensación por parte del sujeto: desde el punto de vista inmunológico, endocrino (liberación endógena de adrenalina), hormonal (en los adultos, las reacciones anafilácticas son más frecuentes en mujeres (37)), y vascular. Los pacientes con comorbilidades cardiovasculares y toma de fármacos betabloqueantes o inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAS) tienen más riesgo de presentar reacciones graves siendo mayor si se combinan los dos fármacos, en parte debido a una disminución del umbral de activación de los mastocitos como se ha demostrado en modelos murinos de anafilaxia (38).

4. Factores intrínsecos y extrínsecos al sujeto

- Una historia previa de anafilaxia supone un factor de riesgo para presentar futuras anafilaxias, aunque en muchos casos los pacientes con historia de reacciones anafilácticas sólo presentan síntomas leves con exposiciones posteriores al alimento culpable.
- Intensidad de la sensibilización: los pacientes con alta sensibilización pueden presentar reacciones sólo con trazas presentes en otros alimentos procesados, mientras que los menos sensibles necesitan cantidades mayores de alérgenos para desencadenar reacciones.
- Enfermedades concomitantes como asma, alteraciones en la absorción del tracto gastrointestinal e infecciones pueden aumentar también la severidad de la reacción.
- Las reacciones graves son más frecuentes en la infancia y en los adultos más frecuente en mujeres.

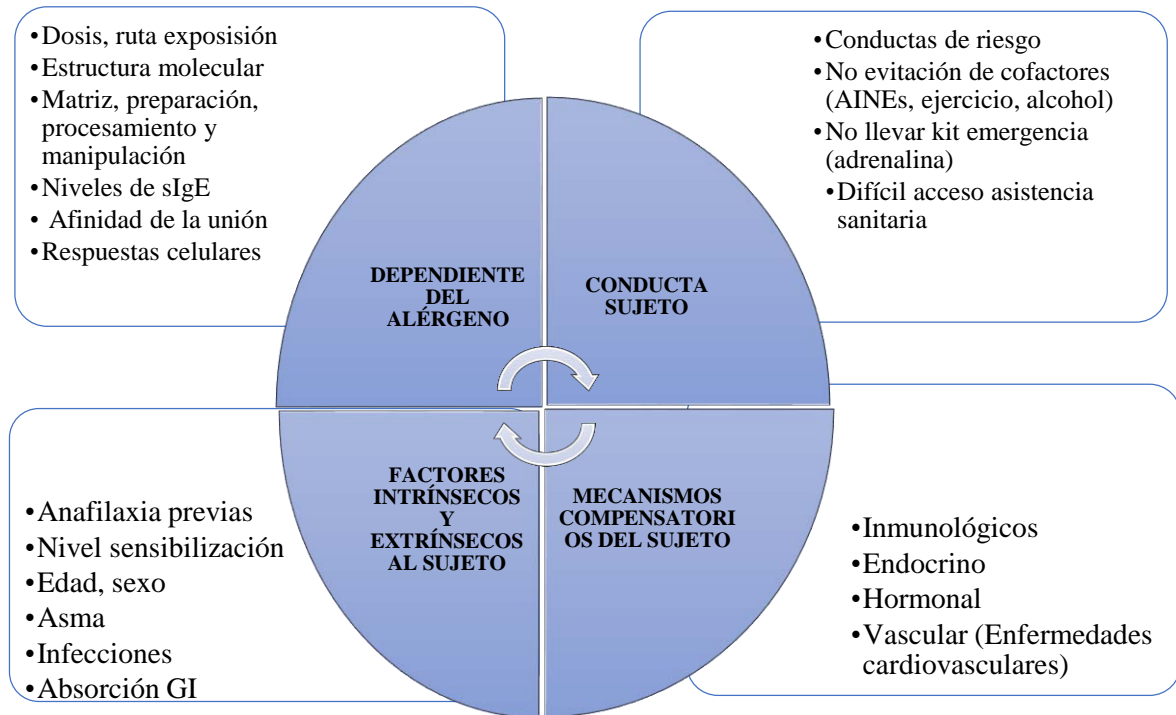


Figura 5. Factores que pueden influir en la severidad de las reacciones alérgicas a alimentos (Modificada de Turner (36)).

1.7. Diagnóstico

El diagnóstico de la alergia a alimentos mediada por IgE se basa en: una historia clínica compatible, que orienta sobre el alimento responsable de la reacción y el mecanismo inmunológico implicado, la demostración de IgE específica mediante estudios *in vivo* e *in vitro* (determinación de IgE sérica específica) y la confirmación de la sospecha diagnóstica mediante la prueba de exposición oral controlada, siempre que sea necesaria y no esté contraindicada (39)(40).

1.7.1. Historia Clínica

Una historia clínica detallada es fundamental para establecer una asociación causal entre el alimento y las manifestaciones clínicas referidas por el paciente, orienta sobre el mecanismo inmunológico subyacente, así como determina las posteriores pruebas diagnósticas a realizar. En la historia clínica debe detallarse: síntomas presentados por el sujeto, posible alimento o

alimentos implicados, tolerancia previa y posterior a dicho alimento y otros relacionados por taxonomía o con reactividad cruzada conocida, tiempo de latencia entre la ingestión del alimento y la aparición del cuadro clínico, forma en la que se ha consumido (crudo, cocido, horneado, con o sin piel), ruta de exposición (oral, inhalación o cutánea), cantidad ingerida, presencia de cofactores (ejercicio, AINEs, alcohol, estrés, menstruación), antecedentes familiares y personales de otras enfermedades atópicas (rinitis, conjuntivitis, asma, dermatitis atópica), sensibilización a aeroalérgenos, tratamientos farmacológicos concomitantes y recibidos durante la reacción. Aunque una historia clínica compatible es esencial, por sí sola no es diagnóstico de alergia alimentaria mediada por IgE, sino que se necesitan pruebas diagnósticas adicionales que demuestren la presencia de IgE específica frente a ese alimento (sensibilización) presentando en conjunto una sensibilidad diagnóstica y valor predictivo negativo aceptables, pero una baja especificidad (26)(41)(39)(7)(40).

1.7.2. Pruebas cutáneas intraepidérmicas (SPT)

La prueba intraepidérmica o prick test (SPT) es el método de elección inicial para determinar la sensibilización mediada por anticuerpos IgE en los pacientes con sospecha de alergia frente a un alimento. Consiste en la aplicación de una gota de extractos alérgico, un control positivo (histamina) y negativo (suero salino 0.9%) en la cara interna del antebrazo y la punción con una lanceta intraepidérmica. La lectura de los resultados se realiza a los 15 minutos y se considera positiva una pápula con diámetro medio mayor que el control negativo al menos de 3 mm. Es una prueba sencilla, barata, segura, reproducible, con elevada sensibilidad, pero con una especificidad y valor positivo predictivo bajo. Una prueba intraepidérmica positiva puede indicar una sensibilización mediada por IgE frente a dicho alimento, pero por sí sola no indica relevancia clínica, sino que su interpretación debe hacerse con la historia clínica del paciente. En cambio, un resultado negativo hace improbable la posibilidad de aparición de síntomas en la prueba de exposición oral. Se recomienda el uso de extractos validados y de calidad con contenido de los alérgenos relevantes. En ocasiones debido a una infrarrepresentación de alérgenos minoritarios y/o inestabilidad o degradación del alérgeno en el proceso de extracción, se pueden producir falsos negativos. En estos casos se pueden realizar pruebas intraepidérmicas con punción previa del alimento en estudio con la lanceta y a continuación, la piel del paciente, técnica conocida como “*prick-prick*”. Los criterios de positividad son los mismos que para la prueba intraepidérmica convencional. Esta técnica garantiza la presencia de los alérgenos contenidos en la fuente alérgica y aumenta la sensibilidad cuando se trata de estudiar alimentos cuyo contenido antigénico es lábil, como ocurre con las profilinas y homólogos de Bet v 1 presentes en algunos alimentos vegetales.

También están indicadas si se observan discrepancias entre la historia clínica y las pruebas realizadas con el extracto comercial, o cuando no se disponga de dicho extracto comercial de un determinado alimento (41)(42)(24)(7).

1.7.3. Determinación en suero de IgE específica

Los métodos validados para medir cuantitativamente IgE específica sérica “in vitro” tienen una alta sensibilidad, pero son poco específicos. Un resultado positivo indica la existencia de IgE específica para ese alérgeno y, por tanto, la sensibilización al alérgeno que ha de ser valorada en contexto de la clínica. Las ventajas frente a SPT incluyen su fácil accesibilidad (por ejemplo, en atención primaria), su utilidad en pacientes con dermatitis atópica severa o con imposibilidad de suspender los antihistamínicos en los que no se puede realizar SPT. La determinación de niveles de IgE específica a un alimento a lo largo del tiempo permite su monitorización, lo que puede ser útil para predecir la resolución de la alergia y/o tomar la decisión de realizar una prueba de exposición oral (42)(7).

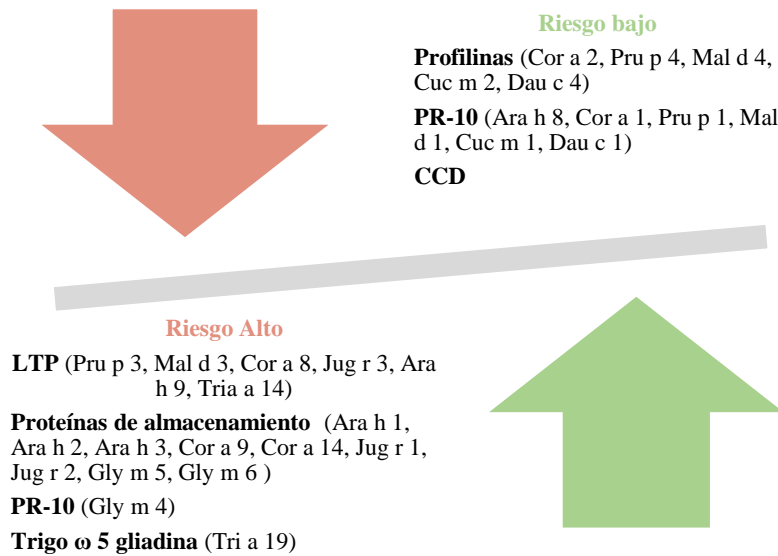
Se ha relacionado de forma directamente proporcional el tamaño de la pápula y los niveles de IgE sérica específica frente a un alimento con la relevancia clínica a dicho alimento, como ocurre con la leche, el huevo y el cacahuete en los que un valor predictivo positivo por encima del 95% es altamente indicativo de reactividad clínica. Sin embargo, no son predictivos de la gravedad de la reacción (16)(7)(40).

1.7.4. Diagnóstico Molecular en la alergia a alimentos

El concepto de diagnóstico molecular o resolución diagnóstica por componentes (en inglés *Component Resolved Diagnosis*, CRD) fue descrito por primera vez en 1999 por Rudolf Valenta (43). Se basa en la descripción del perfil de sensibilización alérgica mediante la determinación de IgE específica frente a moléculas alérgicas individuales obtenidas por purificación de la fuente alérgica natural (alérgenos nativos o purificados) o por expresión recombinante de ADN que codifica para el alérgeno (alérgenos recombinantes) (44). La nomenclatura oficial sistemática de las proteínas alérgicas establecida por el Subcomité de Nomenclatura de alérgenos de la Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas (IUIS), fue publicada por primera vez en 1986 (45) y posteriormente revisada en 1994 (46) y 2014 (47). Consiste en un sistema binomial linneano basado en el género (3-4 letras) y especie (1-2 letras) de la fuente de la que el alérgeno se origina, seguidas de un número arábico que inicialmente se asignaban de forma consecutiva

según se identificaban los nuevos alérgenos. En las últimas décadas debido a los avances en la bioinformática, se pueden clasificar por familias de proteínas evolutivamente relacionadas con secuencias y estructuras similares. Además, en la nomenclatura se incluye el prefijo “r” para indicar que la molécula es el resultado de expresión recombinante o el prefijo “n” si la molécula ha sido purificada de la fuente alérgica. Los alérgenos identificados hasta fecha de hoy se pueden consultar en la página web oficial de la IUIS (www.allergen.org).

La introducción del diagnóstico molecular ha supuesto una mejora en la precisión del diagnóstico de la alergia alimentaria y la indicación de medidas terapéuticas y de evitación de alimentos más precisas y personalizadas a los pacientes (43)(48)(49)(50)(51). Probablemente su mayor utilidad sea la de diferenciar entre pacientes que están sensibilizados de forma primaria a una fuente alérgica en particular (sensibilización genuina) de aquellos con sensibilización a múltiples fuentes alérgicas no relacionadas, a causa de una sensibilización a alérgenos de reactividad cruzada, con las implicaciones pronósticas y terapéuticas que ello conlleva, especialmente en pacientes polisensibilizados a neumalérgenos y alérgenos alimentarios, como es el caso de la elección de la inmunoterapia con alérgenos más idónea. A su vez, la caracterización del perfil de sensibilización del paciente a nivel molecular permite la evaluación del riesgo de futuras reacciones sistémicas graves ya que se ha identificado que algunas familias de alérgenos como las LTP o proteínas de almacenamiento, se asocian con reacciones sistémicas graves, mientras que otras se asocian con mayor probabilidad reacciones leves, como las profilinas o las PR-10 (Figura 6). En el caso de la anafilaxia por alimentos potenciada por cofactor, la valoración molecular puede optimizar las recomendaciones de evitación dietéticas y de cofactores antes y después del consumo de alimentos vegetales. Además, debemos tener en cuenta que el estudio alergológico con extractos alérgicos crudos puede no ser suficiente para diagnosticar el alérgeno responsable de la reacción por la escasa representatividad de algunos alérgenos en los extractos comerciales debido a la variabilidad biológica de la fuente alérgica. Además de para la valoración del riesgo de las reacciones, se ha propuesto la utilidad del diagnóstico molecular para el estudio de la anafilaxia idiopática, y en la identificación de alérgeno responsable para intentar predecir el espectro de posibles desencadenantes de futuras reacciones con otras fuentes alérgicas en función de perfil de sensibilización (44)(52)(53)(54)(48)(49)(50).



Abreviaciones: CCD: determinantes carbohidratados de reactividad cruzada; LTP: proteínas transferidoras de lípidos no específicas; PR-10: proteínas relacionadas con la patogénesis-10.

Figura 6. Moléculas alergénicas asociadas con la gravedad de la reacción (Adaptado de Luengo y colaboradores (53) y actualizado de Tuano y colaboradores (49)).

El diagnóstico molecular se puede llevar a cabo mediante plataformas de análisis uniplex o multiplex (varios ensayos por muestra). El análisis uniplex mediante InmunoCAP (Thermo Fisher Scientific/Phadia, Uppsala, Suecia) permite cuantificar los niveles de IgE específica en suero a una sola molécula alergénica por ensayo, de forma cuantitativa y expresado en quilo unidades de anticuerpo por litro (rango 0.1-100 KU/L), lo que facilita la comparación entre diferentes reactivos alergénicos (extractos completos versus moléculas alergénicas) y el cálculo de la relación entre IgE específica e IgE total. Presenta una elevada sensibilidad y precisión, una elevada reproducibilidad de los resultados, un bajo coeficiente de variación y un amplio rango lineal de ensayo. Además, no presenta interferencia con la posible coexistencia de anticuerpos IgG específicos para el alérgeno. Todo ello hace que aumente la exactitud de los resultados siendo una buena herramienta de cribado o “screening”. Sin embargo, sus limitaciones son que sólo se obtiene un resultado por determinación, lo que dificulta el diagnóstico en pacientes polisensibilizados aumentando el coste si se necesitan múltiples determinaciones, así como la necesidad de mayor cantidad de suero. Aunque en el caso de un limitado número de muestras (pacientes monosensibilizados) se trata de una técnica más coste eficiente (44)(53)(54)(51)(55).

La modalidad multiplex permite la determinación de perfil de IgE a una gran cantidad de moléculas alergénicas a la vez. Actualmente está comercializado el chip de alérgenos en fase

sólida ó ISAC 112® (Thermo Fisher Scientific/Phadia, Uppsala, Suecia) (Figura 7) que es una micromatriz en la que los alérgenos están químicamente preactivados e inmovilizados en el fondo de un pocillo en un porta objetos de vidrio mediante un proceso denominado “punteado” y que se realiza industrialmente. El porta de vidrio a su vez contiene cuatro pocillos, lo que permite la determinación simultánea de forma semicuantitativa de la IgE específica a 112 alérgenos nativos purificados o recombinantes de más de 50 fuentes alergénicas diferentes de cuatro pacientes a la vez en un solo ensayo con una mínima cantidad de suero (30µl). El análisis consiste en dos fases: primero el suero de cada paciente se deposita en un pocillo, tras dos horas de incubación, cuando las IgE alérgeno específicas se han unido a los alérgenos se lavan y se vuelven a incubar con un anticuerpo anti-IgE marcado con un fluorocromo. A continuación, tras un nuevo lavado y secado se introduce el biochip en un escáner láser para analizar la fluorescencia que representa la sensibilización de ese paciente. Posteriormente se procede al análisis de las imágenes y a la emisión del informe mediante el programa informático “Microarray Image Analysis” (MIA). Con una curva de calibración estándar los resultados se representan en un rango de 0.3 a 100 unidades internacionales estandarizadas ISAC (ISU) que ofrecen una indicación semicuantitativa de las concentraciones de IgE, por lo tanto, los resultados obtenidos no son comparables con los obtenido mediante el sistema InmunoCAP, pero sí muestran una buena correlación que varía según el alérgeno analizado (44)(56).

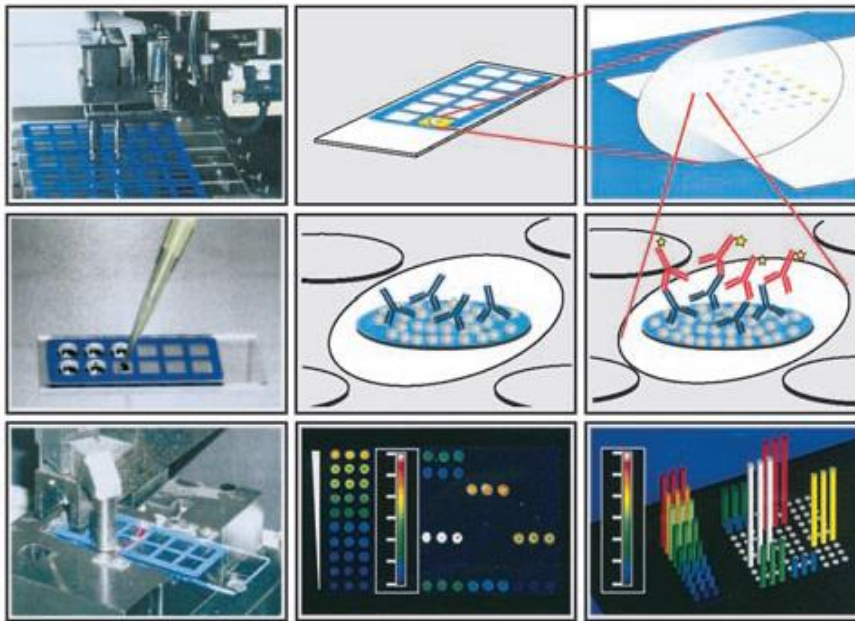


Figura 7. Análisis molecular mediante el chip de alérgenos en fase sólida ó ISAC 112®

(Tomado de Harwanegg y colaboradores (56))

1. Proceso de “punteado” de la Micromatriz en un porta objetos de vidrio.
2. Incubación del suero del paciente a las moléculas alérgénicas y detección de los mediante anticuerpos anti IgE marcados con fluorescencia.
3. Análisis de la fluorescencia del biochip en el escáner láser e interpretación de las imágenes.

Esta técnica ofrece una amplia visión del perfil de reconocimiento de IgE específica, especialmente útil en los pacientes polisensibilizados con sospecha de sensibilización a alérgenos por reactividad cruzada, sobre todo cuando se identifican aeroalérgenos y alérgenos alimentarios y/o con síntomas o cuadros clínicos complejos, así como en la anafilaxia idiopática. Permite detectar perfiles de sensibilización concretos asociados a reacciones graves o leves. A pesar de sus ventajas, hay que tener en cuenta que en la plataforma micromatriz ISAC 112 no están representadas todas las fuentes alérgénicas, tiene mayor coeficiente de variación y es menos sensible que el sistema ImmunoCAP, lo que hace que sea menos apropiado para monitorizar la variación de sensibilización a lo largo del tiempo. Debido a su elevado coste y la tecnología requerida para llevar a cabo la técnica, no está disponible globalmente. Además, la información generada debe ser interpretada por profesionales entrenados y cualificados para ello, ya que requiere cierta experiencia y siempre en base a la clínica del paciente, para identificar aquellas sensibilizaciones clínicamente relevantes (44)(53)(54)(51)(57)(55).

En general, la elección de un sistema uniplex (ImmunoCAP®) o multiplex (ImmunoCAP ISAC112®) (Tabla 1) en la práctica clínica dependerá del perfil de sensibilización del paciente (polisensibilizados frente a monosensibilizados), del objetivo con el que se realiza el diagnóstico molecular, la disponibilidad de las técnicas y el presupuesto.

Tabla 1. Comparación entre sistema ImmunoCAP e ImmunoCAP ISAC para la determinación de moléculas alergénicas.

	ImmunoCAP	ImmunoCAP ISAC 112®
Ventajas	Resultados cuantitativos (rango 0.1-100 KU/L) Elevada sensibilidad Elevada precisión Reproducibilidad Bajo coeficiente de variación No interferencias con IgG Comparación extractos y moléculas alergénicas Cálculo ratio sIgE/IgE total Monitorización de la sensibilización Experiencia y uso generalizado globalmente Si pocas determinaciones, más coste-eficiente (monosensibilizados)	Poca cantidad de suero (30µl) 112 alérgenos en una misma determinación Varios pacientes simultáneamente Reduce costes si se necesitan varias moléculas alergénicas Alérgenos purificados y recombinantes Visión más completa del perfil de reconocimiento de IgE Detecta patrones de sensibilización concretos Diferenciación sensibilización genuina y reactividad cruzada Elección ITE Evaluación del riesgo de reacciones graves y leves Detección de desencadenantes inesperados Aporta precisión al diagnóstico
Inconvenientes	1 sólo alérgeno a la vez Coste elevado si necesita varias determinaciones (polisensibilizados) Perfil de sensibilización molecular incompleto Gran cantidad de suero (50µl por ensayo) Mayor intervención técnica	Resultados semicuantitativos Técnica manual Mayor coste por ensayo Menos sensible Mayor variabilidad dependiente del alérgeno analizado Mayor coeficiente de variación Resultados no comparables a ImmunoCAP

	Detecta anticuerpos de baja afinidad que pueden ser clínicamente irrelevantes	Reproducibilidad aceptable Interferencia con IgG No adecuado para monitorización se la sensibilización No disponible globalmente
--	---	---

Abreviaciones: ITE: inmunoterapia específica.

1.7.5. Prueba de exposición oral con alimentos

En 1950 Loveless (58) publicó las primeras administraciones experimentales de alimentos enmascarados controlados con placebo en pacientes alérgicos a la leche, demostrando que en ocasiones una historia clínica compatible y la presencia en vivo y/o en vitro de anticuerpos IgE específicos frente a dicho alimento no son suficientes para el diagnóstico de alergia alimentaria. Posteriormente a mediados de 1970, Charles May y colaboradores (59) establecieron la prueba de exposición oral doble ciego controlada con placebo (DBPCFC) como la prueba de mayor rigor científico para el diagnóstico de alergia alimentaria, concepto que sigue vigente actualmente (39)(7)(60)(40)(8). Existen otras modalidades como la prueba de exposición abierta, que no requiere enmascaramiento del alimento y la prueba de exposición simple ciego controlada con placebo, en la que el enmascaramiento es sólo percibido por el paciente (16)(48)(7).

En los últimos años se ha producido un aumento en la publicación de documentos de posición y consensos sobre las pruebas de exposición oral, especialmente de la prueba de exposición doble ciego controlada con placebo con el objetivo de estandarizar sus indicaciones y procedimientos tanto para su uso en la práctica clínica como para fines de investigación (61)(62)(41)(63)(60). Sin embargo, en estas guías la interpretación de las reacciones durante la exposición y su resultado final no han sido completamente estandarizadas y todavía depende de la interpretación subjetiva de los profesionales que supervisan la provocación. De hecho, Van Erp y colaboradores (64) reportaron que la interpretación de un mismo síntoma por diferentes médicos especialistas y con experiencia en la realización e interpretación de pruebas de provocación orales pueden ser diferentes en hasta un 30%. Recientemente y con el objetivo de solventar la falta de estandarización en la interpretación de las pruebas de provocación, Grabenhenrich y colaboradores (65) han publicado documentación y metodología estandarizada.

La prueba de exposición oral con alimentos consiste en la administración de pequeñas cantidades de alimento con incrementos progresivos multiplicando la dosis o aumentándola

de forma logarítmica o semilogarítmica cada 15-30 minutos hasta llegar a la dosis máxima que corresponde a la unidad de alimento que se consume habitualmente, repartida en 7 dosis. Se realiza bajo la estrecha monitorización y supervisión de un médico especialista de forma ambulatoria o en un hospital de día dependiendo del riesgo del paciente a presentar reacciones graves. El paciente ha de estar en ayunas y se recomienda la canalización de una vía intravenosa en caso de ser considerado paciente de riesgo por sus comorbilidades o por el antecedente de haber presentado una reacción alérgica sistémica. En todo momento tiene que estar asegurado el rápido acceso a tratamiento específico, así como a carro de paros y/o unidades de cuidados intensivos (UCI) si se produce una reacción alérgica grave que ponga en peligro la vida del paciente. El paciente debe permanecer en observación durante 2 horas tras la última dosis o si se suspende la prueba porque ha presentado síntomas sugestivos de alergia. La prueba no está indicada en aquellos pacientes que presenten una exacerbación de otras enfermedades atópicas (asma, rinitis y/o dermatitis atópica), enfermedades o medicación concomitante que contraindiquen la administración de adrenalina, pacientes en tratamiento concomitante con antibióticos, corticoides sistémicos y/o antihistamínicos, mujeres embarazadas o en período de lactancia (60). La evaluación de los síntomas tanto objetivos como subjetivos que pueden aparecer durante la prueba, así como los criterios para interpretar los resultados de la prueba deben estar definidos antes de iniciar la prueba. También previa realización de la prueba, se ha de indicar al paciente la suspensión de corticoides sistémicos 7 días antes y antihistamínicos 5 días antes para no enmascarar los resultados de la misma (66).

Además de para fines diagnósticos, la DBPCFC está indicada para demostrar tolerancia, determinar el umbral de mínima dosis de alimento capaz de desencadenar síntomas, monitorizar la respuesta clínica a tratamientos inmunomoduladores y en estudios de investigación (61)(62)(41)(63).

Otro aspecto importante en las pruebas de exposición oral doble ciego controlada con placebo es el enmascaramiento del alimento. La fórmula activa y el placebo han de ser idénticas en cuanto a características organolépticas como la textura, el olor, el color y el sabor. Por ello es necesario llevar a cabo validaciones de las recetas de enmascaramiento del alimento con test sensoriales usados normalmente en la industria alimentaria. El test del triángulo y el test de comparación por pares son los más usados (67)(68)(69)(70)(71)(72)(73)(74)(75). El test del triángulo evalúa si dos muestras distintas son diferentes o iguales, en el caso de DBPCFC evaluaría si la receta activa (A) (la que contiene el alimento) es distinta de la receta placebo (P). Para ello, a los participantes en la validación se les dan a probar tres muestras secuencialmente y codificadas, 2 iguales y una diferente, con 6 posibles combinaciones (PAA-APA-AAP-PPA-PAP-APP) con el objetivo de que tienen

que elegir la muestra que les parece diferente. En caso de que las tres muestras les parezcan iguales, el test fuerza al/la participante a elegir una muestra. Por el contrario, el objetivo del método por comparación por pares es evaluar una característica específica de las muestras, en este caso sería evaluar si el alimento que se pretende enmascarar es detectado por los participantes a los que se les proporciona dos muestras codificadas (activo y placebo). En este caso los participantes también son forzados a elegir una muestra, aunque les parezcan iguales. Hasta la fecha varias recetas para DBPCFC han sido validadas para leche (68)(72)(74)(75), huevo (68)(72)(74)(75), avellana (67)(68)(72)(73) (75)(76) , cacahuete (67)(68)(69)(72), anacardo (72), soja (68)(74), trigo (68)(74), bacalao (71) (74) y apio nabo (73).

Por todo lo mencionado, se trata de una prueba compleja de realizar, consume muchos recursos, no está exenta de riesgos, precisa de una infraestructura adecuada con rápido acceso a unidades de soporte vital, así como personal cualificado y entrenado para ello. Estos inconvenientes disminuyen su realización en la práctica habitual. En España, según datos publicados en *Alergológica* 2015 (10), las pruebas de exposición sólo se realizaron en el 15.6% de los pacientes diagnosticados de alergia a alimentos, siendo la frecuencia de provocaciones abiertas significativamente mayor a la de pruebas con enmascaramiento.

1.7.6. Test activación de basófilos

La técnica del test de activación de basófilos (TAB) fue desarrollada en la década de los 90 por Sainte-Laudy y colaboradores (77) tras el descubrimiento en 1991 de la regulación al alza de CD63 durante la activación de los basófilos (78). El CD63 es una proteína lisosomal asociada a membrana (LAMP) que se localiza en los gránulos lisosomales que contienen histamina de los basófilos en reposo. Cuando los basófilos son activados tras la unión del alérgeno a dos moléculas de IgE unidas al receptor de alta afinidad de la IgE específica (FcεRI), se produce la degranulación de los basófilos con la consecuente expresión de CD63 en la membrana. El TAB se basa en la detección y cuantificación mediante citometría de flujo de CD63 en la membrana de los basófilos activados tras la incubación de la sangre del paciente con el alérgeno (48)(79)(80). Para ello es necesario el análisis dentro de las 6 horas tras la extracción de 1-2ml de sangre en tubos heparinizados conservada a 4°C. Los resultados obtenidos en el TAB se pueden expresar como “reactividad de basófilos” o “sensibilidad de basófilos”. La “reactividad de los basófilos” es la máxima proporción (CD-max) de basófilos activados medidos a cualquier concentración del alérgeno. La “sensibilidad de los basófilos” (EC50 o CDsens) es la concentración más baja de alérgeno que provoca un 50% de la máxima activación de basófilos” (79).

En el diagnóstico de la alergia alimentaria, el TAB presenta una sensibilidad que oscila entre el 77 y 98% y una especificidad 75-100% (79). El TAB podría ser una herramienta útil para identificar sensibilización “in vitro” y reactividad clínica frente al alérgeno, pudiendo suponer un paso intermedio entre pruebas cutáneas y determinación in vitro de IgE específica y pruebas de provocación oral, reduciendo su número en casos innecesarios (40). Además, el TAB ha demostrado ser útil para la monitorización de la resolución natural de la alergia a leche (81), huevo (82) y trigo (83). También se ha observado una disminución de la sensibilidad y reactividad de los basófilos en el TAB como respuesta clínica a tratamientos inmunomoduladores para la alergia alimentaria, como inmunoterapia oral a cacahuete (84) e inmunoterapia sublingual a huevo (85). Asimismo, podría diferenciar entre fenotipos de alergia alimentaria (40) como se observó en estudio realizado en 38 niños con sospecha a cacahuete los que presentaron una DBPCFC positiva presentaron de forma estadísticamente significativa mayor sensibilidad en el TAB a cacahuete y Ara h 2, siendo negativa en aquellos pacientes con DBPCFC negativa (86). Por otro lado, Ford y colaboradores (87) encontraron que la reactividad de basófilos fue mayor en niños reactivos a leche horneada comparado con los que toleraban leche horneada pero reactivos a la leche no calentada.

A pesar de todas las utilidades descritas del TAB en la alergia alimentaria, debido a la falta de validez y estandarización de la técnica y a la complejidad de su realización, actualmente no es una técnica que se realice de rutina, sino que sólo se lleva a cabo en laboratorios especializados y con fines de investigación (41)(40).

1.8. Manejo y Tratamiento de la alergia alimentaria

En el manejo clínico de la alergia alimentaria se puede distinguir entre el tratamiento farmacológico agudo de las reacciones alérgicas y el manejo a largo plazo para evitar futuras reacciones alérgicas e ingestas inadvertidas, así como tratamientos inmunomoduladores como la inmunoterapia y los anticuerpos monoclonales (41). Los resultados obtenidos en Alergológica 2015 (88) pusieron de manifiesto que la actitud terapéutica más frecuente llevada a cabo por especialistas españoles fue la evitación del alimento en el 97.3% de los pacientes.

1.8.1. Tratamiento agudo de las reacciones

El tratamiento de elección para el manejo de las reacciones agudas son los antihistamínicos para las reacciones leves (SAO, eritema cutáneo, prurito) con o sin corticoides sistémicos (urticaria y/o angioedema). Los corticoides tópicos son útiles para el tratamiento de

lesiones cutáneas en un área limitada de piel (urticaria de contacto). En caso de anafilaxia o shock anafiláctico el tratamiento de elección es la adrenalina intramuscular (7) siguiendo las recomendaciones de las Guías Europeas de la EAACI (89) y la Guía Galaxia (29).

1.8.2. Manejo a largo plazo

Actualmente, el tratamiento de elección de la alergia alimentaria es la dieta de exclusión del alimento responsable y todos los productos que lo contengan (41)(7). La dieta de exclusión debe ser personalizada a cada paciente según su perfil de sensibilización y de reactividad clínica, y reevaluada en cada visita de seguimiento, con el fin de minimizar al máximo la recurrencia de reacciones, sobre todo graves, y mejorar la calidad de vida de los pacientes. En caso de alergias alimentarias múltiples es recomendable la valoración por un especialista en nutrición con competencias en alergia alimentaria para una correcta dieta de evitación asegurando los aportes nutricionales óptimos (26)(41)(8). Es importante educar al paciente en la dieta de evitación, el etiquetado de los alimentos y las posibles ingestas inadvertidas de alérgenos ocultos, así como una correcta evitación de cofactores en el caso de pacientes con alergia alimentaria potenciada por cofactor (41)(8). Además, se le ha de administrar al paciente un plan de acción con el “kit de emergencia” con instrucciones sobre qué medicación tomar según la gravedad de la reacción (leves, moderadas o graves, como la anafilaxia), así como entrenarle en el uso del autoinyector de adrenalina y sus indicaciones de uso (26).

1.8.3. Inmunoterapia

El objetivo de la inmunoterapia específica (ITE) es la desensibilización progresiva del paciente para inducir tolerancia oral administrando dosis controladas repetidas del alérgeno. Durante la última década se ha producido un avance considerable en este campo con la realización de múltiples ensayos clínicos con inmunoterapia específica de alimentos como leche, huevo, cacahuete y melocotón. La ITE en la alergia alimentaria se puede administrar de forma oral, como en el caso de alergias a la leche y huevo, que se dan predominantemente en la infancia, de forma sublingual (SLIT), como la del melocotón y cacahuete, y epicutánea (EPIT), actualmente en fase de investigación para alimentos como la leche y el cacahuete (90)(41)(91)(92).

La ITE para el tratamiento de la alergia alimentaria está indicada en alergias alimentarias graves y/o alergias alimentarias múltiples con dietas alimentarias muy restrictivas.

1.8.4. Anticuerpos monoclonales

Se han publicado algunas series de casos en las que se demuestra que el tratamiento con anticuerpos monoclonales humanizados anti-IgE, como el Omalizumab (Xolair®), en pacientes con alergias alimentarias graves y/o múltiples con dietas muy restrictivas, aumenta el umbral de tolerancia a alérgenos alimentarios y mejora la seguridad reduciendo el número de efectos adversos (26)(41)(7). Su uso previo y concomitante a la inmunoterapia oral o sublingual disminuye el número de eventos adversos mejorando el perfil de seguridad del procedimiento (93). Se ha descrito en un estudio piloto realizado en 11 sujetos con alergia a la leche que la administración de omalizumab antes y durante la OIT se ha asociado con la disminución de efectos adversos y disminución del tiempo en alcanzar la dosis de mantenimiento (90). En un ensayo clínico fase II de provocaciones orales con cacahuete tras un tratamiento de 24 semanas con omalizumab en pacientes alérgicos a cacahuete aleatorizado, doble-ciego, de grupos paralelos y controlado con placebo, se produjo un aumento en la cantidad tolerada de cacahuete en los pacientes que habían recibido tratamiento activo respecto al placebo (94). También ha sido utilizado con éxito en alergia alimentaria tipo 2 en un caso con síndrome de alergia oral severo con manzana por el síndrome polen de abedul-manzana (95).

2. Reactividad Cruzada

La reactividad cruzada (RC) es un fenómeno inmunológico por el que un mismo anticuerpo IgE reconoce a dos antígenos de diferentes fuentes alérgicas que comparten características en la estructura primaria (secuencia de aminoácidos) y terciaria (conformación tridimensional que determina su actividad biológica)(96). La RC se da entre proteínas relacionadas taxonómicamente con un elevado grado de homología estructural o de identidad de secuencia de aminoácidos y entre proteínas homólogas bien preservadas a lo largo de la evolución con función similar y que están presentes en múltiples fuentes alérgicas taxonómicamente distantes (97)(98)(99).

Es importante conocer el grado de identidad entre proteínas para que se produzca RC (97). Las proteínas de RC suelen presentar un pliegue en su estructura terciaria similar entre ellas con tan sólo un 25% de identidad de secuencia de aminoácidos (96). Sin embargo, una homología de secuencia menor al 35% es poco probable que produzca RC (97). Actualmente, las guías de la WAO (100) para la predicción de alergenidad entre proteínas considera que para que se pueda producir reactividad cruzada entre dos proteínas deben compartir al menos el 35% de identidad de secuencia en un fragmento de 80 aminoácidos o una identidad completa con un péptido de 6-8 aminoácidos de un alérgeno. De forma genérica, se considera necesaria una identidad de secuencia de aminoácidos superior al 70% para que se produzca RC con

relevancia clínica (96). La RC *in vitro* no siempre se traduce en expresión clínica. La habilidad de los alérgenos de RC para producir reactividad clínica está influenciada por la respuesta inmune del huésped contra el alérgeno (afinidad de la IgE por el alérgeno, concentración de IgE), la exposición (concentración, vía de sensibilización, presencia de cofactores) y características del propio alérgeno (grado de homología, solubilidad, estabilidad y digestibilidad) (101)(99).

3. Alérgenos alimentarios

Los alérgenos alimentarios responsables de la alergia a alimentos vegetales forman parte de varias familias de proteínas entre las que se incluyen las LTP, las profilinas, las taumatinas o TLPs, las proteínas relacionadas con la patogénesis (PR-10) y las proteínas de almacenamiento de semillas.

3.1. Panalérgenos

El concepto panalérgenos comprende a familias de proteínas de origen vegetal y animal altamente conservadas a lo largo de la evolución que comparten antígenos homólogos y estructuralmente relacionadas y que son responsables de reacciones de reactividad cruzada mediada por IgE entre diferentes fuentes alérgicas relacionadas o no filogenéticamente. Están ampliamente distribuidas en la naturaleza ya que acostumbran a participar en procesos vitales (102)(103). La sensibilización a panalérgenos supone un marcador de progresión de la enfermedad alérgica y un riesgo elevado de desarrollar múltiples sensibilizaciones como ha sido demostrado en un estudio realizado en España (104) complicando el diagnóstico y manejo de los pacientes. La relevancia clínica de la sensibilización a panalérgenos está influenciada por diversos factores como la fuente de exposición alérgica, diferencias geográficas, tipo de alérgeno, la edad y la respuesta inmunológica del huésped (102)(103). En un estudio publicado recientemente (105) realizado en Génova (Italia) en pacientes con alergia respiratoria y/o alimentaria demostraron que la sensibilización a panalérgenos implica una mayor probabilidad de presentar otras sensibilizaciones y que el patrón de co-sensibilización depende de la familia de panalérgenos sensibilizante: la sensibilización a LTP en esa población estaba fuertemente asociada con la sensibilización al cacahuete, en cambio la sensibilización a PR-10 y profilinas, con avellana. A continuación se detallan las características de las principales familias de panalérgenos de origen vegetal, a excepción de las polcalcinas, que al encontrarse

exclusivamente en tejido polínico no son responsables de ningún síndrome polen-alimentos (103).

3.1.1 Profilinas

Las profilinas son unas proteínas de 12-15 kDa presentes en todas las células eucariotas. Son proteínas monoméricas ligadoras de actina y reguladoras clave de la dinámica de los filamentos de actina implicadas en la organización del citoesqueleto y la transducción de señales, como el proceso de movimiento celular, citoquinesis y vías de señalización. Todas las profilinas comparten una estructura tridimensional plegada (Figura 8) (106)(51) altamente conservada compuesta por 2 α hélices en los extremos amino y carboxi terminal y 6 hojas centrales anti paralelas β . Además, presentan una elevada identidad de secuencia, siendo al menos del 75% entre fuentes de organismos relacionados distantemente. Como consecuencia, la reactividad cruzada mediada por IgE entre las profilinas homólogas se produce prácticamente entre cada fuente vegetal dando lugar a fenómenos de polisensibilización y síndrome polen-alimentos y alimentos-látex (102)(51)(107)(108).

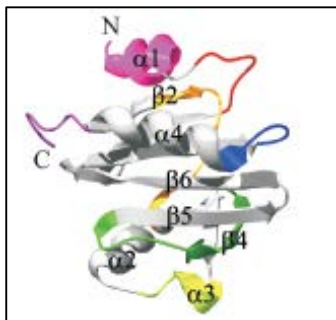


Figura 8. Estructura secundaria de Hev b 8.0204, profilina del látex. Tomada de Rauder y colaboradores (102).

La primera profilina alergénica fue descrita por Valenta y colaboradores (109) en 1991 en el polen de abedul y se denominó Bet v 2. Desde entonces se han identificado profilinas en pólenes, alimentos vegetales y látex (102)(107). Entre las profilinas de fuente polínica, el polen de gramíneas parece ser el inductor más potente de IgE específica frente a profilinas. Este hecho se evidencia en el gradiente de prevalencia de sensibilización a profilinas norte-sur de Europa con una mayor prevalencia en el sur (107). En el caso de España, Barber y colaboradores (104) encontraron una prevalencia de sensibilización a profilinas del 18.8% en pacientes del norte y centro de España con polinosis, con una asociación significativa a polen de gramíneas (Phl p 5). En otro estudio realizado por el mismo autor (110) en el sur de España se refrendaba que la sensibilización a profilinas se asocia con una mayor probabilidad de sensibilización a gramíneas en España.

En su papel como alérgeno alimentario se estima que hasta un 50% de los individuos sensibilizados a profilinas presentarán clínica de alergia alimentaria (51). Son alérgenos alimentarios de clase II que producen sensibilización vía inhalatoria, sensibles a las altas temperaturas y a la digestión de las enzimas gástricas, por lo que fundamentalmente producen reacciones alérgicas leves como SAO, aunque se han descrito reacciones sistémicas en áreas de España con una alta exposición a polen de gramíneas (111). Recientemente Barber y colaboradores (112) han puesto de manifiesto el papel de mucosa oral en el desarrollo de reacciones alérgicas graves a alimentos por sensibilización a profilina en la que se produce un remodelado de la mucosa oral asociado a una disrupción de la barrera epitelial con la liberación de señales inflamatorias. Estos pacientes presentan acantosis epitelial, mayor deposición de fibras de colágeno y aumento de la angiogénesis en la mucosa oral respecto a los pacientes con un fenotipo leve, lo que indica un fenotipo progresivo inflamatorio asociado a la severidad de las reacciones alérgicas.

Los alimentos típicamente implicados con la sensibilización a profilinas son el tomate crudo, el melón, la sandía, los cítricos, el plátano, la piña y el calabacín (51). Los síndromes pólenes-alimentos en el que están implicadas las profilinas se detallan en la tabla 2.

La hipersensibilidad a profilinas puede ser diagnosticada in vivo mediante prick test con extracto comercial enriquecido con polen de palmera datilera (nPho d 2), mientras que “in vitro” las profilinas disponibles para la determinación singleplex (ImmunoCAP) son las procedentes de gramíneas (Phl p 12), abedul (Bet v 2), melocotón (Pru p 4) y látex (Heb v 8) y en multiplex mediante la plataforma ImmunoCAP ISAC 112®, se dispone también de Mer a 1, la profilina de mercurial (51)(107). Se ha demostrado un elevado valor diagnóstico del prick test a profilina con una concordancia positiva de 82,3% y negativa 90,8% respecto a los niveles de sIgE (104).

Tabla 2. Profilinas y Síndrome pólenes-alimentos. Tomada y adaptada de Santos y colaboradores (107).

Síndrome	Pólenes	Profilina	Alimento vegetal	Localización geográfica
Abedul-apio	Abedul (<i>Betula berrucosa</i>)	Bet v 2	Apiaceae (<i>Umbelliferae</i>) Rosaceae	Centro Europa
Apio-artemisia-especies	Artemisia (<i>Artemisia vulgaris</i>)	Art v 4	Apiaceae	Centro Europa

Artemisia-mostaza	Artemisia (<i>Artemisia vulgaris</i>)	Art v 4	Cruciferae (Brassicaceae)	Sur Europa
Artemisia-melocotón	Artemisia (<i>Artemisia vulgaris</i>)	Art v 4	Prunoideae	Sur Europa
Ambrosía-melón-banana	Ambrosía (<i>Ambrosia artemissfolia</i>)	Amb a 8	Cucurbitaceae Musaceae	USA
Chenopodium-frutas	Chenopodium (<i>Chenopodium álbum</i>)	Che a 2	Roseaceae Cucurbitaceae Musaceae Liliaceae	Sur Europa
Polen-frutas exóticas	Asteraceae (<i>Compositae</i>)	Profilina	Banana Piña Lichi	
Gramíneas-frutas	Gramíneas	Profilina	Rosaceae	Sur Europa

3.2. Taumatinas (PR-5)

Las taumatinas (*thaumatin-like proteins*, TLPs) (figura 9) constituyen la familia 5 de la superfamilia de proteínas de defensa vegetal (*pathogenesis-related proteins*, PR) cuya expresión en los vegetales está inducida por infecciones de patógenos como virus, bacterias y hongos, o por condiciones adversas ambientales como el estrés osmótico. Su peso molecular oscila entre los 20 y los 30kDa y presentan una estructura tridimensional común muy estable que consiste en 16 residuos de cisteína formando 8 puentes disulfuro, lo que le confiere resistencia a la acción de las proteasas, altas temperaturas y cambios en el ph del medio (113)(114). Se han descrito como responsables de RC entre pólenes y alimentos y pueden producir desde reacciones leves a graves, siendo más frecuentes las reacciones sistémicas (114).

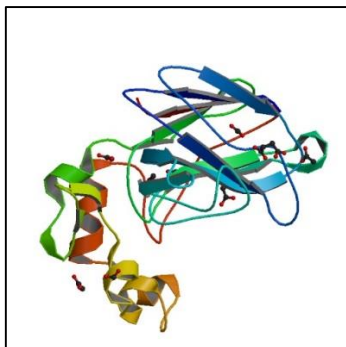


Figura 9. Estructura tridimensional de Mal d 2, TLP de la manzana. Tomada de Protein Data Bank: <https://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=3ZS3> (Última consulta 06/01/18).

Las taumatinas se encuentran en pólenes, frutas, verduras, frutos secos y cereales. La primera taumatina alergénica fue descrita en 1995 por Hsieh y colaboradores (115) en la manzana (Mal d 2). Posteriormente se han identificado en cereza (Pru av 2) (116), pimienta (Cap a 1) (117), kiwi (Act d 2)(118), melocotón (Pru p 2.0101, Pru p 2.0201 y Pru p 2.0203) (119), lechuga (Lac s TLP) (120), uva (Vit v TLP) (121), piel del melón (Cuc m TLP) (122), Cannabis (123), trigo (124) y oliva (Ole e 13)(125) . Las taumatinas también se han descrito en pólenes, como el ciprés (Cup a 3) (126) y plátano de sombra (Pla a TLP) (114).

Los datos publicados sobre alergenicidad de las taumatinas provienen de estudios realizados *in vitro* por los datos sobre prevalencia de sensibilización muy variables, dependiendo del método utilizado (119). En un estudio realizado en Europa sobre el perfil de sensibilización en pacientes alérgicos a manzana, Mal d 2 fue más frecuentemente reconocida en España respecto al resto de países que participaron en el estudio (127).

En un estudio realizado en 31 adultos alérgicos a melocotón en Madrid (119) se identificaron las distintas isoformas de la taumatina del melocotón como alérgenos mayores con un perfil de reconocimiento del 71% Pru p 2.0101, 77% Pru p 2.0201 y 58% Pru p 2.0301. Sin embargo, la prevalencia de reconocimiento a la LTP del melocotón Pru p 3, fue superior (81%).

Palacín y colaboradores (114) realizaron un estudio sobre el perfil de reconocimiento de 16 TLPs en adultos procedentes 7 provincias de España demostrando que las taumatinas más frecuentemente reconocidas por los pacientes fueron las procedentes del melocotón, lechuga, castaña, col y polen de plátano de sombra, con frecuencias de reconocimiento superiores al 10%. Además, se identificó un patrón de reconocimiento con asociación entre las LTPs de melocotón y artemisia (respectivamente, Pru p 3 y Art v3) y la taumatina del melocotón, Pru p 2. Los pacientes alérgicos a frutas presentaron una fuerte asociación de reconocimiento a varias TLPs, siendo más frecuente en el subgrupo con polinosis. Las reacciones sistémicas fueron el patrón clínico más frecuente presentado por los pacientes alérgicos a frutas en pacientes con y sin polinosis. También se observaron diferencias geográficas en cuanto al patrón de

reconocimiento de las TLPs sugiriendo la influencia de los aeroalérgenos locales en la sensibilización a TLPs.

Actualmente el diagnóstico de las taumatinas es muy limitado ya que no se disponen de extractos comerciales purificados de taumatina para la realización de SPT ni para su determinación en InmunoCAP. La única taumatina presente en la micromatriz ISAC 112 (Phadia, Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suecia) es nAct d 2, procedente del kiwi. Esto supone una dificultad en el diagnóstico ya que la literatura existente hasta la fecha pone de manifiesto su notable prevalencia y potencial alérgico en España, por lo que algunos autores proponen su inclusión en el diagnóstico de rutina (119).

3.3. Proteínas transferidoras de lípidos (LTP)

Las proteínas transferidoras de lípidos (LTP) son el objetivo principal de esta tesis por lo que serán abordadas en un apartado específico.

3.4. Proteínas relacionadas con la patogénesis (PR-10)

La décima familia de las proteínas relacionadas con la patogénesis (*pathogenesis related proteins*, PR10) son proteínas de bajo peso molecular, entre 15-16 kDa y aunque se encuentran de forma constitutiva en las plantas su expresión génica está inducida por situaciones estresantes bióticas y abióticas lo que sugiere que juegan un papel en la defensa vegetal (128). Están presentes en el polen de los fagales, frutas rosáceas, verduras, frutos secos y legumbres (128). De entre todas las proteínas que forman parte de esta familia, Bet v 1, el alérgeno mayor del polen de abedul, es su representante más característico, por ello también son denominadas “Homólogos de Bet v 1” (128). Su sensibilización es más prevalente en el Centro y Norte de Europa debido a la alta exposición a fagales (129). Su estructura (Figura 10) se basa en 7 hojas β trenzadas antiparalelas que abarca un gran residuo α hélice C terminal. La hoja beta y el extremo C terminal de la α hélice están separadas por dos α hélices consecutivas que conectan las hojas β 1 y β 2, lo que contribuye a la formación de una gran cavidad hidrofóbica que sugiere su función como transportador de ligandos hidrofóbicos (51)(128). Son proteínas lábiles a las altas temperaturas y a la acción de proteasas siendo el ejemplo característico de alérgenos alimentarios incompletos o de clase II, cuya sensibilización primaria se produce vía aérea y mediante fenómenos de RC son responsables de los denominados “síndromes polen-alimentos”, como los descritos entre abedul-manzana, abedul-zanahoria o abedul-apio (129)(128). Generalmente producen síntomas leves como SAO tras la ingesta de alimentos

crudos (128), aunque se han descrito reacciones sistémicas e incluso anafilaxias por la ingesta de alimentos procesados que contenían soja debido a Gly m 4, la PR10 de la soja (130)(131), sobre todo en zonas endémicas de exposición de fagales como Europa Central (132).

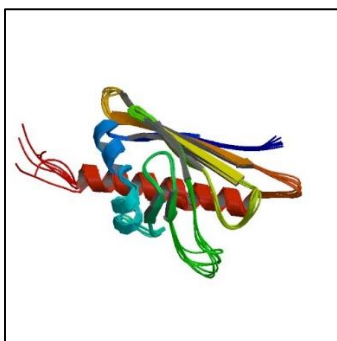


Figura 10. Estructura tridimensional de Bet v 1, PR-10 del polen de abedul. Tomada de Protein Data Bank: 1B5F (Última consulta 07/01/18).

Actualmente no se dispone de extractos comerciales para la detección de PR10 mediante pruebas cutáneas, por lo que el diagnóstico se realiza mediante la detección en suero de moléculas alergénicas mediante singleplex o multiplex ImmunoCAP ISAC 112® en el que hay 10 representantes como abedul (rBet v 1), manzana (rMal d 1), melocotón (rPru p 1), cacahuete (rAra h 8), soja (nGly m 4) y apio (rApi g 1). Un estudio reciente realizado en Italia sobre el perfil de reconocimiento molecular de PR-10 en un área no expuesta a fagales puso de manifiesto que Bet v 1, la PR10 del abedul, fue la molécula más frecuentemente reconocida (74%) seguido de su homóloga en la avellana, Cor a 1.0101 (71%), lo que sugiere que Bet v 1 es la molécula que mejor identifica a los pacientes sensibilizados a PR-10 incluso cuando no es el sensibilizante primario (133).

3.5. Proteínas de almacenamiento

Las proteínas de almacenamiento de semillas incluyen a la superfamilia de cupinas y las prolaminas (98) y representan la reserva de aminoácidos e iones utilizados por las plantas como fuente de nutrientes durante la germinación y el crecimiento (134). Se encuentran en frutos secos, legumbres, semillas (sésamo y mostaza) (98) y kiwi (135) y son responsables tanto de fenómenos de reactividad cruzada (98) y reacciones alérgicas graves (134).

Las 2S Albúminas (figura 11) forman parte de la superfamilia de las prolaminas cuyo esqueleto está formado por 8 residuos de cisteínas y una estructura tridimensional con α -hélices y cuentan con una región hipervariable que juega un papel inmunodominante (136). Poseen una masa molecular comprendida entre 10 y 14 kDa y un tamaño de unos 90 a 135 aminoácidos con una gran identidad de secuencia que varía entre 12 y 98%, lo que implica un amplio margen de reactividad cruzada (23). Las albúminas 2S son proteínas codificadas por familias de múltiples

genes lo que explica su alto grado de polimorfismo entre sí (23). Se encuentran ampliamente distribuidas en las plantas mono y di-cotiledóneas y su función consiste en proporcionar nutrientes a las plantas durante la germinación y el crecimiento de las semillas. También juegan un papel protector en la defensa vegetal contra el ataque de hongos (136). Son resistentes al calor, pH gástrico y a la actividad de las enzimas proteolíticas por lo que son capaces de sensibilizar a través del tracto gastrointestinal dando lugar frecuentemente a reacciones alérgicas graves, aunque también pueden producir síntomas leves, tanto con alimentos crudos como procesados (136)(137). A este grupo pertenecen alérgenos del kiwi (Act d 13) (135), cacahuete (Ara h 2, 6 y 7), soja (Gly m 2S), nuez (Jug r 1), sésamo (Ses i 1 y 2) y mostaza (Sin a 1) entre otros (138) (136). Las 2S albúminas de avellana (Cor a 14), nuez (Jug r 1), nuez negra (Jug n 1) y nuez pecana (Car l 1) presentan una identidad de secuencia de aminoácidos que oscila entre 62 y 86% (134).

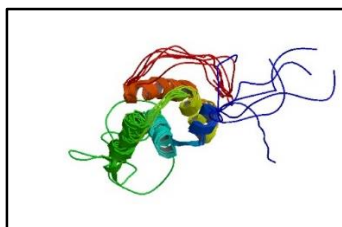


Figura 11. Estructura tridimensional de Ara h 6, 2S Albúmina del cacahuete. Tomada de Protein Data Bank: 1W2Q (Última consulta 06/02/18).

Las vicilinas y leguminas son miembros de la superfamilia de las cupinas, caracterizadas por presentar en su estructura tridimensional con dos dominios característicos denominados “barril β ” o “dominio cupina” y secuencias conservadas en posiciones específicas de las cadenas polipeptídicas ácida y básica formando una estructura de 40 a 60kDa. Dicha estructura le confiere a las proteínas resistencia a la degradación de proteasas y cierta estabilidad térmica (139). Sin embargo, el calentamiento de estas proteínas provoca la pérdida parcial de la estructura β de los dominios cupina y modificaciones covalentes en las cadenas polipeptídicas que pueden afectar a su actividad alérgica (23). Como ocurre con Ara h 1, la vicilina del cacahuete, que presenta mayor capacidad alérgica en cacahuetes tostados que en los crudos (140), cocidos o fritos (141). Se ha identificado a las vicilinas de la lenteja (Len c 1)(142) y el guisante (Pis s 1)(143) como los alérgenos mayoritarios de dichos alimentos en la población del área mediterránea y presentan una gran identidad de secuencia (90%). Otras vicilinas alérgicas relevantes han sido identificadas en la soja (Gly m bd) (144), nuez (Jug r 2)(145), anacardo (Ana o 1) (146), avellana (Cor a 11)(147) y sésamo (Ses i 3)(148). En estos alimentos también se han identificado leguminas alérgicas como en la soja (Gly m 6) (149)(150), avellana (Cor a 9) (151), cacahuete (Ara h 3) (152), sésamo (Ses i 6) (148) (153), mostaza (Sin a 2)(154). Existe un alto nivel de identidad de secuencia (90.1%) entre la vicilina del guisante (Pis

s 1) y lenteja (Len c 1) que indican que estas moléculas pueden considerarse virtualmente idénticas (134).

El mejor método para identificar a las proteínas de almacenamiento es el diagnóstico molecular por componentes (CRD). Actualmente Ara h 6 y Ara h 2, proteínas 2S albúminas del cacahuete, se consideran las moléculas alergénicas más específicas para diagnosticar alergia al cacahuete (155) y predecir reacciones alérgicas moderadas-graves (156). Sin embargo, en el área mediterránea Ara h 9, la LTP del cacahuete, es considerada el alérgeno mayor del cacahuete (157)(158).

3.6. Determinantes carbohidratados de reactividad cruzada (CCDs)

Los determinantes carbohidratados de reactividad cruzada (CCDs) fueron identificados en 1970 en la bromelina, una proteasa de la piña (159) que contenía un oligosacárido con dos estructuras no encontradas en las glicoproteínas de mamíferos: α 1,3 fucosa y β 1,2 xilosa. Posteriormente Aalberse y colaboradores identificaron estas glicoproteínas como causa de alergia alimentaria (160). Se estima que hasta un 31% de los pacientes alérgicos a pólenes (161) y un 20% de los alérgicos a alimentos (162) generan IgE específicas contra estas fracciones carbohidratadas de glicoproteínas denominadas N-Glicanos, cuya estructura está formada por dos moléculas de G1cNAc (N-acetil-glucosamina) y una manosa distal que suele ser modificada por la unión de uno o más residuos carbohidratados. La modificación que está implicada en la unión a IgE específica de alérgenos es altamente inmunogénica por no estar presente en los humanos: α -(1,3) fucosa en plantas e insectos y β -(1,2) xilosa en plantas y helmintos (163). Participan en funciones como el plegamiento de la proteína, estabilidad, secreción y tráfico intracelular (164). Inducen la producción de IgE de reactividad cruzada e interfieren en las determinaciones in vitro de IgE específica (99) dando lugar a falsos positivos y discrepancias entre los resultados obtenidos en las pruebas cutáneas y determinación de IgE sérica (165). Son una importante causa de reactividad cruzada sin relevancia clínica (99). Se han descrito en pólenes (166), veneno de himenópteros, insectos y alimentos vegetales como la zanahoria y apio (162)(167). La única detección in vitro de CCDs mediante la determinación de la fracción de Bromelina de piña (MUXF3) está disponible tanto en ImmunoCAP como en la plataforma multiplex ImmunoCAP ISAC 112®.

4. Proteínas transferidoras de lípidos (LTP)

4.1. Función

Las proteínas transferidoras de lípidos (LTP) forman parte de la superfamilia de proteínas denominadas prolaminas y por su función son consideradas proteínas relacionadas con la patogénesis (PR-14). Debido a su capacidad para unir lípidos, inicialmente se les había atribuido el papel de transporte intracelular de lípidos. Sin embargo, las LTPs se localizan extracelularmente en las capas más externas de la pared celular lo que inclina a pensar más en su implicación en la biosíntesis de cutícula y cera en la superficie de las plantas, así como en la defensa ante infecciones por su poder antifúngico y antimicrobiano y ante condiciones extremas del medio (168)(169)(170)(171)(51)(128). Esta función de defensa explicaría porque las LTP se encuentran predominantemente en la piel de frutas y verduras más que en la pulpa (172). Sin embargo, en algunas frutas como el kiwi verde y amarillo (respectivamente, Act d 10 y Act c 10) (173) y el tomate (Sola 1 6 y Sola 1 7)(174), las LTP están presentes en las semillas que se ingieren conjuntamente con la pulpa.

Una característica de las LTP es que su expresión en los alimentos vegetales puede cambiar según la variedad del alimento, su estado madurativo, tratamientos recibidos antes y después de la cosecha, las condiciones de almacenamiento, así como entre diferentes cosechas y cultivos (175)(176) dando a lugar a diferentes grados de alergenicidad del alimento, como se ha demostrado con Pru p 3 en el melocotón (177) y Mal d 3 en la piel de la manzana, donde los niveles más altos de Mal d 3 se encontraron en la piel de manzanas demasiado maduras y recién recogidas de la cosecha (178). En un estudio realizado por López-Matas y colaboradores (179) encontraron que el perfil proteico y alergénico en seis variedades de tomate (Rama, Canario, Rambo, Kumato, Pera y Raf) era totalmente diferente, siendo Rambo y Canario las variedades con mayor cuantificación de LTP del tomate, Lyc c 3, y la variedad Rama la que menos. Su expresión también se ve influenciada por las condiciones medioambientales y de cultivo, cambios climáticos así como por la presencia de sustancias químicas contaminantes (171)(176).

Recientemente, Tordesillas y colaboradores (180) describieron características similares entre la LTP del melocotón y las saponinas como su estructura rica en cisteínas altamente conservadas con 4 α -hélices y 3 puentes disulfuro, el tamaño, la existencia de una cavidad interna y la habilidad de transportar lípidos. Estos datos sugieren que Pru p 3 podría jugar un importante papel en el tráfico y descarga de compuestos lipídicos en receptores CD1d presentes en las células presentadoras de antígenos.

4.2. Estructura

Las LTP están ampliamente distribuidas en el reino vegetal y altamente conservadas filogenéticamente. Están formadas por 91-95 aminoácidos y se subdividen en dos familias relacionadas estructuralmente por su peso molecular: LTP 1 de 9 kDa y LTP 2 de 7 kDa (Figura 12) (181). Muestran baja identidad de secuencia de aminoácidos (menor del 30%) entre sí y difieren en la posición de algunos residuos de cisteína situados a lo largo de la molécula (168). Presentan en común su habilidad para transportar fosfolípidos entre membranas, un elevado punto isoeléctrico (pI 9) y que en su estructura contienen 8 residuos de cisteína perfectamente conservados y unidos entre sí por 4 puentes disulfuro que les confiere elevada resistencia a temperaturas extremas, acción de las enzimas proteasas y cambios en el pH del medio (169)(170)(51)(128). Su estructura y reactividad a IgE tampoco se ve afectada por la acción de las microondas y ultrasonidos (182) ni en alimentos procesados (183). El pliegue de LTP1 está compuesto por cuatro α -hélices unidas por un bucle flexible y un tramo de residuos C-terminal (figura 12). Las LTP2 presentan la misma estructura, pero contienen tres α -hélices y una región que contienen dos hélices de un solo giro. Las α -hélices y el extremo C terminal forman una cavidad interna hidrofóbica que atraviesa la molécula completa. La cavidad en la subfamilia LTP1 tiene la forma de un túnel que sostiene el eje largo de la proteína, mientras que la de la subfamilia LTP2 tiene la forma de una caja hueca triangular siendo más flexible y con mayor plasticidad que la cavidad de LTP1 (128). Aunque pueden encontrar LTP de ambas familias en semillas de las plantas, las LTP 1 se localizan fundamentalmente en los órganos aéreos de los vegetales y LTP 2 en las raíces (169). La mayoría de las LTP que han sido caracterizadas como alérgenos son de la familia 1 (168) y sólo cuatro han sido identificadas como LTP 2, una en fuente polínica (*Brassica rapa*, *Bra r 3*) (184) y tres en alimentos como Sola I 6, procedente de las semillas del tomate (185)(186) y que se ha asociado con reacciones alérgicas graves (174). Otras LTP de clase 2 han sido identificadas en el apio (*Api g 6*) (187) y trigo (*Tri a 7k-LTP*) (124) y otros cereales como el arroz (166).

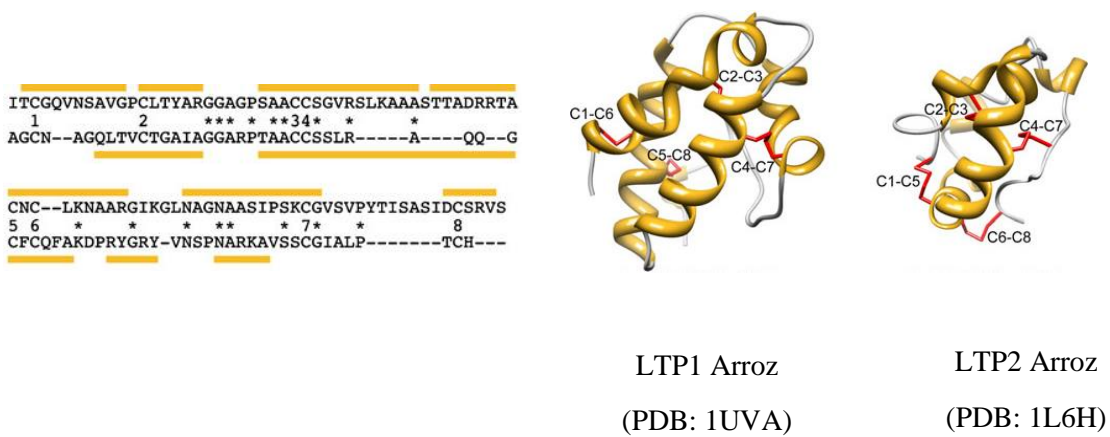


Figura 12. Comparación de la estructura primaria y terciaria de LTP1 (fila superior) y LTP2 (fila inferior) procedente del arroz (Tomado de Egger (169)). Los pliegues α -hélices están señalados en amarillo. Los aminoácidos idénticos están señalados con un asterisco (*). Los 8 residuos de cisteína típicos de la estructura conservada de la familia de las prolaminas están numerados de 1 a 8.

4.3. Prevalencia

A pesar de que no hay estudios de prevalencia e incidencia de sensibilización a LTP en población española, se considera que estas proteínas son la causa más frecuente de alergia alimentaria en adultos en el área mediterránea (12). En un estudio publicado por González-Mancebo y colaboradores (188) la prevalencia de sensibilización a LTP en pacientes que acudían a consultas externas de alergología por cualquier motivo en el sur de Madrid era de 12.3%, de los cuales 37.7% presentaban síntomas compatibles con alergia alimentaria y 62.3% eran asintomáticos. En el estudio EXPO (110) realizado en 17 provincias de España (Extremadura, Castilla La Mancha, Andalucía, Murcia, Comunidad Valencia y Cataluña) en pacientes adultos con clínica compatible con polinosis observaron una prevalencia de sensibilización a Pru p 3 de 12.6% a pesar de que la alergia alimentaria no era objeto del estudio. Resultados similares se obtuvieron en el estudio multicéntrico “Vegetalia” realizado en España en el que la prevalencia de sensibilización a Pru p 3 fue significativamente mayor en los pacientes con síndrome polen-alimentos vegetales que aquellos que sólo presentaban polinosis (42.2% vs 7.7%) (189).

4.4. Distribución geográfica

Los patrones de reconocimiento IgE de alérgenos alimentarios y la expresión clínica de la alergia a alimentos vegetales varían según la localización geográfica debido a la fuerte influencia de los factores medioambientales, los hábitos alimenticios y la cosensibilización a alérgenos polínicos y/o panalérgenos vegetales (190)(12). En el Norte y Centro de Europa la alergia a alimentos vegetales está asociada con la sensibilización a PR-10 y profilinas, mientras que en el Sur de Europa la causa más importante son las LTP, sobre todo en España, Italia y Grecia, mientras que presenta una limitada incidencia en el Norte y Centro de Europa (190)(191)(192). El área mediterránea se caracteriza por bajas precipitaciones, altas temperaturas y elevados niveles polínicos de olivo, plátano de sombra, artemisia, gramíneas y parietaria (190), lo que podrían actuar como moduladores de la expresión geográfica y clínica de la alergia por LTP. Un ejemplo que pone de manifiesto las diferencias geográficas norte-sur, incluso dentro del área mediterránea, es el estudio de Gamboa y colaboradores (193) en el que pacientes del Norte de España con alergia a melocotón presentaban dos patrones claramente diferenciados: los que habían presentado anafilaxia están sensibilizados a Pru p 3 mientras que los que habían presentado SAO lo estaban a profilinas y PR-10.

Un estudio realizado por Fernández Rivas y colaboradores (127) puso de manifiesto que la alergia a manzana en países como Holanda, Austria e Italia era leve (más del 90% presentaba SAO) y estaba relacionadas con la polinosis por abedul y la sensibilización a PR-10 y su homólogo en la manzana, Mal d 1. Sin embargo, en España el alérgeno principal de la manzana es una LTP, Mal d 3, y supone un factor de riesgo para presentar reacciones alérgicas graves (OR 7.76; IC 95%: 3.87-15.56) (127). Los patrones de sensibilización alérgica en la alergia al cacahuete también presentan diferencias geográficas, de forma que en España el 60% de los pacientes están sensibilizados a la LTP (Ara h 9) mientras que sólo la reconocen el 7.7% y 14.3% en EEUU y Suecia, respectivamente. Por el contrario, en EEUU y Suecia la alergia al cacahuete se debe fundamentalmente a sensibilización a proteínas de almacenamiento de semillas (Ara h 1, Ara h 2 y Ara h 3) (194).

4.5. LTPs y su papel como alérgenos

En 1992 Leonart y colaboradores (195) describieron una proteína alérgica de 8-10 kDa como el principal componente de unión a IgE del melocotón localizada preferentemente en la piel de las frutas más que en la pulpa y que posteriormente fue identificada como una LTP de clase 1 y considerada su alérgeno mayor (196)(197). Actualmente la LTP del melocotón se denomina Pru p 3 y se considera su principal alérgeno, reconocido por más del 90% de los pacientes alérgicos al melocotón en el área mediterránea (198).

Se ha demostrado mediante ensayos de inhibición que Pru p 3 domina la respuesta inmune sobre otras LTP de alimentos y pólenes, siendo en la mayoría de los casos el sensibilizador primario y el que posteriormente dirige la respuesta inmune hacia el reconocimiento de otras LTP (127)(199)(200). Hasta la fecha varios grupos han estudiado la respuesta celular mediada por células T a Pru p 3 con la identificación de varios epítomos inmunodominantes en Pru p 3, el perfil de respuesta celular inducida y las citoquinas producidas, lo que permitirá identificar nuevas dianas terapéuticas para el desarrollo de inmunoterapia específica a Pru p 3 en pacientes con alergia alimentaria por LTP (201)(202)(203).

Recientemente se ha identificado el ligando de Pru p 3 como un derivado del alcaloide campotecina con actividad enzimática inhibidora de topoisomerasa I unido a fitoesfingosina, un componente estructural de membrana, el cual es de naturaleza lipídica y está insertado en la cavidad hidrofóbica de la proteína (204). La capacidad de ligando lipídico de Pru p 3 para inducir sensibilización in vivo y su capacidad inmunogénica ha sido estudiada en un modelo de anafilaxia por melocotón en ratones concluyendo que el ligando lipídico de Pru p 3 actúa como un adyuvante potenciando la sensibilización y actividad alérgica de Pru p 3 y participa activamente en la inducción de la respuesta inmune tipo 2, activando a las células presentadoras de antígenos a través de los receptores CD1d (180).

Además de la LTP del melocotón, en *allergome* (<http://www.allergome.org>) hay descritas 174 LTP incluyendo varias isoformas para cada alérgeno. Entre todas las LTP alérgicas descritas, la del melocotón, otras frutas rosáceas, frutos secos, cacahuete, lechuga (205) y manzana (206) son más las que con más frecuencia producen reactividad clínica fundamentalmente reacciones sistémicas, mientras que otras LTP aunque pueden ser reconocidas por la IgE de los pacientes, en la mayoría de los casos no producen clínica siendo el alimento tolerado por el paciente, recibiendo el sobrenombre de “LTP seguras” (207)(12). En un estudio de 49 pacientes monosensibilizados a LTP todos los pacientes presentaron SPT negativo y tolerancia confirmada mediante exposición oral abierta a zanahoria, patata, melón y plátano, considerándose alimentos seguros en los pacientes alérgicos a LTP (207).

4.6. Vías de sensibilización

Las LTP son consideradas como alérgenos alimentarios completos o de clase I por su capacidad por sensibilizar a través del tracto gastrointestinal (183)(169) debido a sus características bioquímicas y moleculares que les confieren elevada resistencia a la digestión enzimática de pepsinas (208) y al calor (209). Un estudio realizado por Tordesillas y

colaboradores (210) puso de manifiesto que Pru p 3, la LTP del melocotón, atraviesa el epitelio gastrointestinal mediante una ruta transcelular que no implica un mecanismo proteolítico ni la modificación de las uniones estrechas de las células epiteliales con la consiguiente producción de citoquinas T2, lo que refuerza el papel de Pru p 3 como sensibilizador vía gastrointestinal. Este mecanismo también ha sido descrito en el caso de la LTP del trigo, Tri a 14 (211).

Por otra parte, las LTP también se han descrito en el contexto de alergia alimentaria de clase II debido a la reactividad cruzada mediada por IgE entre alérgenos homólogos de pólenes y alimentos sugiriendo la inhalación del alérgeno como una segunda vía de sensibilización (169). A favor de se han descrito síntomas respiratorios compatibles con asma ocupacional tras la inhalación de Pru p 3 procedentes de las hojas de melocotón (212) y de Tri a 14, una de las LTP del trigo, en panaderos previamente sensibilizados a harina de trigo (213), así como casos de rinoconjuntivitis ocupacional por LTP en una frutería con posterior desarrollo de alergia alimentaria (214). En el caso de la alergia a melocotón-polen de artemisia se han sugerido tanto la LTP del melocotón (Pru p 3) (215) como la de artemisia (Art v 3) (216) como sensibilizador primario dependiendo de la selección de la población a estudio.

El contacto repetido con la piel ha sido propuesto como tercera vía de sensibilización de las LTP en la alergia a melocotón y cacahuete (169)(12). Recientemente Tordesillas y colaboradores (180) han demostrado por primera vez en un modelo de ratón que Pru p 3 es capaz de sensibilizar a través de la piel. Esta capacidad es debida al vello característico de la piel del melocotón no presente en otras frutas de la familia de las Rosáceas y que le confiere una mayor alergenicidad que la pulpa (217). Se ha postulado que la mayor alergenicidad de la piel sea atribuible a que la cantidad de Pru p 3 es hasta 10 veces mayor en la piel que en la pulpa (172)(218). Otra posible hipótesis es que la piel del melocotón posea unas características distintas a la pulpa que le confiera propiedades alergénicas específicas (217)(218). Para ello, Larocca y colaboradores (218) realizaron un análisis proteómico mediante electroforesis y espectrometría de masas de LTP purificada procedente de la piel y pulpa de cuatro variedades distintas de melocotón y demostraron que la secuencia de aminoácidos era idéntica en la piel y pulpa de todas las variedades. Sin embargo, detectaron dos regiones metiladas en el residuo de arginina (R¹⁸ y R³²) en la LTP purificada de la piel en todas las variedades sugiriendo que podrían modular su capacidad de unión y, por lo tanto, regular sus funciones biológicas.

4.7. Reactividad cruzada

La amplia distribución de las LTP entre los alimentos vegetales y pólenes junto con un grado de identidad de secuencia de moderado a alto (35%-95%) y la reactividad cruzada que

presentan entre las LTPs de diferentes familias taxonómicamente distantes, sugiere un papel potencial de estas proteínas como panalérgenos vegetales (219). Además, las distintas LTP se caracterizan por ser heterogéneas inmunológicamente presentado diferentes patrones de reconocimiento (173).

En cuanto a las LTP presentes en pólenes, las de plátano de sombra (Pla a 3) y artemisia (Art v 3) son las que presentan mayor identidad de secuencia con Pru p 3 y una reactividad cruzada parcial con las LTP de melocotón y otros alimentos vegetales. En cambio, se ha descrito que las LTP del polen de olivo (Ole e 7) y parietaria (Par j 1 y Par j 2) presentan bajos niveles de identidad de secuencia con la LTP del melocotón, 19%, 28% y 27% respectivamente (220). Aunque Ole e 7 es un alérgeno menor del polen de olivo, su sensibilización es relevante en zonas con alta exposición a polen de olivo como el Sur de España y se asocia con reacciones alérgicas graves como asma (110). Un estudio realizado en Italia concluyó que el reconocimiento a Ole e 7 en pacientes sensibilizados a olivo se asocia con reacciones locales o sistémicas a alimentos vegetales principalmente melocotón, nuez y cacahuete (221). Sin embargo, no ha demostrado RC hasta la actualidad con LTP procedentes de alimentos ni de otras fuentes polínicas por lo que parece no estar relacionada estructuralmente ni inmunológicamente con otras LTP de alimentos (222).

Las LTP del polen de parietaria (Par j 1 y Par j 2) constituyen sus alérgenos principales en la población mediterránea, pero a pesar de conservar la estructura tridimensional típica de las LTP presentan un tamaño molecular distinto (Par j 1 14kDa y Par j 2 11kDa) y no presentan RC con las LTP de alimentos (220)(12).

4.8. Síndrome polen-alimentos por sensibilización a LTP

Se estima que entre el 30 y el 60% de los pacientes con polinosis en Europa presentan alergia a alimentos vegetales. Un estudio realizado en España desveló que la prevalencia de polinosis con alergia a alimentos vegetales era del 39.9%, los factores de riesgo para esta condición se dieran fueron presentar menor edad, sensibilización a polen de plátano de sombra, artemisia y Pru p 3, y los alimentos más frecuentemente implicados fueron melocotón y frutos secos (190). En el área mediterránea el síndrome polen-alimentos vegetales se deben al polen de artemisia y plátano de sombra.

4.8.1. Artemisia

La LTP presente en el polen de *Artemisia vulgaris*, Art v 3 (223), muestra un 45% de identidad de secuencia con Pru p 3 (173) y su sensibilización suele ser consecuencia de la sensibilización a LTP del melocotón normalmente sin relevancia de clínica polínica (215), lo que sugiere que desempeña un papel como modulador de la sensibilización a LTP en el área mediterránea. Sin embargo, los resultados obtenidos en un estudio realizado en Murcia indican que puede actuar como un alérgeno principal en pacientes con alergia respiratoria (216) en una zona endémica de polen de artemisia. Un estudio realizado por autores españoles puso de manifiesto que la sensibilización primaria a LTP de alimentos puede desencadenar síntomas respiratorios por LTP presente en los pólenes debido a un mecanismo de reactividad cruzada tras realizar provocaciones nasales a Pru p 3, Art v 3 y polen de artemisia en pacientes con alergia alimentaria por LTP (224). Presenta reactividad cruzada “in vitro” con LTP de alimentos como melocotón, manzana, castaña (225)(226), col (227) y mostaza (228). Los síndromes artemisia-col y artemisia-mostaza se han asociado con reacciones alérgicas graves (228)(227). Además, ha demostrado aumentar el riesgo de sensibilización a la LTP de la manzana (Mal d 3) en España (127).

4.8.2. Plátano de sombra

El polen de plátano de sombra, *Platanus acerifolia*, es una importante causa de polinosis en el área mediterránea (229)(230). La sensibilización a polen de plátano de sombra se ha asociado frecuentemente con alergia a alimentos vegetales, lo que se ha denominado como “síndrome plátano de sombra-vegetales” (229). La identidad de secuencia entre Pru p 3 y su homóloga en el polen de plátano de sombra, Pla a 3, es del 58.3% (230). Recientemente se han identificado dos isoformas de la LTP de polen de plátano de sombra, Pla a 3.01 y Pla a 3.02 (231). En estos pacientes, el reconocimiento de Pla a 3 debe considerarse como el resultado de sensibilidad primaria a Pru p 3 y posterior RC entre ambas moléculas en pacientes con alergia alimentaria por LTP en el área mediterránea (231)(232). Pla a 3 se comporta como un alérgeno principal y marcador de polinosis por polen de plátano de sombra con alergia a alimentos por LTP concomitante y como alérgeno menor de polinosis aislada por polen de plátano de sombra sin alergia alimentaria, aunque la sensibilización a Pla a 3 no está exclusivamente asociada a la LTP del melocotón (230)(231)(232).

En el estudio Vegetalia, el 66.5% de los pacientes con alergia a alimentos vegetales presentaban también polinosis, siendo el plátano de sombra el segundo polen más frecuentemente implicado (189). En un estudio realizado en España en pacientes diagnosticados

de Síndrome LTP, el 75.6% presentaba polinosis siendo el polen de plátano de sombra el más frecuentemente implicado (93.3%) seguido del polen de artemisia (73.3%) (233).

Los alimentos con los que más frecuentemente se asocia la polinosis por plátano de sombra son el melocotón, la manzana, los frutos secos y la lechuga (229)(234)(189). En una cohorte italiana sensibilizada a polen de plátano de sombra observaron una correlación significativa entre la reactividad a Pla a 3 y LTP de alimentos con orden decreciente: nuez (Jug r 3), cacahuete (Ara h 9), avellana (Cor a 8) y melocotón (Pru p 3), mientras que no se observó ninguna relación con la LTP de trigo (Tri a 14) y polen de parietaria y olivo (Par j 2 y Ole e 7 respectivamente) (232).

4.9. Manifestaciones clínicas

Las LTP son la causa más frecuente de alergia alimentaria y de anafilaxia inducida por alimentos en adultos en el área mediterránea (191)(12). La expresión clínica de la alergia alimentaria por sensibilización a LTP presenta algunas características específicas como su distribución geográfica limitada al área mediterránea, la frecuente necesidad de cofactores para desencadenar reactividad clínica y una menor gravedad de la clínica cuando se asocia con sensibilización a panalérgenos polínicos como los homólogos de Bet v 1 y las profilinas (191)(12). En algunos pacientes las reacciones adversas son más frecuentes y más graves cuando ingieren el alimento culpable con piel que con la pulpa sola (217).

Las manifestaciones clínicas de la alergia a LTP presentan un patrón clínico muy heterogéneo con un amplio espectro de gravedad de la clínica que varía de leve, como urticaria de contacto o el síndrome de alergia oral (SAO) a reacciones graves como la anafilaxia o el shock anafiláctico pasando por síntomas moderados como la urticaria y angioedema o la clínica gastrointestinal postprandial, lo que implica una dificultad añadida en el manejo de los pacientes. Además, existe un grupo de pacientes asintomáticos que toleran todos los alimentos vegetales incluido el melocotón (12). Sin embargo, el SAO es probablemente la expresión clínica más frecuente de la alergia por LTP (12).

La urticaria de contacto se considera una presentación característica de la alergia a LTP que se produce típicamente tras el contacto con la piel del melocotón, aunque se puede producir tras el contacto con cualquier alimento vegetal (235)(236)(237)(238). En España la LTP es probablemente la principal causa de urticaria de contacto inducida por alimentos (12). Se puede acompañar de síntomas tras la ingesta de la pulpa o de tolerancia (217). En algunos pacientes puede preceder al inicio de síntomas tras la ingesta de alimentos vegetales, lo que apoya la hipótesis de que la sensibilización primaria se produce por vía cutánea. Un estudio realizado en

España por Cuesta-Herranz y colaboradores (22) en una población de 70 pacientes alérgicos a LTP puso de manifiesto que la urticaria de contacto por melocotón era un síntoma común siendo diagnosticada en el 60% de los pacientes. Estos datos son consistentes con los obtenidos por Asero y colaboradores (239) en una población italiana en la que la urticaria de contacto por melocotón fue confirmada en el 63% de los pacientes, lo que hace posible concluir que aproximadamente un 60% de los pacientes con alergia a LTP en el área mediterránea presentan urticaria de contacto con la piel de melocotón (12).

Otra característica típica de su expresión clínica es la asociación de reacciones sistémicas graves (anafilaxia) con la presencia de cofactores (ejercicio, antiinflamatorios no esteroideos, alcohol, menstruación, estrés o cualquier combinación entre ellos) de 2 horas antes a 4 horas después a la ingesta de alimentos vegetales (12), entidad conocida como “alergia alimentaria potenciado por cofactores” (del inglés, *cofactor-enhanced food allergy*, CEFA) (32). En algunos casos, los pacientes que presentan alergia alimentaria potenciada por cofactor toleran el alimento responsable de la reacción en ausencia de cofactor y en otros casos presentan una clínica es más leve en ausencia de éstos, lo que indica que los cofactores pueden ser indispensables para que la expresión clínica ocurra o actuar como moduladores de la gravedad de la reacción, respectivamente (233). Un estudio realizado en España por Cardona y colaboradores (32) en 74 pacientes con CEFA reveló que la anafilaxia fue la manifestación clínica más frecuente (85.1%) y en el 99% de los casos el alimento culpable fue un alimento vegetal siendo Pru p 3 el alérgeno más frecuentemente implicado (91.7%). Otro estudio realizado por Romano y colaboradores (240) puso de manifiesto que las LTP también son la causa más frecuente de anafilaxia por alimentos inducida por ejercicio en Italia.

A pesar de que las LTP se encuentran presentes en todos los alimentos vegetales, algunos pacientes sólo desarrollan reactividad clínica a un alimento o grupo de alimentos mientras que otros tienden a ampliar su perfil de reconocimiento clínico a una amplia variedad de alimentos taxonómicamente distintos debido a la alta reactividad cruzada (219), denominándose a esta condición “Síndrome LTP” (SLTP) (241)(242)(233). Sin embargo, hasta la fecha no se han definido los criterios diagnósticos de dicho síndrome ni su historia natural, aunque en la mayoría de las publicaciones se considera la existencia de SLTP cuando el paciente presenta sensibilización demostrada a Pru p 3 y clínica con dos o más alimentos de grupos taxonómicamente distantes (233)(243)(205). Algunos autores han propuesto la existencia de tres tipos SLTP que presentan alergia alimentaria pero se diferencian entre sí por su origen, sensibilización primaria o reactividad cruzada: 1) sensibilización primaria a alimentos LTP sin polinosis, 2) sensibilización primaria a alimentos LTP en un contexto de polinosis existente y 3) sensibilización primaria a LTP de polen (244). En un estudio realizado en 2012 en Barcelona se observó un perfil clínico muy heterogéneo en pacientes con SLTP con una media de 4 alimentos

vegetales implicados siendo los más frecuentes el melocotón, la lechuga, la nuez, la avellana, el cacahuete y la judía verde. Las manifestaciones clínicas más comunes fueron el SAO y la anafilaxia con la misma frecuencia. Pru p 3 fue reconocido por el 100% de la muestra y los cofactores estaban presentes en un 40% de los casos y la polinosis en 76.9% (233).

En un estudio reciente sobre el perfil de reconocimiento de las LTP en una cohorte italiana de pacientes nacidos en el centro y sur de Italia con historia de reacciones adversas a alimentos, rinitis, asma y/o eccema atópico describieron que existe una fuerte correlación positiva entre las LTP de polen de plátano de sombra (Pla a 3), cacahuete (Ara h 9), nuez (Jug r 3) y melocotón (Pru p 3) que constituyen un grupo (“*clúster*”) molecular (245). En dicha población, Pru p 3 fue la molécula más reconocida por todos los pacientes mientras que Tri a 14 la que menos. Así mismo describieron que la gravedad de la clínica era menor cuando los pacientes estaban cosensibilizados a otras familias de proteínas como profilinas y homólogos de Bet v 1. A raíz de estos hallazgos se han propuesto algoritmos sobre el manejo de los pacientes en función de su perfil de reconocimiento (24).

La variabilidad en el perfil de reconocimiento de las LTP y en los patrones de reactividad cruzada de un individuo a otro, así como la gran heterogeneidad de la expresión clínica y su relación con la gravedad, hacen necesaria la realización de estudios en nuestra población con el fin de determinar fenotipos clínicos con características definidas y marcadores pronósticos para un manejo diagnóstico y terapéutico óptimo en pacientes con alergia alimentaria sensibilizados a LTP.

4.10. Diagnóstico

El diagnóstico de sensibilización a LTP se puede realizar mediante pruebas “in vivo” (SPT) o in vitro. Para la realización de SPT se dispone de un extracto comercial de LTP purificada de melocotón (0,1mg/mL). La determinación de IgE específica a LTPs es posible tanto por técnicas de singleplex (ImmunoCAP) como multiplex (ISAC 112®), presentando buena concordancia entre ambas técnicas (246)(247). Las LTPs disponibles para su cuantificación en el InmunoCAP ISAC 112® son Pru p 3 (melocotón), Ara h 9 (cacahuete), Jug r 3 (nuez), Cor a 8 (avellana), Pla a 3 (plátano de sombra), Art v 3 (artemisia), Ole e 7 (olivo), Tri a 14 (trigo) y Par j 2 (parietaria). En la modalidad singleplex no está disponible Pla a 3 pero sí Mal d 3, LTP de la manzana.

La determinación de IgE específica a Pru p 3 recombinante (rPru p 3) presenta una sensibilidad de 88% y especificidad del 100% (248). Los niveles de sIgE para Pru p 3 se consideran como un biomarcador de riesgo de presentar reacciones alérgicas graves, y en

algunas series han demostrado ser de utilidad para distinguir entre individuos asintomáticos y sintomáticos y reacciones graves y reacciones locales (249). Además, los niveles de sIgE Pru p 3 se relacionan de forma inversamente proporcional a la edad de inicio de alergia al melocotón (250).

La prueba patrón oro para el diagnóstico de alergia alimentaria es la DBPCFC, aunque también se puede realizar la provocación oral abierta o simple ciego. Sin embargo, hasta la fecha no se han validado recetas para pruebas de provocación oral con melocotón, sino que cada grupo ha desarrollado las suyas (251)(252)(253). En la página web de la Sociedad Europea de Alergia e Inmunología Clínica (EAACI) hay disponible una receta de enmascaramiento de melocotón para DBPCFC (254).

4.11. Tratamiento

El tratamiento de elección de la alergia alimentaria por LTP es la evitación del alimento o los alimentos que causan síntomas, así como el manejo de las reacciones agudas y a largo plazo (ver apartado “1.8. Manejo y Tratamiento de la alergia alimentaria”).

Desde el año 2011 está comercializada una ITE sublingual con extracto de melocotón cuantificado en Pru p 3 “SLIT – Pru p 3” (50µg Pru p 3/ml) (ALK-Abelló S.A., Madrid, España). Hasta la fecha son pocos los estudios publicados sobre su eficacia y seguridad (251) (253)(255), pero con resultados prometedores. En un estudio publicado recientemente por Gómez y colaboradores (253) se evaluaron los efectos del tratamiento durante un año con SLIT melocotón en una población de pacientes alérgicos al melocotón con antecedente de reacciones sistémicas graves. Tras un año de tratamiento se observó una mejoría estadísticamente significativa respecto al control en la disminución del tamaño de la pápula mediante prick test y el aumento del umbral en la DBPCFC, y cambios inmunológicos como la disminución IgE específica a Pru p 3, un aumento de los niveles de IgG4 a Pru p 3 y un aumento de la relación sIgG4/sIgE a Pru p 3). Estos resultados son consistentes con los obtenidos previamente por Fernández-Rivas y colaboradores (251) tras 6 meses de tratamiento con SLIT-Pru p 3. La mayoría de las reacciones adversas en ambos estudios fueron locales y durante la fase de aumento de dosis. En ninguno de los dos estudios se describieron eventos adversos serios. Existe otro tipo de inmunoterapia oral a melocotón realizada a base de extracto de peladuras de piel de melocotón con Pru p 3 cuantificado (256)(257), cuyos estudios muestran resultados muy favorecedores en cuanto eficacia y seguridad. Recientemente se ha publicado la creación de una ITE sublingual de Pru p 3 por un grupo español que combina un péptido de Pru p 3 ligando de células T con un oligodeoxiribonucleotido con fracciones Cpg como adyuvante para inducir

respuesta T1/Treguladora en un modelo murino alérgico a LTP con protección para anafilaxia mantenida al menos tres semanas (258).

Una alternativa a la vacuna comercial fue propuesta en 2016 por Cisteró-Bahima y colaboradores en el XXX Congreso de la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica (SEAIC) con la presentación de un protocolo de inducción de tolerancia oral con zumo de melocotón Granini® en 20 pacientes alérgicos a LTP (259), sin embargo, no es un procedimiento que esté validado actualmente.

Se ha observado una mejoría de la tolerancia a alimentos vegetales en pacientes con alergia a LTP y asma grave concomitante que recibían tratamiento con omalizumab (260). El omalizumab también se ha utilizado en algunos casos de SLTP graves con dietas muy restrictivas y/o reacciones sistémicas graves con buenos resultados (261).

HIPÓTESIS

La definición de los distintos fenotipos de la alergia alimentaria por sensibilización a LTP y sus potenciales marcadores clínicos y de perfil de reconocimiento molecular permitiría a los clínicos distinguir los pacientes leves de aquellos con riesgo de desarrollar síndrome LTP grave y alto grado de complejidad para llevar a cabo una medicina personalizada que nos lleve a un mejor manejo terapéutico de cada paciente, evitar dietas restrictivas innecesarias y mejorar su calidad de vida.

OBJETIVOS

- **Objetivo principal:**

Identificar si en la alergia alimentaria por sensibilización a LTP se pueden identificar patrones comunes “clústers” en función de parámetros clínicos y del perfil de reconocimiento molecular a alérgenos alimentarios y polínicos.

- **Objetivos secundarios:**

- Describir las características clínicas y los alimentos más frecuentemente implicados en las reacciones de alergia alimentaria por sensibilización a LTP de la muestra de estudio.
- Describir el perfil de sensibilización molecular de los pacientes con alergia alimentaria por sensibilización a LTP de la muestra de estudio.
- Validar una receta de enmascaramiento de melocotón para la realización de pruebas de exposición controlada con placebo.
- Estandarizar el procedimiento de interpretación de las pruebas de exposición oral a melocotón controladas con placebo en pacientes con alergia alimentaria por sensibilización a LTP.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Diseño del estudio

Estudio prospectivo observacional.

2. Tamaño de la muestra

Según estudios previos, para una prevalencia esperada de sensibilización a LTP de 12.3% del total de pacientes que acuden a Consultas Externas de Alergia por cualquier motivo, y ajustada a la población de nuestra área de influencia, se estimó un tamaño muestral con un nivel de confianza del 95%, una precisión del 4% y un 15% de proporción esperada de pérdidas, de 305 pacientes.

3. Selección de pacientes

Se incluyeron pacientes adultos derivados a las CCEE de nuestro centro por cualquier motivo en los que se detectó sensibilización a LTP mediante prueba cutánea incluida en la batería estándar de neumalérgenos y alimentos (Anexo III) y que cumplieran todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión.

- Criterios de inclusión

1. Pacientes con edad igual o mayor a 18 años que firmaran el consentimiento informado (Anexo I).
2. Pacientes con pruebas cutáneas positivas para LTP de melocotón e IgE específica para Pru p 3 (ImmunoCAP, Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suecia) mayor o igual a 0.10 KU/L y/o que presentaran valores mayores o iguales a 0.1 ISU en cualquiera de las LTPs contenidas en el microarray ImmunoCAP ISAC 112® (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suecia): rPru p 3, rAra h 9, rCor a 8, nJug r 3, nArt v 3, rPla a 3, nOle e 7 y rTri a 14.

- Criterios de exclusión

1. Pacientes no nacidos en España y con periodo de residencia en España menor a 10 años.
2. Estar en el momento de la inclusión del estudio o haber realizado previamente tratamiento con inmunoterapia sublingual con extracto de melocotón cuantificado en Pru p 3.

3. Estar en el momento de la inclusión del estudio en tratamiento o haber recibido tratamiento en los últimos 3 meses con anticuerpo monoclonal anti-IgE (Omalizumab).
4. Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia en el momento de la inclusión del estudio.

4. Procedimientos

A todos los pacientes se les realizó un estudio de alergia a alimentos siguiendo el protocolo habitual de estudio en CCEE Alergia.

4.1. Cuaderno de recogida de datos

Se realizó una anamnesis dirigida a cada participante con recogida de variables demográficas, antecedentes personales de atopia y características de la primera reacción alérgica presentada tras la ingesta de un alimento vegetal. Así mismo, se registró la tolerancia o la sintomatología presentada tras la ingesta de melocotón y con otros alimentos vegetales seleccionados, en un Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) previamente diseñado (Anexo II).

En función de la clínica más grave referida con la ingesta de melocotón, los pacientes fueron clasificados en cinco grupos: 1) urticaria de contacto (UC), 2) síndrome de alergia oral (SAO), 3) urticaria aguda/angioedema (UA/AE), 4) anafilaxia (ANF) y 5) pacientes que evitan melocotón desde que fueron diagnosticados de LTP como medida de evitación, pero nunca han presentado clínica al ingerirlo (evita).

Se consideró que un paciente presentaba Síndrome LTP (SLTP) cuando presentaba clínica de cualquier gravedad con dos o más grupos de alimentos vegetales taxonómicamente distantes.

4.2. Pruebas cutáneas

Las pruebas cutáneas (SPT) se realizaron siguiendo las recomendaciones de la EAACI (262) con extracto purificado de LTP de melocotón (Pru p 3, 1mg/ml, Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao, España) y una batería estándar de extractos comerciales de neumoaérgenos y alimentos (Anexo III).

4.3. Determinación en suero de IgE total y específica

A todos los participantes se les realizó una extracción sanguínea mediante venopunción. La sangre se dejó coagular a temperatura ambiente durante 30 minutos y posteriormente se centrifugó a 4500 rpm durante 10 minutos obteniendo el suero sobrenadante. Dicho suero se conservó inmediatamente a -20°C hasta la determinación de los niveles de IgE total e IgE específicas (ImmunoCAP, Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suecia) a extracto completo de

melocotón, rPru p 3 y a los alimentos con los que hubiera presentado clínica alérgica (Tabla 3). Una muestra del suero sanguíneo se reservó para realizar la determinación de IgE específica a los 112 alérgenos individuales contenidos en la micromatriz ImmunoCAP ISAC® (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suecia).

Tabla 3. Alimentos disponibles para la determinación de IgE específica en caso de referir clínica compatible con alergia.

Frutas	Frutos secos	Verduras	Legumbres	Cereales	Semillas
Manzana	Nuez	Lechuga	Lentejas	Trigo	Mostaza
Pera	Avellana	Tomate	Guisantes		
Fresas	Almendra	Judía verde	Cacahuete		
Cerezas	Castaña	Espárragos			
Ciruelas	Pipas	Espinacas			
Albaricoque					
Uva					
Kiwi					
Melón					
Plátano					
Piña					

4.4. Pruebas de exposición controlada

Se realizó prueba de exposición a melocotón controlada con placebo a un 10% de cada uno de los 5 subgrupos de pacientes clasificados según la clínica referida con melocotón: 1) UC, 2) SAO, 3) UA/AE, 4) ANF y 5) Evita (apartado 4.1). A los pacientes con UC se les realizó la prueba de frotamiento o “rubbing test” con piel de melocotón fresco y a los pacientes del resto de grupos una prueba de exposición oral doble ciego y controlada con placebo (DBPCFC). Por razones éticas y de seguridad en el grupo 4 sólo se incluyeron reacciones anafilácticas moderadas (sin síntomas cardiovasculares) según el sistema clasificación para reacciones de hipersensibilidad generalizadas propuesto por Brown y colaboradores (263) (Tabla 4).

Tabla 4. Sistema de clasificación para reacciones de hipersensibilidad generalizadas propuesto y modificado de Brown y colaboradores.

Grado	Criterios
1 – Leve (sólo piel y tejido subcutáneo)	Eritema generalizado, urticaria, edema periorbital o angioedema
2 – Moderado (implicación del aparato cardiovascular, respiratoria o gastrointestinal)	Disnea, estridor, sibilancias, náuseas, vómitos, mareo (presíncope), diaforesis, opresión torácica, sensación de ocupación faríngea o dolor abdominal
3 – Grave (hipoxia, hipotensión o compromiso neurológico)	Cianosis o Saturación de oxígeno en sangre $\leq 90\%$, hipotensión (TAS $< 90\text{mmHg}$ en adultos), confusión, colapso, pérdida de conciencia o incontinencia

Abreviaciones: TAS: tensión arterial sistólica.

Fueron excluidos de la prueba de exposición controlada aquellos pacientes con enfermedades cardiovasculares, los pacientes en tratamiento con fármacos que contraindicaran la administración de adrenalina, pacientes con exacerbación de su enfermedad alérgica de base (rinoconjuntivitis, asma, urticaria y/o dermatitis atópica), aquellos en tratamiento con antibióticos, corticoides o anticuerpos monoclonales, las mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y los pacientes con antecedentes de reacciones alérgicas graves por cualquier alimento que hayan puesto en peligro su vida.

4.4.1. Cuantificación de Pru p 3 en el zumo de melocotón

Se procedió a la cuantificación de LTP de melocotón, Pru p 3, en tres lotes diferentes de zumo de melocotón Granini®: M1 (lote A2081035311), M2 (lote A100301144_1) y M3 (lote A505994870_1) mediante la detección de anticuerpo monoclonal específico basado en el método de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) descrito previamente por Duffort y colaboradores (172) y llevado a cabo en los Laboratorios ALK-Abelló (Madrid, España). Posteriormente se analizaron los mismos tres lotes de zumo mediante ELISA, pero utilizando un anticuerpo diferente en otro centro.

4.4.2. Receta para la prueba de exposición oral con melocotón y placebo

Para realizar la DBPCFC se diseñó una receta con zumo de melocotón y otra con placebo. Los ingredientes usados para hacer la receta fueron: zumo de melocotón Granini®, zumo de naranja y zanahoria Granini® (Eckes Granini Ibérica S.A.U, Barcelona, España), puré de patata hecho con agua hirviendo (sin leche) Maggi® (Nestlé España, S.A., Esplugues de Llobregat, Barcelona, España), café descafeinado Nescafé® (Nestlé España, S.A., Esplugues de Llobregat, Barcelona, España), vainilla líquida y colorante alimentario rojo Vahiné® (McCormick España, S.A., Sabadell, España). La cantidad exacta de cada ingrediente en la receta activa y placebo se especifican en la tabla 5. Todos los ingredientes usados en ambas recetas pertenecían al mismo lote. Si un paciente refería alergia a un ingrediente incluido en el placebo, la receta se personalizaba excluyendo dicho alimento.

Tabla 5. Receta activa y placebo.

Ingredientes	Receta activa	Receta placebo
Zumo de melocotón Granini®	155 ml	-
Zumo de naranja y zanahoria Granini®	45ml	200ml
Puré de patatas Maggi®	1 cucharadita	6 cucharadita
Café descafeinado Nescafé®	1 cucharadita	2 cucharadita
Vainilla líquida Vahiné®	1 cucharadita	1 cucharadita
Colorante rojo Vahiné®	6 Gotas	3 gotas

4.4.3. Validación de la receta para prueba de exposición controlada

Para validar las recetas se realizó el test del triángulo (68)(69)(70)(73)(74)(75), un procedimiento estándar que evalúa las discrepancias entre muestras diferentes en cuanto a sus características sensoriales. Ambas recetas, activa (A) y placebo (P) se prepararon 30 minutos antes de la prueba y tres muestras, dos iguales y una diferente, fueron asignadas aleatoriamente a cada participante siguiendo una secuencia consecutiva de 6 posibilidades (AAP-APA-PAA-PPA-PAP-APP). En la validación participaron 32 voluntarios que no presentaban alergias alimentarias, enfermedad celíaca, esofagitis eosinofílica, alteraciones del olfato, enfermedades respiratorias o faríngeas activas y/o exacerbaciones de enfermedades atópicas. Los participantes probaron secuencialmente en el mismo día y en ayunas 3 muestras con el objetivo de detectar la muestra diferente. Durante la realización de la prueba los participantes podían beber agua. Tras probar las 3 muestras los participantes tenían que marcar en un cuestionario (Anexo IV) la muestra que consideraban diferente y evaluar cuanto se diferenciaban para cada una de las características sensoriales (olor, textura, sabor y color) en una escala visual analógica (EVA) del

0 (no hay diferencias) al 10 (la mayor diferencia). En caso de que a los participantes les parecieran las 3 muestras iguales, el test les forzaba a elegir una como diferente.

4.4.4. Prueba de exposición oral con melocotón doble ciego controlada con placebo (DBPCFC)

El procedimiento se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones de la EAACI (41) y el consenso PRACTALL (62) sobre provocaciones orales con alimentos. El lugar donde se realizaban las provocaciones orales se elegía en función de la gravedad de las reacciones que el paciente había presentado previamente, así a los pacientes con un fenotipo de alergia leve (UC y SAO) se les realizaban en las consultas externas, mientras que a aquellos con un fenotipo moderado y severo (UA/AE y ANF) o tolerancia descocida (grupo Evita) la prueba de exposición controlada se les realizaba en el hospital de día de alergia canalizándose una vía venosa. En todos los casos el procedimiento se realizaba bajo la supervisión de un/una facultativo/a especialista en alergias y con equipamiento apropiado para tratar las posibles reacciones alérgicas (60). A los pacientes se les indicó la suspensión de antihistamínicos orales y corticoides sistémicos 5 y 7 días antes de la prueba, respectivamente (66). En caso de que los pacientes refirieran alergia alimentaria potenciada por cofactor (CEFA) tras la ingesta de alimentos vegetales, también se les indicaba la evitación de dichos cofactores (ejercicio, alcohol y AINEs) 2 horas antes y después de la prueba de exposición controlada. La aleatorización la realizaba un miembro diferente del equipo diferente a al facultativo/a especialista que supervisaba la provocación. La DBPCFC se realizaba en dos días separados y las recetas activa y placebo se administraban en 7 dosis escalonadas con intervalos de 30 minutos en condiciones de ayunas, tal y como se muestra en la tabla 6.

Sólo en los casos en los que el paciente no tenía disponibilidad para acudir a hospital en dos días separados, las dosis de fórmula activa y placebo se daban aleatoriamente durante el mismo día (“Cuasi-provocación oral abierta”, del inglés, “*Quasi-Open food Challenge*” (QOFC)) (65). Los signos vitales (tensión arterial, frecuencia cardíaca y saturación de oxígeno), exploración física y medida del flujo espiratorio máximo (PEF) se realizaban a todos los pacientes antes, durante y al finalizar la prueba de provocación, mientras que la espirometría forzada sólo se realizaba a los pacientes asmáticos antes y después de la provocación. Estos datos, los signos y síntomas subjetivos presentados tras cada dosis durante cada provocación realizada, así como la medicación administrada en caso necesario, fueron registrados en el formulario de provocación oral (Anexo V), un documento propuesto por Grabenhenrich y colaboradores (65).

Tabla 6. Dosis de receta activa y placebo para la provocación oral y equivalencia de Prup 3 en la fórmula activa.

Número dosis	Dosis receta activa y placebo (ml)	Equivalencia de Zumo de melocotón Granini® en la receta activa (ml)	Equivalencia de Prup 3 en la fórmula activa (µg)
1	0.2	0.14	0.76
2	0.4	0.42	2.29
3	1	1.27	6.93
4	5	3.82	20.86
5	15	11.48	62.68
6	45	34.45	188.10
7	135	103.35	564.29
Total	201.6 ml	154.93ml (155ml)	845.91 µg

Con el fin de estandarizar el procedimiento de interpretación de cada provocación oral realizada, previamente se clasificaron los signos y síntomas que iban a ser evaluados (Tabla 7), y se definieron los criterios de evaluación (Tabla 8) y el resultado final tras el desenmascaramiento del doble ciego (Tabla 9).

Los síntomas objetivos estaban codificados en el formulario de provocación oral por un código de colores según su gravedad en leve (verde), moderado (naranja) y grave (rojo) (65). Los síntomas subjetivos se evaluaron mediante una escala visual analógica (EVA) graduada de 0 a 10 cm, siendo el 0 no síntomas y el 10 la intensidad máxima de dicho síntoma. La prueba de exposición controlada se paraba cuando el paciente presentaba signos objetivos con una gravedad correspondiente a los colores naranja o rojo y/o síntomas subjetivos que, evaluados en la escala VAS, cumplían los criterios predeterminados de positividad (Tabla 7). Dichos criterios estaban basados y modificados de los criterios propuestos por Treudler y colaboradores (264) e incluían: (1) uno o más síntomas subjetivos evaluados en 2 dosis consecutivas con EVA \geq 2cm, (2) uno o más síntomas subjetivos durante el periodo de observación de 2 horas con EVA \geq 3cm, (3) sumatorio de todos los síntomas subjetivos EVA \geq 4cm y (4) síntomas subjetivos evaluados con la receta activa con EVA \geq 2cm respecto al placebo.

Tabla 7. Signos y síntomas evaluados durante la provocación oral a melocotón doble ciego controlado con placebo.

Signos objetivos	Síntomas subjetivos
Angioedema intraoral	Prurito intraoral o en cualquier
Eritema	localización
Urticaria	Hormigueo en cualquier localización
Angioedema	Rascado
Conjuntivitis (prurito oral, lagrimeo, inyección conjuntival)	Sensación de ocupación faríngea
Rinitis (estornudos, rinorrea, prurito nasal, obstrucción nasal)	Disnea
Tos	Disfagia
Sibilancias	Dolor torácico
Disminución del flujo espiratorio máximo (PEF) \geq 20%	Náuseas
Saturación de oxígeno \leq 94%	Epigastalgia
Diarrea	Dolor abdominal
Emesis	Mareo
Disminución de la tensión arterial sistólica (TAS) \geq 20mmHg	
Aumento de la frecuencia cardíaca \geq 20%	
Metrorragia	
Disminución o pérdida de la conciencia	

Tabla 8. Criterios de evaluación de signos y síntomas durante la prueba de exposición oral.

Resultado	Evaluación de signos y síntomas
Positivo	<p>≥ 1 Síntomas objetivos: moderados (naranja) y/o graves (rojo)</p> <p>≥ 1 Síntomas subjetivos durante la provocación evaluados en dos dosis consecutivas con EVA ≥ 2cm</p> <p>≥ 1 Síntomas subjetivos durante el periodo de observación final de 2h con EVA ≥ 3cm</p> <p>Sumatorio de todos los síntomas subjetivos con EVA ≥ 4cm</p> <p>Síntoma subjetivo con fórmula activa EVA ≥ 2cm respecto al placebo</p>
Negativo	No síntomas durante la provocación ni hasta 24h después de la última dosis
Inconcluyente	El resultado no puede ser clasificado ni como positivo ni negativo Síntomas subjetivos entre las 2h y 24 horas tras la última dosis
Alergia alimentaria retardada	Síntomas objetivos después del periodo de observación de 2h

La prueba de exposición oral fue considerada negativa cuando no aparecieron signos ni síntomas tras la administración de todas las dosis de melocotón, en el periodo de observación de 2 horas ni en las 24 horas tras la última dosis. Cuando los resultados no cumplían los criterios de positividad ni negatividad, la prueba fue considerada como no concluyente. Si el paciente presentaba signos y/o síntomas subjetivos a partir de las 2 horas del periodo de observación y dentro de las 24 horas tras la última dosis, el resultado era considerado como alergia alimentaria retardada.

El manejo de las reacciones alérgicas presentadas durante la prueba y su tratamiento se hicieron siguiendo las recomendaciones de la EAACI (41). En el caso de reacciones anafilácticas se siguieron las recomendaciones de las guías de anafilaxia europeas (89) y españolas (29).

Los pacientes permanecieron en observación médica durante un periodo de 2 horas tras la toma de la última dosis antes de ser dados de alta o si presentaban alguna reacción alérgica. Antes de ser dados de alta se les indicaba que contactaran por teléfono si presentaban alguna reacción en las siguientes 24 horas.

4.4.5. Interpretación del resultado final de las pruebas de exposición oral

La lista de aleatorización se descubría una vez todos los pacientes habían realizado la provocación oral con receta activa y placebo. La interpretación del resultado final de las provocaciones se realizó siguiendo la clasificación propuesta por Grabenhenrich (65) con tres posibles resultados:

- Alergia alimentaria cuando los pacientes presentaban un resultado positivo con receta activa y negativo con el placebo, los signos y síntomas presentados con la receta activa eran claramente más graves que con el placebo o presentaban signos o síntomas concluyentes con las dosis activas, pero no con las dosis de placebo en QOFC.
- No alergia alimentaria cuando la provocación con receta activa y placebo eran negativas o los signos y síntomas durante la provocación con placebo eran claramente más graves que con la receta activa.
- Resultado incierto cuando la provocación era negativa con placebo, pero inconcluyente con la receta activa, o los signos y síntomas presentados en ambas provocaciones o dosis (activo y placebo) eran similares.

El manejo y tratamiento de los pacientes tras el procedimiento se llevó a cabo según el resultado final obtenido. A los pacientes con “Alergia alimentaria confirmada” se les indicó seguir evitando melocotón y aquellos alimentos vegetales con los que habían presentado síntomas y fueron considerados individualmente para el inicio de tratamiento inmunomodulador. A los clasificados como “No alergia alimentaria” se les recomendó introducir el melocotón en la dieta 3 veces por semana y seguir controles periódicos en nuestras consultas, y a al grupo con “Resultado incierto” se le indicó evitar el melocotón y considerar repetir la provocación oral y/o descartar otras posibles causas de los signos y síntomas presentados.

Tabla 9. Criterios de interpretación de los resultados finales de la provocación oral tras el desenmascaramiento del doble ciego y manejo según el resultado (basado y modificado de Grabenhenrich y colaboradores (65)).

		Resultados de la prueba de exposición oral con receta activa		
		No signos ni síntomas	Signos inconcluyentes o síntomas subjetivos	Signos o síntomas concluyentes
Resultado de la prueba de exposición oral con receta placebo	No signos ni síntomas	No alergia alimentaria (no síntomas ambos días)	Resultado incierto (no síntomas con placebo, inconcluyentes con receta activa)	Alergia alimentaria (síntomas sólo el día de receta activa)
	Signos inconcluyentes o síntomas subjetivos	No alergia alimentaria (síntomas sólo con placebo)	Resultado incierto (gravedad de los síntomas similar los dos días)	Alergia alimentaria (síntomas con receta activa claramente más graves)
	Signos o síntomas concluyentes		No alergia alimentaria (síntomas con placebo claramente más graves)	Resultado incierto (gravedad de los síntomas similar los dos días)
Prueba de exposición Cuasi-abierta		No alergia alimentaria (no síntomas con dosis de receta activa ni placebo)	Resultado incierto (síntomas inconcluyentes con dosis de receta activa, no con placebo)	Alergia alimentaria (síntomas concluyentes con dosis de receta activa, no con dosis placebo)
Manejo		No alergia alimentaria Reintroducir melocotón en la dieta 3 veces/semana	Resultado incierto Continuar evitando melocotón Descartar otras posibles causas Considerar repetir la provocación oral	Alergia alimentaria Evitar melocotón en todas sus formas

4.4.6. Test de frotamiento o “Rubbing test” con piel de melocotón

Se realizó test de frotamiento o “rubbing test” con piel de melocotón a un subgrupo de pacientes que presentaban UC siguiendo un protocolo previamente descrito (22)(239) entre mayo y julio de 2017, que corresponde a la temporada de cosecha del melocotón en España. La provocación consistía en frotar un melocotón con piel sin lavar en un área limitada del antebrazo del paciente durante 30 segundos. Como controles negativos se aplicaban de la misma forma y durante el mismo tiempo en el antebrazo contralateral un guante de nitrilo y un kiwi con piel. Los antebrazos se examinaban cada 15 minutos desde el momento de la aplicación hasta un máximo de 60 minutos o hasta que la prueba fuera considerada positiva. La prueba se consideraba positiva si aparecían lesiones cutáneas observables (eritema, pápulas, habones y/o angioedema) en el lugar del frotamiento del melocotón con o sin prurito dentro de los 60

minutos tras la aplicación y siendo los controles negativos. Si uno o dos de los controles eran positivos, el resultado era considerado como dermatografismo (Anexo VI). Previamente, a los pacientes se les indicó suspender los antihistamínicos orales y/o corticoides sistémicos 5 días antes de la prueba. Los pacientes con dermatitis atópica moderada y severa o con exacerbaciones de su dermatitis atópica fueron excluidos. Como controles se realizó la prueba a 10 voluntarios atópicos sin alergia alimentaria.



Figura 13. Material para realizar el rubbing test.

5. Aspectos éticos

De acuerdo con la Ley 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, los datos personales registrados fueron únicamente los necesarios para cubrir los fines del estudio. En la hoja de recogida de datos figuraba un código asignado, que se relacionó con el número de historia clínica en un listado independiente. Toda la información de los pacientes fue conservada por métodos informáticos en condiciones de seguridad bajo clave de acceso restringida al investigador principal, en nuestro centro. El estudio se llevó a cabo siguiendo rigurosamente las recomendaciones éticas internacionales para investigación y ensayos clínicos en humanos, recogidas en la Declaración de Helsinki sobre ensayos clínicos (Edimburgo, 2000), siguiendo las recomendaciones del Ministerio de Sanidad Español bajo las normas éticas recogidas por el código Deontológico del Consejo General de Colegios de Médicos de España.

El proyecto fue evaluado y aceptado por el Comité Ético del Instituto de Investigación Vall d'Hebron del Hospital Universitari Vall d'Hebron (Barcelona) con el código PR(AG)229/2015 (Anexo VII). Todos los pacientes incluidos en el estudio firmaron previamente a su participación un consentimiento informado por escrito (Anexo I).

6. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico “R” (R versión 3.4.1 (2017-06-30), Copyright (C) 2015 The R Foundation for Statistical Computing). Para las variables categóricas se calcularon las frecuencias (totales y porcentajes) y para las variables continuas se calcularon la mediana y el rango intercuartílico (RIQ). Los ratios de IgE específica a Pru p 3 y melocotón fueron calculados usando la siguiente fórmula: $\text{Ratio} = (\text{sIgE}/\text{IgE total}) \times 100$. Para evaluar las diferencias entre los grupos se llevaron a cabo distintos tests. Para las variables categóricas se realizaron pruebas de Chi-cuadrado y, en el caso de que las frecuencias absolutas en alguna de las celdas fuesen inferiores a 5, se calculó el test exacto de Fisher. Para las variables numéricas se realizó la prueba U de Mann Withney. Para evaluar si existía relación entre la edad y la ratio de Pru p 3 se realizó un test Kruskall Wallis. Para comparar las diferentes categorías se realizó un test de comparación entre grupos. Se realizaron curvas ROC para analizar individualmente el poder predictivo de las variables numéricas y los puntos de corte, calculados con el Índice de Youden (punto que maximiza la especificada y 1-sensibilidad). Se consideró un área debajo de la curva (AUC, del inglés “*Area Under the Curve*”) adecuado a partir de 70%.

El análisis estadístico de la validación de la receta se realizó mediante un test binomial exacto con el programa SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) para valorar si la recetas activas y placebo era diferentes, considerando un contraste de proporción de 0.5 y una significación exacta bilateral. Las recetas se consideraban validadas si no se encontraban diferencias estadísticamente significativas entre ellas ($p > 0.05$).

El programa SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) también fue utilizado para llevar a cabo el análisis estadístico de las pruebas de exposición oral con melocotón y el rubbing test con piel de melocotón fresco. Se realizaron tablas de frecuencia para los datos cualitativos mientras que los datos cuantitativos fueron descritos como medianas y rango intercuartílico (RIQ). La relación entre dos variables cualitativas se evaluó mediante tablas de contingencia y para medir su significación estadística, el estadístico Chi-cuadrado. Para analizar variables de distribución no normal se usaron pruebas no paramétricas (Kruskall-Wallis y U-Mann Whitney). Un valor de $p \leq 0.05$ era considerado estadísticamente significativo.

6.1. Análisis estadístico de fenotipos

Con las tablas de frecuencia se realizaron análisis de agrupaciones (“clúster”) que permitieran identificar características comunes de los diferentes fenotipos. También se utilizaron, árboles de clasificación o bosques aleatorios (“random forest”) para ayudar a la categorización de las variables. Con el objetivo de evaluar si las diferentes variables clínicas y de laboratorio se podían agrupar en “clústers” diferenciando fenotipos, se llevó a cabo un análisis estadístico específico basado en análisis de conglomerados. Una vez obtenidas las correspondientes matrices de distancias se ha procedido a estimar los grupos a partir del método PAM (Partición Alrededor de Medoids).

Existe una variedad de métricas para ayudar a elegir la cantidad de grupos que se extraerán en un análisis de conglomerados. En este caso se ha usado el ancho de silueta, una métrica de validación interna que es una medida agregada de cuán similar es una observación a su propio conglomerado en comparación con su conglomerado vecino más cercano. La métrica puede variar de -1 a 1, donde los valores más altos son mejores.

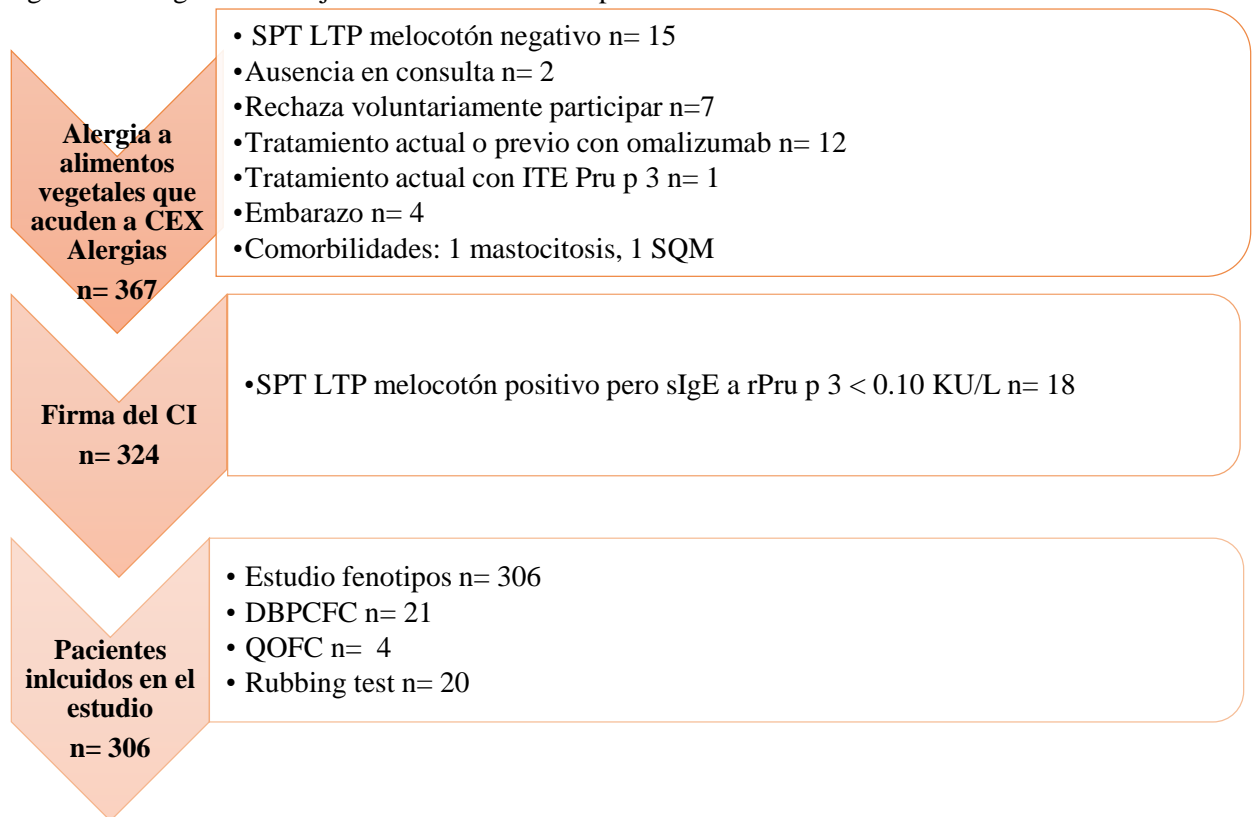
RESULTADOS

1. Población del estudio

1.1 Diagrama de reclutamiento

De los 367 pacientes con alergia a alimentos vegetales que acudieron a las consultas externas de alergia entre el 2 de julio de 2016 y 30 de junio de 2017, se incluyeron 324 pacientes; los 47 restantes fueron excluidos por no cumplir los criterios de inclusión o cumplir algún criterio de exclusión. El diagrama de flujo del reclutamiento de los pacientes en el estudio se detalla en la figura 14. De los 324 pacientes que firmaron el consentimiento informado, 18 fueron excluidos del estudio por presentar SPT positivo a LTP pero IgE específica a rPru p 3 menor de 0.10kU/L. Finalmente se incluyeron un total de 306 pacientes que fueron analizados en su totalidad para el estudio de fenotipos, de los cuales se seleccionó un subgrupo de 25 pacientes para la realización de pruebas exposición oral con melocotón y “rubbing test” con piel de melocotón cuyos resultados se exponen en una sección aparte.

Figura 14. Diagrama de flujo del reclutamiento de pacientes en el estudio.



Abreviaciones: CEX: consultas externas; SPT: pruebas cutáneas intraepidérmicas, ITE: inmunoterapia específica a Pru p 3; SQM: sensibilidad química múltiple; CI: consentimiento informado; DBPCFC: provocación oral doble ciego controlada con placebo a melocotón; QOFC: Cuasi-provocación oral abierta.

1.2 Características generales de la población de estudio

Las características demográficas, analíticas y clínicas de los 306 pacientes incluidos en el estudio se muestran en la tabla 10. La mediana de edad fue de 38.4 años (RIQ 27.9- 45.1 años), con un predominio de mujeres (62.4%) frente a hombres (37.6%). El 80% de los pacientes presentaban otras enfermedades atópicas siendo la más frecuente rinoconjuntivitis (80.4%), seguida de asma bronquial (25.5%) y dermatitis atópica (9.80%). Hasta un 90% de los pacientes presentaban de forma concomitante sensibilización a neumoalérgenos, y la mayoría (73.2%) estaban polisensibilizados. Los neumoalérgenos más frecuentemente detectados fueron el polen de plátano de sombra (57.8%), los ácaros del polvo doméstico (52.9%), el polen de artemisia (40.2%), el polen de olivo (37.6%), los epitelios de perro y gato (36.3%), el polen de gramíneas (35%), el polen de parietaria (25.8%), las esporas de hongos (12.4%) y el polen de ciprés (12.1%). La mediana de la pápula del SPT a LTP de melocotón fue de 7mm [RIQ 6.00-9.00] y a melocotón de 6mm [RIQ 5.00-8.00]. La mediana de los valores para IgE total, IgE específica a rPru p 3 y melocotón fueron 132 KU/L [RIQ 54.7-289], 3.29 KU/L [RIQ 1.12 – 8.75] y 2.80 KU/L [RIQ 0.90-6.82], respectivamente. La mediana de las ratios de IgE específica a rPru p 3 y melocotón respecto a IgE total fueron 2.59 [RIQ 0.93 – 6.80] y 0.86 [RIQ 0.71-1.00] respectivamente.

Tabla 10. Características demográficas, clínicas y analíticas de la población del estudio.

	N = 306 (%)
Edad	38.04 años [RIQ 27.9 – 45.1]
Género	
Mujer	191 (62.4%)
Varón	115(37.5%)
Atopia	251 (79.9%)
Rinoconjuntivitis	246 (80.4%)
Asma bronquial	78 (25.5%)
Dermatitis atópica	30 (9.80%)
Sensibilización a neumoaérgenos	
No	29 (9.48%)
Monosensibilizados	53 (17.3%)
Polisensibilizados	224 (73.2%)
Ácaros	162 (52.9%)
Hongos	38 (12.4%)
Epitelios	111 (36.3%)
Plátano de sombra	177 (57.8%)
Artemisia	123 (40.2%)
Olivo	115 (37.6%)
Gramíneas	107 (35.0%)
Parietaria	79 (25.8%)
Ciprés	37 (12.1%)
SPT LTP	7mm [RIQ 6.00-9.00]
SPT melocotón	6mm [RIQ 5.00-8.00]
IgE total	132 KU/L [RIQ 54.7-289]
sIgE rPru p 3	3.29 kU _A /l [RIQ 1.12 – 8.75]
sIgE melocotón	2.80 KU _A /L [RIQ 0.90-6.82]
Ratio sIgE rPru p 3/IgE total	2.59 [RIQ 0.93 – 6.80]
Ratio sIgE melocotón/IgE total	0.86 [RIQ 0.71-1.00]
Fenotipo (clínica más grave)	
Asintomáticos	13 (4.25%)
Síndrome LTP	258 (84.3%)
Anafilaxia	192 (62.7%)
Clínica leve	100 (32.7%)
CEFA	91 (29.7%)
GI	80 (26.1%)
Tolerancia a melocotón	
No	162 (53.8%)
Sí	51 (16.9%)
UC piel, tolera pulpa	40 (13.3%)
UC piel, evita pulpa	18 (5.98%)
SAO piel, tolera pulpa	11 (3.65%)
Evita	16 (5.32%)
Tolera en almíbar	1 (0.33%)
Tolera sin cofactor	1 (0.33%)
Desconocido	1 (0.33%)

Abreviaciones: CEFA: alergia alimentaria potenciada por cofactor; mm: milímetros; GI: clínica gastrointestinal; RIQ: rango intercuartílico; SAO: síndrome de alergia oral. SPT: pruebas cutáneas; sIgE: IgE específica; SLTP: síndrome LTP; UC: urticaria de contacto.

2. Descripción de los alimentos implicados

En la tabla 11 se muestra el número de pacientes que había presentado clínica con cada uno de los alimentos ordenados de mayor a menor frecuencia, así como el porcentaje sobre la población total (n=306). Sin tener en cuenta la gravedad de la reacción, los alimentos más frecuentemente implicados en las reacciones fueron el melocotón (75.2%), la nuez (52.3%), el cacahuete (46.7%), la avellana (36.9%), la manzana (34.6%), el melón (33%), la lechuga (30.4%) y la almendra (25.8%). El desglose de los alimentos implicados según la gravedad de la reacción alérgica se muestra en la tabla 12. El melocotón fue el alimento que con más frecuencia desencadenó UC (68/218) y UA/AE (33/246). Sin embargo, la nuez fue el alimento más frecuentemente implicado en el SAO (92/1116) y la ANF/shock ANF (37/327). La lechuga fue el alimento que con más frecuencia desencadenó clínica GI (27/231). Los alimentos más evitados por los pacientes sin que hubieran presentado clínica previa fueron las frutas rosáceas: paraguayo (141/1135), nectarina (118/1135) y albaricoque (93/1135).

Tabla 11. Frecuencia de los alimentos incluidos en el estudio implicados en la clínica alérgica ordenados de mayor a menor frecuencia.

Alimento	Clínica	No clínica
Melocotón	230 (75.2%)	76 (24.8%)
Nuez	160 (52.3%)	146 (47.7%)
Cacahuete	143 (46.7%)	163 (53.3%)
Avellana	113 (36.9%)	113 (36.9%)
Manzana	106 (34.6%)	200 (65.4%)
Melón	101 (33.0%)	205 (67.0%)
Lechuga	93 (30.4%)	213 (69.6%)
Almendra	79 (25.8%)	227 (74.2%)
Kiwi	70 (22.9%)	236 (77.1%)
Pipas	70 (22.9%)	236 (77.1%)
Uva	70 (22.9%)	236 (77.1%)
Piña	65 (21.2%)	241 (78.8%)
Berenjena	63 (20.6%)	243 (79.4%)
Ciruela	62 (20.3%)	244 (79.7%)
Castaña	62 (20.3%)	244 (79.7%)
Tomate	61 (19.9%)	245 (80.1%)
Mostaza	54 (17.6%)	252 (82.4%)
Albaricoque	58 (19.0%)	248 (81%)
Cereza	52 (17.0%)	254 (83%)
Higos	48 (15.7%)	258 (84.3%)
Nectarina	46 (15.0%)	260 (85.0%)
Lenteja	39 (12.7%)	267 (87.3%)
Plátano	39 (12.7%)	267 (87.3%)
Pera	35 (11.4%)	271 (88.6%)
Paraguayo	33 (10.8%)	273 (89.2%)
Altramuz	33 (10.8%)	273 (89.2%)
Fresa	33 (10.8%)	273 (89.2%)
Granada	31 (10.1%)	275 (89.9%)
Judía verde	30 (9.80%)	276 (90.2%)
Níspero	30 (9.80%)	276 (90.2%)
Alcachofa	23 (7.52%)	283 (92.5%)
Trigo	22 (7.19%)	284 (92.8%)
Guisante	19 (6.21%)	287 (93.8%)
Calabacín	19 (6.21%)	287 (93.8%)
Mango	18 (5.88%)	288 (94.1%)
Espinaca	14 (4.58%)	292 (95.4)
Frambuesa	14 (4.58%)	292 (95.4)
Espárrago	12 (3.92%)	294 (96.1%)
Apio	8 (2.61%)	298 (97.4%)
Hinojo	3 (0.98%)	303 (99.0%)

Tabla 12. Desglose de los alimentos implicados según la gravedad de la reacción.

Alimento	UC, tolera	SAO	Clínica GI	UA/AE	ANF/Shock ANF	Evita	Nunca ha comido el
Melocotón	68 (27.2%)	83 (32.2%)	7 (2.80%)	33 (13.2%)	31 (12.4%)	21 (8.40%)	7 (2.80%)
Nuez	0 (0.00%)	92 (46.0%)	1 (0.50%)	26 (13.0%)	37 (18.5%)	44 (22.0%)	0 (0.00%)
Cacahuete	0 (0.00%)	79 (42.0%)	3 (1.60%)	24 (12.80%)	33 (17.6%)	49 (26.1%)	0 (0.00%)
Avellana	0 (0.00%)	66 (38.4%)	3 (1.74%)	13 (7.56%)	28 (16.3%)	62 (36.0%)	0 (0.00%)
Manzana	25 (25.8%)	21 (21.6%)	15 (15.5%)	7 (7.22%)	23 (23.7%)	6 (6.19%)	0 (0.00%)
Melón	15 (14.2%)	60 (56.6%)	9 (8.49%)	12 (11.3%)	5 (4.72%)	5 (4.72%)	0 (0.00%)
Lechuga	0 (0.00%)	26 (35.1%)	27 (36.5%)	6 (8.11%)	10 (13.5%)	4 (5.41%)	1 (1.35%)
Almendra	4 (3.12%)	35 (27.3%)	6 (4.69%)	13 (10.2%)	21 (16.4%)	49 (38.3%)	0 (0.00%)
Kiwi	10 (12.2%)	43 (52.4%)	5 (6.10%)	5 (6.10%)	6 (7.32%)	13 (15.9%)	0 (0.00%)
Pipas	0 (0.00%)	37 (36.3%)	4 (3.92%)	7 (6.86%)	16 (15.7%)	38 (37.3%)	0 (0.00%)
Uva	10 (13.0%)	34 (44.2%)	5 (6.49%)	9 (11.7%)	7 (9.09%)	12 (15.6%)	0 (0.00%)
Piña	0 (0.00%)	51 (70.8%)	6 (8.33%)	4 (5.56%)	3 (4.17%)	8 (11.1%)	0 (0.00%)
Berenjena	6 (8.96%)	50 (74.6%)	5 (7.46%)	1 (1.49%)	1 (1.49%)	3 (4.48%)	1 (1.49%)
Ciruela	5 (4.63%)	33 (30.6%)	6 5.56(%)	8 (7.41%)	9 (8.33%)	43 (39.8%)	4 (3.70%)
Castaña	4 (3.54%)	33 (29.2%)	7 (6.19%)	4 (3.54%)	13 (11.5%)	52 (46.0%)	0 (0.00%)
Tomate	16 (30.2%)	18 34.0(%)	9 (17.0%)	5 (9.43%)	3 (5.66%)	2 (3.77%)	0 (0.00%)
Mostaza	0 (0.00%)	34 (44.7%)	4 (5.26%)	4 (5.26%)	10 (13.2%)	20 (26.3%)	4 (5.26%)
Albaricoque	8 (5.30%)	28 (18.5%)	4 (2.65%)	9 (5.96%)	5 (3.31%)	93 (61.6%)	4 (2.65%)
Cereza	0 (0.00%)	29 (39.2%)	3 (4.05%)	8 (10.8%)	6 (8.11%)	27 (36.5%)	1 (1.35%)
Higos	7 (7.22%)	32 (33.0%)	2 (2.06%)	4 (4.12%)	3 (3.09%)	41 (42.3%)	8 (8.25%)
Nectarina	5 (2.94%)	22 (12.9%)	0 (0.00%)	7 (4.12%)	11 (6.47%)	118 (69.4%)	7 (4.12%)
Lenteja	0 (0.00%)	11 (27.5%)	21 (52.5%)	1 (2.50%)	3 (7.50%)	4 (10.0%)	0 (0.00%)
Plátano	0 (0.00%)	17 (38.6%)	11 (25.0%)	4 (9.09%)	7 (15.9%)	4 (9.09%)	1 (2.27%)
Pera	11 (21.6%)	17 (33.3%)	3 (5.88%)	2 (3.92%)	1 (1.96%)	16 (31.4%)	1 (1.96%)
Paraguayo	7 (3.74%)	16 (8.56%)	1 (0.53%)	3 (1.60%)	6 (3.21%)	141 (75.4%)	13 (6.95%)

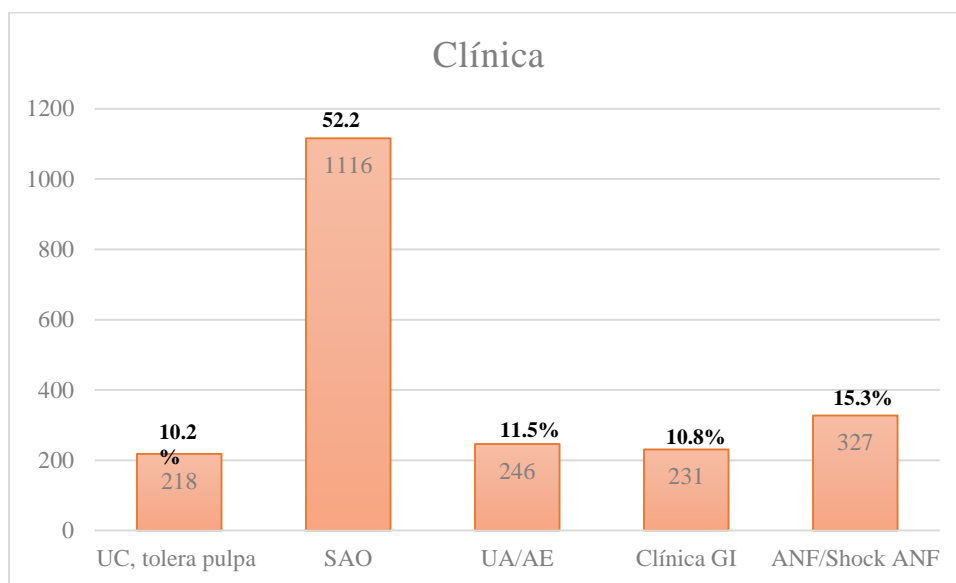
Resultados

Altramuz	0 (0.00%)	25 (34.2%)	5 (6.85%)	1 (1.37%)	1 (1.37%)	20 (27.4%)	21 (28.8%)
Fresa	0 (0.00%)	20 (40.8%)	2 (4.08%)	4 (8.16%)	4 (8.16%)	19 (38.8%)	0 (0.00%)
Granada	0 (0.00%)	20 (28.6%)	3 (4.29%)	3 (4.29%)	4 (5.71%)	34 (48.6%)	6 (8.57%)
Judía Verde	4 (10.8%)	10 (27.0%)	7 (18.9%)	3 (8.11%)	3 (8.11%)	9 (24.3%)	1 (2.70%)
Níspero	2 (2.02%)	18 (18.2%)	2 (2.02%)	5 (5.05%)	2 (2.02%)	66 (66.7%)	4 (4.04%)
Alcachofa	0 (0.00%)	9 (29.0%)	9 (29%)	0 (0.00%)	4 (12.9%)	6 (19.4%)	3 (9.68%)
Trigo	1 (6.67%)	0 (0.00%)	11(73.3%)	1 (6.67%)	2 (13.3%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Guisante	0 (0.00%)	8 (32.0%)	5 (20.0%)	2 (8.00%)	3 (12.0%)	7 (28.0%)	0 (0.00%)
Calabacín	10 (43.5%)	4 (17.4%)	3 (13.0%)	0 (0.00%)	1 (4.35%)	2 (8.70%)	3 (13.0%)
Mango	0 (0.00%)	13 (15.9%)	0 (0.00%)	2 (2.44%)	3 (3.66%)	44 (53.7%)	20 (24.4%)
Espinaca	0 (0.00%)	4 (19.0%)	6 (28.6%)	2 (9.52%)	0 (0.00%)	7 (33.3%)	2 (9.52%)
Frambuesa	0 (0.00%)	8 (15.1%)	4 (7.55%)	1 (1.89%)	0 (0.00%)	34 (64.2%)	6 (11.3%)
Espárrago	0 (0.00%)	4 (19.9%)	3 (14.3%)	2 (9.52%)	2 (9.52%)	4 (19.0%)	6 (28.6%)
Apio	0 (0.00%)	4 (26.7%)	3 (20.0 %)	1 (6.67%)	0 (0.00%)	5 (33.3%)	2 (13.3%)
Hinojo	0 (0.00%)	2 (6.90%)	1 (3.45%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	3 (10.3%)	23 (79.3%)

3. Clínica

El análisis global de las 2138 reacciones alérgicas presentadas tras la ingesta de los alimentos vegetales incluidos en el estudio revela que la clínica más frecuentemente presentada fue el SAO (52.2%) (Figura 15).

Figura 15. Frecuencia de la clínica según la gravedad presentada con cualquier alimento vegetal incluido en el estudio.



3.1 Fenotipo clínico en función de la reacción más grave presentada con cualquier alimento vegetal

En cuanto al fenotipo clínico presentado, 13 de los pacientes (4.25%) presentaron una sensibilización asintomática a LTP. Las manifestaciones clínicas más frecuentes, teniendo en cuenta la reacción más grave presentada con cualquier alimento vegetal, fueron la anafilaxia (62.7%), seguida de clínica leve (32.7%) que incluía urticaria de contacto, SAO, urticaria y angioedema. La alergia a alimentos potenciada por cofactor (CEFA) ocurrió en el 29.7% de los pacientes y la clínica gastrointestinal en el 26.1%. Cabe destacar que prácticamente el 90% de los pacientes presentaban un fenotipo mixto con dos o más manifestaciones clínicas de diferente grado de gravedad.

Un 84.3% de los pacientes presentaba clínica con dos o más grupos de alimentos vegetales taxonómicamente distantes y por tanto fueron diagnosticados de síndrome LTP (SLTP). Respecto a la tolerancia a melocotón en el momento del estudio, un 13.3% de los pacientes

toleraban la pulpa, aunque referían urticaria de contacto con la piel del melocotón, el 19.6% toleraban piel y pulpa, mientras que la mitad de los pacientes (53.8%) referían no tolerar el melocotón en el momento del estudio.

La gravedad de la clínica presentada con la primera reacción por un alimento vegetal se correlacionó de forma estadísticamente significativa ($p < 0.001$) con la gravedad de la clínica más grave presentada en el momento del estudio (tabla 13). De forma que los pacientes que debutaron con clínica leve (UC y SAO) presentaron en el momento del estudio clínica leve, los que debutaron con UA/AE y clínica GI presentaron clínica moderada y todos los pacientes que iniciaron su alergia por alimentos vegetales con una reacción anafiláctica o shock anafiláctico presentaban un fenotipo grave en el momento del estudio.

Tabla 13. Correlación de la gravedad de la clínica de la primera reacción con cualquier alimento vegetal y la clínica más grave presentada en el momento del estudio con cualquier alimento vegetal.

Primera reacción presentada con alimento vegetal	Clínica Leve n=172	Clínica Moderada n=56	Clínica Grave n=65	2*p.overall
UC, tolera pulpa	99 (57.6%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	*<0.001
SAO	73 (42.4%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	
UA/AE	0 (0.00%)	48 (85.7%)	0 (0.00%)	
Clínica GI	0 (0.00%)	8 (14.3%)	0 (0.00%)	
ANF/Shock ANF	0 (0.00%)	0 (0.00%)	65 (100%)	

3.2 Alergia alimentaria potenciada por cofactor (CEFA)

Los cofactores estuvieron presentes en 165 de las reacciones alérgicas (CEFA), siendo la presentación clínica más frecuente la anafilaxia (76.4%) y el ejercicio el cofactor más frecuentemente implicado (figuras 16 y 17). Los alimentos con más frecuencia implicados en las reacciones potenciadas por cofactor fueron la lechuga (20.6%), la manzana (10.9%), el tomate (7.3%) y la nuez (6.7%). En la figura 18 se muestra el desglose de alimentos implicados en las reacciones potenciadas por cofactor según la gravedad de la clínica. Los alimentos que con más frecuencia desencadenaron una anafilaxia o un shock anafiláctico fueron la lechuga (29/126, 23.1%) y la manzana (14/126, 11.1%) que a su vez fueron los más frecuentemente implicados en las reacciones con UA/AE (ambos alimentos presentes en 4/36 reacciones). En la figura 19 se muestra el desglose de alimentos implicados en las reacciones potenciadas por cofactor según el cofactor implicado. Cuando el ejercicio era el cofactor implicado en la reacción CEFA, no era el trigo si no las frutas y los frutos secos los alimentos que con más frecuencia desencadenaban la reacción.

Figura 16. Manifestaciones clínicas en presencia de cofactores (CEFA).

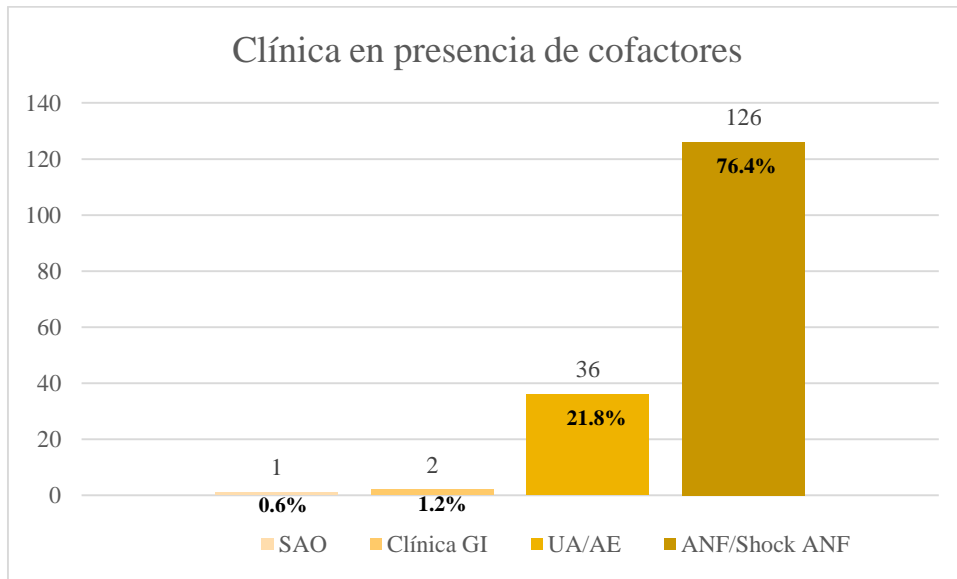


Figura 17. Cofactores implicados.

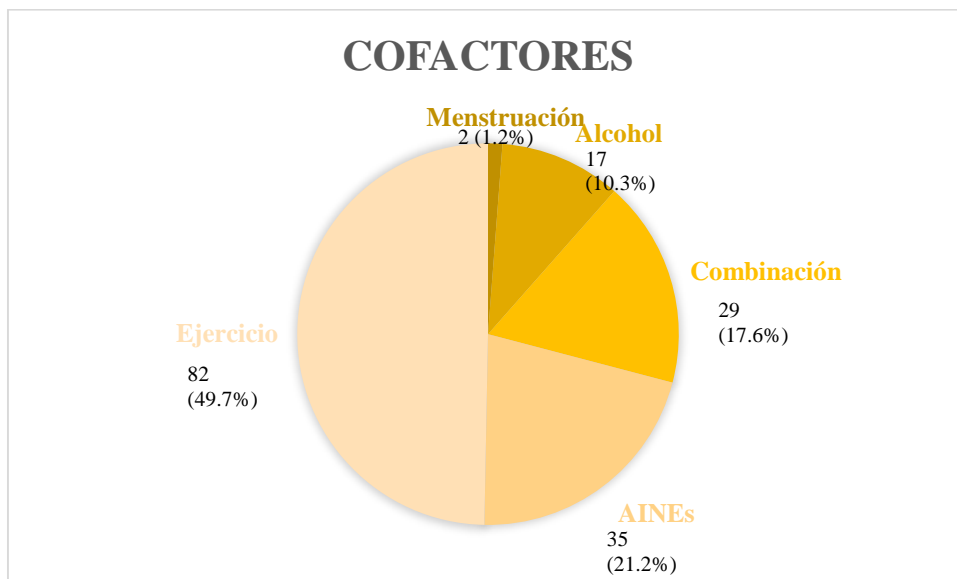


Figura 18. Desglose de alimentos implicados en las reacciones potenciadas por cofactor según la gravedad de la clínica.

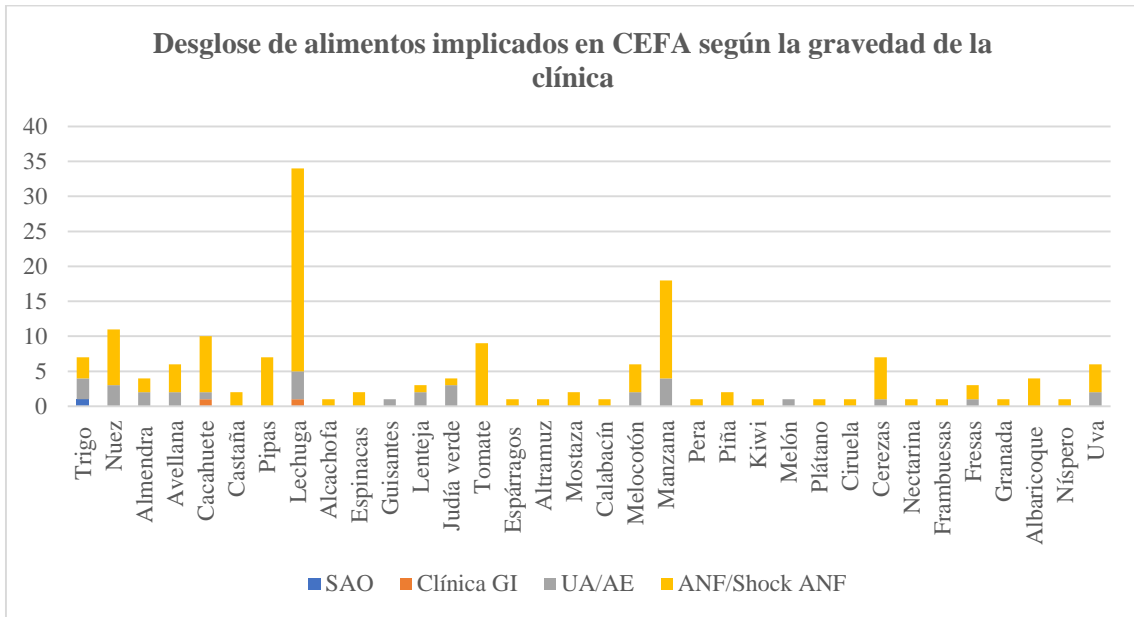
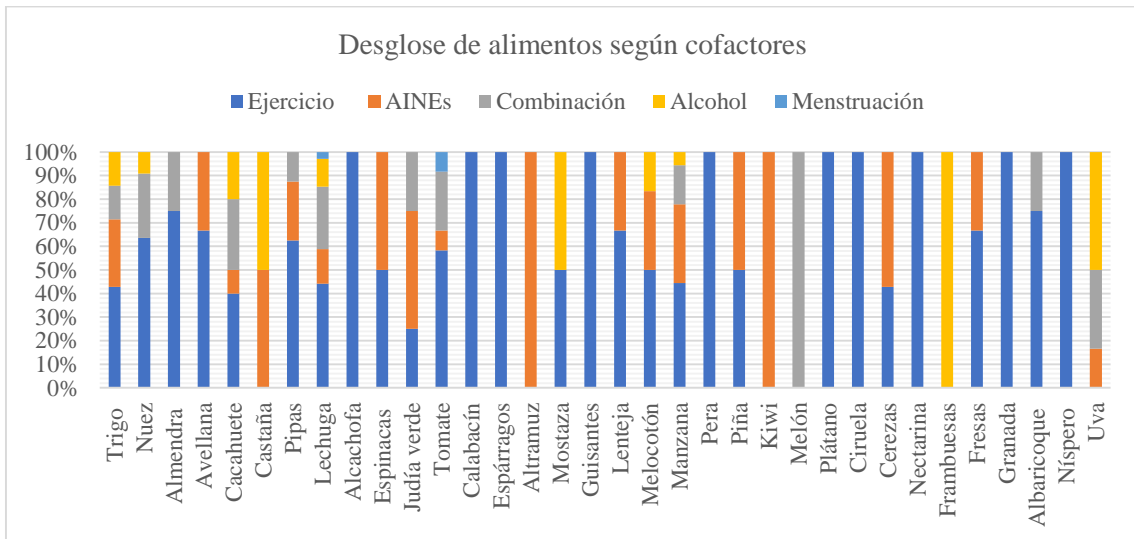


Figura 19. Desglose de alimentos implicados en las reacciones potenciadas por cofactor según el cofactor implicado.



3.3 Análisis comparativo de la forma de presentación del SLTP en función del alimento responsable de la primera reacción alérgica

Con el objetivo de valorar si existían diferencias en cuanto a las características clínicas de presentación del SLTP en función de alimento responsable de la primera reacción, se realizó un análisis de la población del estudio excluyendo los individuos asintomáticos, según si el alimento responsable de la primera reacción alérgica por alimento vegetal había sido el melocotón (grupo “melocotón” en tabla 14) o cualquier otro alimento vegetal (grupo “otros” en tabla 14).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad y el género de ambos grupos, aunque en el caso de las mujeres era más frecuente que presentaran la primera reacción con el melocotón (61.8%), mientras que los hombres presentaban una proporción similar de primera reacción con otros alimentos vegetales. En cuanto a la presencia de atopia, los pacientes que habían presentado la primera reacción con un alimento vegetal distinto del melocotón presentaban de forma estadísticamente significativa mayor frecuencia de asma bronquial (56.2%, $p=0.015$).

De forma global, la primera reacción con un alimento vegetal se había producido con más frecuencia en la infancia (menores de 12 años), con un patrón diferente en función del alimento implicado. La primera reacción con melocotón ocurría con más frecuencia en la infancia (71.2%) y en la adolescencia (55.9%) y en menor proporción en la edad adulta (32.9%). Sin embargo, cuando la alergia por alimentos vegetales debutaba en la edad adulta, en la mayoría de los casos (67.1%) el alimento responsable no era el melocotón. Estas diferencias entre ambos grupos resultaron ser estadísticamente significativas ($p<0.01$). En definitiva, los alimentos responsables del inicio de la alergia a alimentos vegetales siguen un patrón inverso, conforme avanza la edad de presentación de la alergia alimentaria es menos frecuente que el melocotón sea el responsable, mientras que la probabilidad aumenta con el resto de alimentos vegetales.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en cuanto a los valores de pápula y eritema del SPT con extracto de LTP de melocotón y melocotón ni en los valores de IgE total sérica. Sin embargo, el grupo de pacientes que había debutado con alergia a un alimento vegetal distinto al melocotón presentaba valores de IgE específica sérica a rPru p 3 y a melocotón casi del doble respecto al grupo de pacientes que había debutado con síntomas con melocotón, de forma estadísticamente significativa.

La gravedad de las reacciones alérgicas con alimentos estaba relacionada de forma significativa con el alimento implicado en la primera reacción alérgica ($p=0.02$). Se pudieron identificar dos patrones diferenciales respecto a la clínica presentada en la primera reacción

dependiendo del alimento implicado. Las reacciones locales predominaron de forma significativa en el grupo cuya primera reacción fue con melocotón (74.3%) respecto al grupo con cualquier alimento vegetal (27.7%) donde predominaron las reacciones sistémicas (69%).

Si la primera reacción ocurrió con melocotón, la manifestación clínica más frecuente es de carácter leve, como UC o SAO (76%), seguido de clínica moderada (UA/AE o clínica GI) en el 37.5% de los casos y menos frecuentemente (26%) síntomas graves (anafilaxia). Por el contrario, si la alergia alimentaria debutó con un alimento vegetal distinto al melocotón, lo más frecuente es que se manifestara con clínica grave (73.8%), seguida de clínica moderada (62.5%) y con menos frecuencia clínica leve (24%). Los cofactores estuvieron presentes en un escaso porcentaje en la primera reacción presentada por los pacientes del estudio (7.9%), siendo más frecuentes en las reacciones en las que no estaba implicado el melocotón de forma estadísticamente significativa ($p < 0.01$). Los cofactores más frecuentemente implicados en este grupo de pacientes fueron el ejercicio, los AINEs, el alcohol y la menstruación.

El hecho de que la primera reacción fuera con melocotón o con cualquier alimento vegetal distinto al melocotón no se relacionaba con el fenotipo de los pacientes definido como la reacción más grave con cualquier alimento en el momento de realizar la entrevista del estudio, excepto en el caso del fenotipo CEFA ($p=0.029$) que fue más frecuente en el grupo de pacientes que debutaban con un alimento vegetal distinto al melocotón.

Tabla 14. Comparación de las características demográficas, clínicas y analíticas de la población según el primer alimento vegetal con el que presentó clínica.

	Total N = 292	Melocotón N = 168	Otro N= 124	Test	Valor p ajustado	
Edad (años)	38.1 [28.1-44.9]	39.3 [29.7 – 45.8]	36.8 [26.9-43.8]	U Mann-Whitney	0.137	
Género						
Mujer	186 (63.7%)	115 (61.8%)	71 (38.2%)	Chi-cuadrado	0.102	
Varón	106 (38.3%)	53 (50.0%)	53 (50.0%)			
Atopia						
Rinoconjuntivitis	232 (79.5%)	127 (54.7%)	105 (45.3%)	Chi-cuadrado	0.108	
Asma bronquial	73 (25.0%)	32 (43.8%)	41 (56.2%)		*0.015	
Dermatitis atópica	30 (10.3%)	17 (56.7%)	13 (43.3%)		0.96	
Sensibilización a neumoalérgenos (SPT, mm)						
No	28 (9.59%)	22 (78.6%)	6 (21.4%)	Chi-cuadrado	0.013	
Monosensibilizados	52 (17.8%)	36 (69.2%)	16 (30.8%)			
Polisensibilizados	212 (72.6%)	110 (51.9%)	102 (48.1%)			
Ácaros	152 (52.1%)	83 (54.6%)	69 (45.4%)	Exacto de Fisher	0.639	
Hongos	35 (12.0%)	15 (42.9%)	20 (57.1%)		0.293	
Epitelios	104 (35.6%)	54 (51.9%)	50 (48.1%)		0.475	
Plátano de sombra	168 (57.5%)	87 (51.8%)	81 (48.2%)		0.107	
Artemisia	114 (39.0%)	55 (48.2%)	59 (51.8%)		0.068	
Olivo	109 (37.3%)	58 (53.2%)	51 (46.8%)		0.636	
Gramíneas	98 (33.6%)	53 (54.1%)	45 (45.9)		0.87	
Parietaria	74 (25.3%)	38 (51.4%)	36 (48.6)		0.573	
Ciprés	34 (11.6%)	13 (38.2%)	21 (61.8)		0.102	
Edad primera reacción (años)						
Infancia (<12)	153 (52.4%)	109 (71.2%)	44 (28.8%)		Exacto de Fisher	*<0.01
Adolescencia (12-17)	59 (20.2%)	33 (55.9%)	26 (44.1%)			
Adulto (≥ 18)	79 (27.1%)	26 (32.9%)	53 (67.1%)			
SPT LTP (mm)	7.00 [6.00-9.00]	7.00 [6.00-9.00]	7.00 [6.00-9.00]	U Mann-Whitney	0.108	
SPT melocotón (mm)	6.00 [5.00-8.00]	6.00 [5.00-8.00]	6.00 [5.00-8.00]	U Mann-Whitney	0.893	
IgE total (KU/L)	130 [50.3-285]	105 [40.2-250]	164 [58.5-304]	U Mann-Whitney	0.015	
sIgE Pru p 3 (KU/L)	3.34 [1.15-8.70]	2.37 [0.82-6.45]	4.64 [2.33-12.8]	U Mann-Whitney	*<0.01	

sIgE melocotón (KU/L)	2.86 [0.94-7.08]	2.20 [0.68-5.44]	4.14 [1.49-9.18]	U Mann-Whitney	*0.003
Clínica primera reacción					
UC, tolera pulpa	98 (33.6%)	91 (92.9%)	7 (7.14%)	Exacto de Fisher	*0.002
SAO	73 (25.0%)	39 (53.4%)	34 (46.6%)		
UA/AE	48 (16.4%)	18 (37.5%)	30 (62.5%)		
Clínica GI	8 (2.74%)	3 (37.5%)	5 (62.5%)		
Anafilaxia	65 (22.3%)	17 (26.2%)	48 (73.8%)		
CEFA	23 (7.9%)	3 (1.9%)	20 (16.1%)	Exacto de Fisher	*<0.01
Ejercicio	13 (4.45%)	1 (7.69%)	12 (92.3%)		
AINes	5 (1.71%)	2 (40.0%)	3 (60.0%)		
Alcohol	2 (0.68%)	0 (0.00%)	2 (100%)		
Cualquier combinación	2 (0.68%)	2 (100%)	0 (0.00%)		
Menstruación	1 (0.34%)	0 (0.00%)	1 (100%)		
Alimento implicado					
Melocotón	168 (57.5%)	168 (100%)	0 (0.00%)	Exacto de Fisher	*<0.01
Otras frutas rosáceas	18 (6.16%)	0 (0.00%)	18 (100%)		
Otras frutas	19 (6.51%)	0 (0.00%)	19 (100%)		
Frutos secos	64 (21.9%)	0 (0.00%)	64 (100%)		
Ensalada	4 (1.37%)	0 (0.00%)	4 (100%)		
Verduras	7 (2.40%)	0 (0.00%)	7 (100%)		
Cereales	2 (0.68%)	0 (0.00%)	2 (100%)		
Combinación \geq 2 alimentos	4 (1.37%)	0 (0.00%)	4 (100%)		
Otros	2 (0.68%)	0 (0.00%)	2 (100%)		
Desconocido	4 (1.37%)	0 (0.00%)	4 (100%)		
Gravedad de la clínica					
Leve (UC, SAO)	171 (58.6%)	130 (76.0%)	41 (24.0%)	Exacto de Fisher	*<0.01
Moderada (UA/AE, clínica GI o RES)	56 (19.2%)	21 (37.5%)	35 (62.5%)		
Grave (ANF/shock anafiláctico)	65 (22.3%)	17 (26.2%)	48 (73.8%)		
Tipo de clínica					
Local (UC, SAO, clínica GI)	179 (61.3%)	133 (74.3%)	46 (25.7%)	Chi-cuadrado	*<0.01
Sistémica (UA/AE, ANF/shock anafiláctico)	113 (38.7%)	35 (31.0%)	78 (69.0%)		
Fenotipo					
1	27 (9.25%)	16 (59.3%)	11 (40.7%)	Exacto de Fisher	0.907
\geq 2	265 (90.8%)	152 (57.4%)	113 (42.6%)		
Clínica leve	99 (33.9%)	62 (62.6%)	37 (37.4%)	Chi-cuadrado	0.325
Clínica GI	80 (24.7%)	48 (60.0%)	32 (40.0%)		0.743
CEFA	90 (30.8%)	42 (46.7%)	48 (53.3%)		*0.029
Anafilaxia	192 (65.8%)	106 (55.2%)	86 (44.8%)		0.378
SLTP	257 (88.0%)	148 (57.6%)	109 (42.4%)		0.981

Se indica para cada una de las variables el número total de casos (absoluto y por grupo), el tipo de variable, el test utilizado y el p-valor ajustado con el fin de hacer frente a los problemas de comparaciones múltiples derivados de realizar muchos test.

Abreviaciones: AINEs: antiinflamatorios no esteroideos; ANF: anafilaxia; CEFA: alergia alimentaria potenciada por cofactor; Fenotipo: clínica más grave presentada por cualquier alimento vegetal; GI: clínica gastrointestinal; mm: milímetros; RES: clínica respiratoria; RIQ: rango intercuartílico; SAO: síndrome de alergia oral. SPT: pruebas cutáneas; sIgE: IgE específica; SLTP: síndrome LTP; UC: urticaria de contacto.

4. Estudio in vitro

4.1 IgE total e IgE específica a Pru p 3 y extractos completos de alimentos

La mediana de los valores de IgE total e IgE específica a rPru p 3 y melocotón fueron 132 KU/L [RIQ 54.7-289], 3.29 [RIQ 1.12 – 8.75] y 2.80 KU/L [RIQ 0.90-6.82], respectivamente.

En la tabla 15 se detallan los valores de IgE específica (sIgE) para el extracto completo de los alimentos más relevantes implicados en las reacciones alérgicas, expresado en medianas y el rango intercuartílico (RIC). Se indica además el número absoluto (N) de individuos del estudio a los que se les realizó la determinación, teniendo en cuenta que sólo se determinó el valor de IgE específica a un alimento si el/la paciente referían clínica con dicho alimento. Los alimentos con niveles de IgE específica más elevados fueron el melocotón, la pera, la ciruela, la manzana, la nuez, las cerezas, la avellanas y el albaricoque.

Tabla 15. Valores de IgE específica (sIgE) para el extracto completo de los alimentos más relevantes implicados en las reacciones alérgicas.

Alimento	sIgE (RIC)	N
Melocotón	2.82 [0.93;6.82]	230
Manzana	1.98 [0.70;4.30]	98
Fresa	0.44 [0.15;1.29]	24
Uva	1.10 [0.32;2.98]	53
Kiwi	0.37 [0.08;0.98]	58
Melón	0.06 [0.02;0.13]	84
Plátano	0.45 [0.18;1.52]	34
Pera	2.39 [0.91;5.43]	25
Cerezas	1.70 [0.40;5.81]	45
Ciruela	2.26 [0.95;5.21]	46
Albaricoque	1.21 [0.46;3.69]	38
Piña	0.27 [0.06;0.63]	36
Nuez	1.82 [0.55;5.24]	155
Cacahuete	0.78 [0.37;2.56]	136
Avellana	1.32 [0.44;3.89]	102
Almendra	0.43 [0.17;1.23]	70
Pipas	0.72 [0.24;2.06]	60
Castaña	0.64 [0.21;2.36]	44
Lechuga	0.90 [0.30;2.31]	88
Tomate	0.93 [0.30;3.83]	53
Espárragos	1.03 [0.34;2.10]	10
Judía verde	0.68 [0.46;2.57]	26

Espinacas	0.41 [0.09;0.95]	9
Apio	0.13 [0.13;0.13]	1
Lentejas	0.66 [0.21;1.44]	32
Guisantes	0.26 [0.18;1.02]	18
Trigo	0.17 [0.08;0.84]	19
Mostaza	0.31 [0.10;0.65]	51

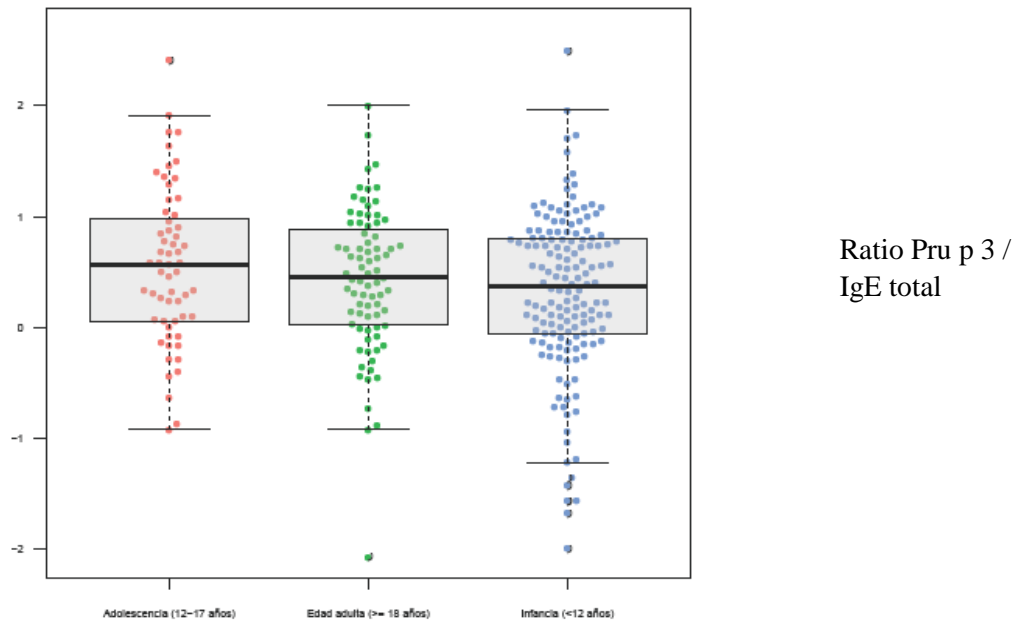
4.2. Ratio IgE específica Pru p 3 / IgE total

La mediana de las ratios de IgE específica a rPru p 3 y extracto completo de melocotón respecto a IgE total (IgE total /sIgE) fueron 2.59 [RIQ 0.93 – 6.80] y 0.86 [RIQ 0.71-1.00] respectivamente (tabla 16). No se encontró una asociación significativa entre la edad de inicio de alergia a alimentos vegetales y la ratio Pru p 3 sobre la IgE total a la edad de inicio de la alergia alimentaria por alimentos vegetales ($p=0.198$) (figura 20).

Tabla 16. Relación de la ratio IgE específica Pru p 3 sobre IgE total y la edad de inicio de la alergia alimentaria por alimentos vegetales.

	Infancia (< 12 años) N = 154	Adolescencia (12-17 años) N = 59	Edad adulta (≥ 18 años) N = 79	P Kruskall- Wallis
Ratio Pru p 3 /IgE Total	2.34 [0.88;6.34]	3.69 [1.15;9.71]	2.82 [1.06;7.61]	0.198

Figura 20. Representación gráfica de la relación entre la ratio Pru p 3 sobre IgE total y la edad de la primera reacción alérgica tras la ingesta de alimentos vegetales.










4.3. IgE específica a alérgenos individuales

4.3.1 Frecuencia de sensibilización a las distintas LTP.

En la tabla 17 se muestran el número de pacientes, en valores absolutos y en porcentaje, que reconocían cada una de las LTPs contenidas en el InmunoCAP ISAC®. Los valores cuantitativos se categorizaron para el análisis comparativo posterior. La LTP de alimentos reconocida con mayor frecuencia por los pacientes fue la LTP del melocotón, Pru p 3 (93.8%), seguida de la nuez (Jug r 3) en un 81.7% de los casos, Ara h 9 de cacahuete en un 77% y Cor a 8 de avellana en 61.8%. Las LTP de polen de plátano de sombra, Pla a 3 y artemisia, Art v 3, fueron reconocidas por el 75.5% y 64.4% de los pacientes respectivamente. La LTP de polen de olivo sólo fue reconocida por el 23.2% de los pacientes del estudio.

Cabe destacar que entre el 10 y el 17% de los pacientes reconocían las distintas LTP con niveles muy bajos de ISU, por debajo de 0.3 ISU que es el punto de corte establecido por el fabricante para ser considerado positivo.

Tabla 17. Frecuencia de sensibilización a las distintas LTP presentes en el InmunoCAP ISAC®.

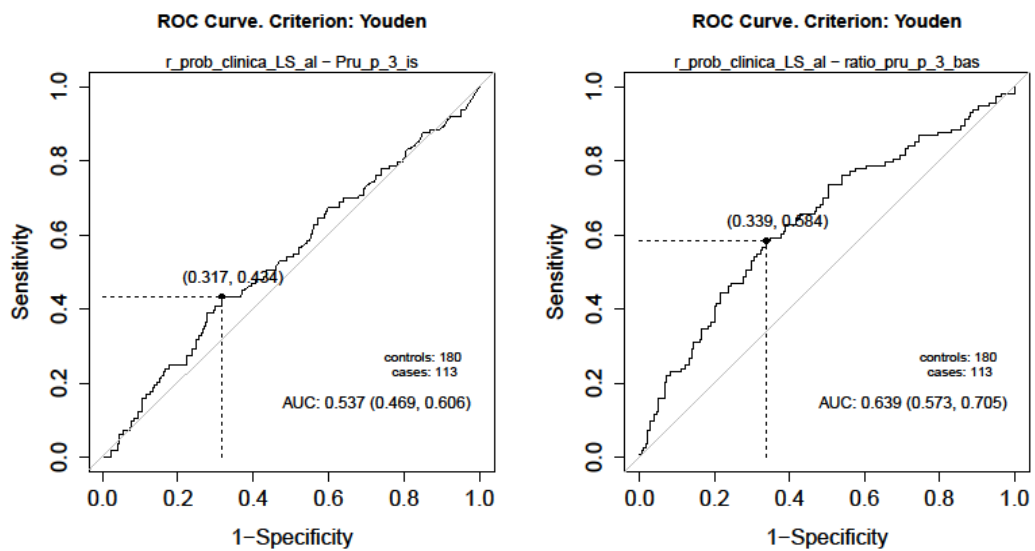
Fuente alérgica	LTP	N= 306 (%)
Melocotón	Prup 3	93.8%
	[0.0, 0.1)	19 (6.21 %)
	[0.1, 0.3)	31 (10.1 %)
	[0.3, 1.0)	82 (26.8 %)
	[1.0,15.0)	163 (53.3 %)
	[15.0,44.0]	11 (3.59 %)
Nuez	Jug r 3	81.7%
	[0.0, 0.1)	56 (18.3 %)
	[0.1, 0.3)	44 (14.4 %)
	[0.3, 1.0)	70 (22.9 %)
	[1.0,15.0)	132 (43.1 %)
	[15.0,49.5]	4 (1.31 %)
Cacahuete	Ara h 9	77%
	[0.0, 0.1)	71 (23.2 %)
	[0.1, 0.3)	52 (17.0 %)
	[0.3, 1.0)	75 (24.5 %)
	[1.0,15.0)	104 (34.0 %)
	[15.0,44.1]	4 (1.31 %)
Polen de <i>Platanus Acerifolia</i>	Pla a 3	75.5%
	[0.0, 0.1)	75 (24.5 %)
	[0.1, 0.3)	46 (15.0 %)
	[0.3, 1.0)	80 (26.1 %)
	[1.0,15.0)	99 (32.4 %)
	[15.0,63.3]	6 (1.96 %)
Polen de <i>Artemisia Vulgaris</i>	Art v 3	64.4%
	[0.0, 0.1)	109 (35.6 %)
	[0.1, 0.3)	48 (15.7 %)
	[0.3, 1.0)	77 (25.2 %)
	[1.0,15.0)	69 (22.5 %)
	[15.0,40.4]	3 (0.98 %)
Avellana	Cor a 8	61.8%
	[0.0, 0.1)	117 (38.2 %)
	[0.1, 0.3)	45 (14.7 %)
	[0.3, 1.0)	69 (22.5 %)
	[1.0,15.0)	73 (23.9 %)
	[15.0,29.2]	2 (0.65 %)
Polen de <i>Olea europea</i>	Ole e 7	23.2%
	[0.0, 0.1)	235 (76.8 %)
	[0.1, 0.3)	30 (9.80 %)
	[0.3, 1.0)	24 (7.84 %)
	[1.0,15.0)	17 (5.56 %)

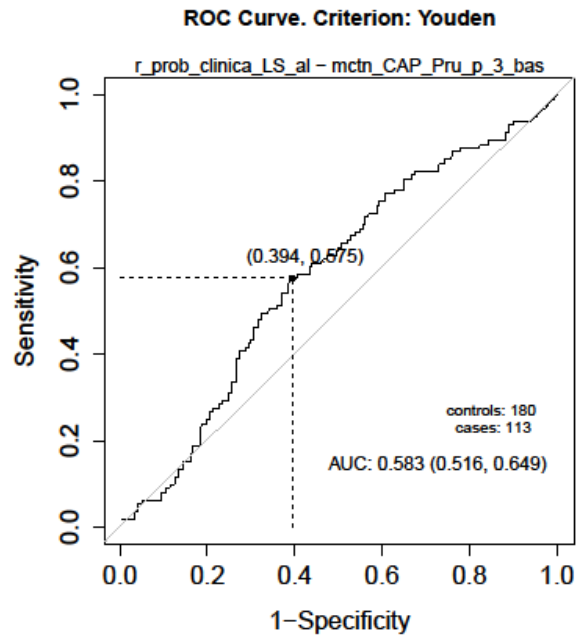
4.3.2 Puntos de corte de IgE específica a Pru p 3 para predecir la gravedad de la reacción

Con el objetivo de valorar si los valores de IgE específica para rPru p 3 permiten discriminar entre aquellos individuos que presentan una clínica leve respecto de los que presentan síntomas graves, se realizaron curvas ROC.

En la figura 21 se muestra la curva ROC con una cruz en el punto de corte óptimo calculado con el Índice de Youden (punto que maximiza la especificidad y 1-sensibilidad). Además, se indica el AUC (área debajo de la curva), considerada adecuada a partir del 70%. No se pudo establecer un punto de corte óptimo por encima de AUC 0.7 para los niveles de Pru p 3 determinados tanto mediante ImmunoCAP (CAP_Pru p 3) como por ImmunoCAP ISAC® (ISAC_Pru p 3) ni para la ratio de Pru p 3 sobre IgE total que permitiera discriminar entre la clínica local (UC, SAO y clínica GI) y sistémica (UA/AE y ANF/Shock ANF).

Figura 21. Curvas ROC.





En la tabla 18 se muestra para cada una de las variables el valor del punto de corte estimado, el coeficiente de concordancia Kappa (entre los valores reales y predichos), el p-valor del test McNemar, la sensibilidad y la especificidad.

Tabla 18. Valor del punto de corte estimado para cada una de las variables.

		Kappa	McNemar p valor	Sensibilidad	Especificidad	AUC
ISAC_Pru p 3	Punto de corte	0.11	0.53	0.68	0.42	0.537 (0.469, 0.606)
Ratio Pru p 3	3.60	0.23	0.25	0.66	0.58	0.639 (0.573, 0.705)
CAP_Pru p 3	3.76	0.17	0.07	0.61	0.57	0.583 (0.516, 0.649)

5. Análisis del perfil de sensibilización molecular en función de los diferentes fenotipos clínicos

Con el objetivo de valorar si el perfil de sensibilización a alérgenos individuales era diferente en función del patrón de presentación clínica, se analizaron los perfiles de sensibilización agrupados por familias de alérgenos.

Así, se consideró que los pacientes estaban sensibilizados a homólogos de Bet v 1 si presentaban valores mayores o iguales a 0.3 ISU para cualquier homólogo Bet v 1 contenido en la micromatriz ISAC® (nBet v 1, rAln g 1, rCor a 1.0101, rCor a 1.0401, rMal d 1, rPru p 1, rGly m 4, rAra h 8, rAct d 8, rApi g), sensibilización a profilinas si presentaban valores mayores o iguales a 0,3 ISU para rBet v 2, rHev b 8, rMer a 1 o rPhl p 12, y sensibilización a taumatinas si los valores de nAct d 2 eran mayores o iguales a 0.3 ISU.

El perfil de sensibilización molecular a LTP se analizó para cada una de las LTPs contenidas en ImmunoCAP ISAC® considerando como positivo un punto de corte mayor o igual a 0.1 ISU.

5.1 Comparación del perfil de sensibilización molecular entre asintomáticos y sintomáticos

Cuando se realizó un análisis comparativo del perfil de sensibilización molecular en pacientes sintomáticos y asintomáticos, sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los valores de Pru p 3, 0.48 ISU [0.26;0.59] en el grupo de pacientes asintomáticos versus 1.30 ISU [0.50;3.40] en los sintomáticos ($p=0.004$). Cuando se categorizaron las LTP en positivas o negativas (<0.1 ISU) también se observaron diferencias en el límite de la significación estadística ($p=0.05$) para Pru p 3, siendo el porcentaje de pacientes asintomáticos más frecuentemente negativo para la LTP de melocotón (23% asintomáticos vs 6% sintomáticos) (tabla 19). La media del número de LTPs positivas fue igual en ambos grupos sin diferencias estadísticamente significativas, aunque en el grupo de asintomáticos el rango inferior fue mucho menor respecto al del grupo de sintomáticos (1 y 4 LTPs positivas, respectivamente). En la figura 22 se muestra una representación gráfica de los resultados. Para las variables categóricas se ha realizado un diagrama de barras donde cada barra indica un grupo y cada color una categoría de la variable clínica a tener en cuenta, el eje vertical indica el porcentaje. Para las variables numéricas se ha realizado un boxplot (diagrama de cajas) teniendo en cuenta cada uno de los grupos.

Figura 22. Representación gráfica del perfil de sensibilización molecular asintomáticos versus sintomáticos.

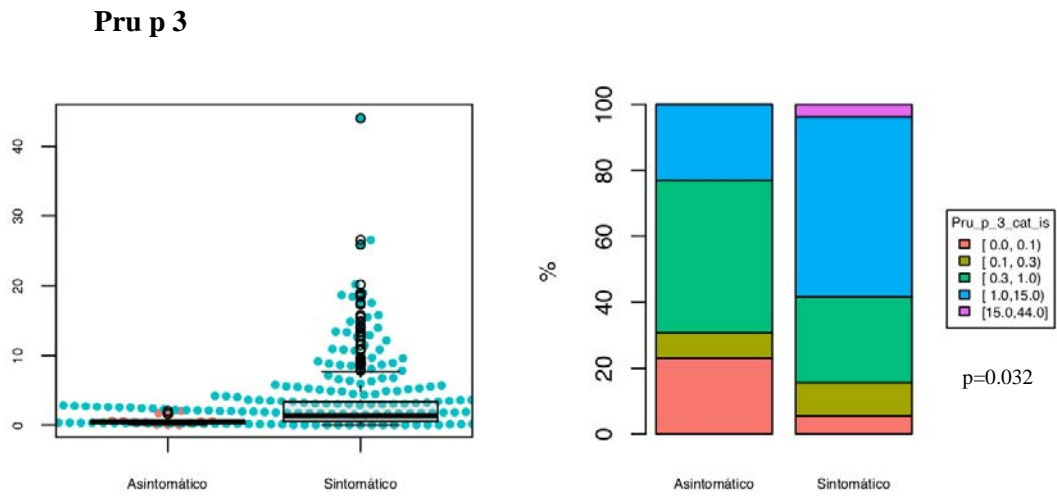


Tabla 19. Comparación del recuento de LTPs positivas entre individuos sintomáticos y asintomáticos.

LTP	Asintomáticos	Sintomáticos	p
Pru p 3			
< 0.1	3 (23.1%)	18 (6.14%)	0.051
≥ 0.1	10 (76.9%)	275 (93.9%)	
Ara h 9			
< 0.1	5 (38.5%)	66 (22.5%)	0.188
≥ 0.1	8 (61.5%)	227 (77.5%)	
Cor a 8			
< 0.1	7 (53.8%)	110 (37.5%)	0.255
≥ 0.1	6 (46.2%)	183 (62.5%)	
Jug r 3			
< 0.1	5 (38.5%)	51 (17.4%)	0.068
≥ 0.1	8 (61.5%)	242 (82.6%)	
Pla a 3			
< 0.1	5 (38.5%)	73 (24.9%)	0.328
≥ 0.1	8 (61.5%)	220 (75.1%)	
Art v 3			
< 0.1	7 (53.8%)	104 (35.5%)	0.238
≥ 0.1	6 (46.2%)	189 (64.5%)	
Ole e 7			
< 0.1	10 (76.9%)	225 (76.8%)	1.000
≥ 0.1	3 (23.1%)	68 (23.2%)	
Nº de LTPs positivas	5.00 [1.00;6.00]	5.00 [4.00;6.00]	0.255

5.2 Comparación del perfil de sensibilización molecular según la gravedad de los síntomas

En la tabla 21 se muestran la mediana de los valores de los alérgenos de alimentos vegetales contenidos en la micromatriz ISAC_112® de los pacientes divididos según la gravedad de la clínica (leve, moderada o grave) así como el porcentaje de pacientes de cada grupo por valores categorizados de cada alérgeno. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los valores de la mediana de Pru p 3, Ara h 9, Jug r 3, Art v 3 y Ole e 7 ni de sus valores categorizados con la gravedad de la clínica.

Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas en los valores de Pla a 3 en función de la gravedad de la clínica, de forma que los individuos con reacciones graves presentaban valores más altos de Pla a 3. Tal como se indica en la tabla 20, la mediana de Pla a 3 fue de 0.85 ISU (0.23;2.48) en los pacientes con clínica grave vs 0.78 ISU (0.22;1.59) en reacciones moderadas y 0.44 ISU (0.00;1.26) en las reacciones leves ($p=0.006$). Esta misma diferencia se observó al analizar los grupos en función de si la clínica era local (Pla a 3 0.46 ISU (0.00;1.32) o sistémica (Pla a 3 0.81 ISU (0.22;2.45); $p 0.005$).

Cabe destacar que en un 10.8%- 18.5% de las reacciones graves tras la ingesta de alimentos vegetales, los valores para las LTPs de alimentos contenidas en la micromatriz ISAC_112® fueron positivos a títulos bajos, en un intervalo de 0.1 a 0.3 ISU (10.8% Pru p 3, 15.4% Cor a 8, 16.9% Jug r 3 y 18.5% en el caso de Ara h 9). En el momento del estudio, la casa que comercializa ImmuoCAP ISAC® sólo consideraba positivos valores por encima de un punto de corte de 0.3 ISU.

La sensibilización de la población de estudio a profilinas, homólogos de Bet v 1 y taumatinas fue globalmente baja, no superando el 10% de los casos. No se pudo establecer ninguna asociación significativa entre la sensibilización a estas familias de alérgenos y la forma de presentación clínica de la alergia a alimentos vegetales.

Tabla 20. Perfil de reconocimiento molecular según la gravedad de la clínica.

	Clínica Leve n=172	Clínica Moderada n=56	Clínica Grave n=65	2*p.overall
Pru p 3	1.27 [0.44;3.09]	1.64 [0.55;3.20]	1.35 [0.55;4.52]	0.588
[0.0, 0.1)	9 (5.23%)	3 (5.36%)	4 (6.15%)	0.896
[0.1, 0.3)	19 (11%)	4 (7.14%)	7 (10.8%)	
[0.3, 1.0)	46 (26.7%)	15 (26.8%)	15 (23.1%)	
[1.0,15.0)	92 (53.5%)	30 (53.6%)	38 (58.5%)	
[15.0,44.0]	6 (3.49%)	4 (7.14%)	1 (1.54 %)	
< 0.1	9 (5.23%)	5 (8.93%)	4 (6.15%)	0.559
≥ 0.1	163 (94.8%)	51 (91.1%)	61 (93.8%)	
Ara h 9	0.40 [0.00;1.69]	0.78 [0.24;2.06]	0.89 [0.16;2.32]	0.101
[0.0, 0.1)	45 (26.2%)	10 (17.9%)	11 (16.9%)	0.486
[0.1, 0.3)	30 (17.4%)	7 (12.5%)	12 (18.5%)	
[0.3, 1.0)	42 (24.4%)	16 (28.6%)	14 (21.5%)	
[1.0,15.0)	52 (30.2%)	22 (39.3%)	28 (43.1%)	
[15.0,44.1]	3 (1.74%)	1 (1.79%)	0 (0.00%)	
< 0.1	45 (26.2%)	10 (17.9%)	11 (16.9%)	0.205
≥ 0.1	127 (73.8%)	46 (82.1%)	54 (83.1%)	
Cor a 8	0.26 [0.00;0.86]	0.32 [0.00;1.00]	0.26 [0.00;1.18]	0.595
[0.0, 0.1)	68 (39.5%)	18 (32.1%)	24 (39.6%)	0.760
[0.1, 0.3)	23 (13.4%)	10 (17.9%)	10 (15.4%)	
[0.3, 1.0)	40 (23.3%)	14 (25.0%)	11 (19.6%)	
[1.0,15.0)	39 (22.7%)	14 (25.0%)	20 (30.8%)	
[15.0,29.2]	2 (1.16%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	
< 0.1	68 (39.5%)	18 (32.1%)	24 (36.9%)	0.607
≥ 0.1	104 (60.5%)	38 (67.9%)	41 (63.1%)	
Jug r 3	0.70 [0.20;2.20]	0.84 [0.32;2.48]	1.17 [0.24;2.78]	0.163
[0.0, 0.1)	36 (20.9%)	7 (12.5%)	8 (12.3%)	0.271
[0.1, 0.3)	24 (14.0%)	6 (10.7%)	11 (16.9%)	
[0.3, 1.0)	42 (24.4%)	16 (28.6%)	9 (13.8%)	
[1.0,15.0)	68 (39.5%)	26 (46.4%)	36 (55.4%)	
[15.0,49.5]	2 (1.16%)	1 (1.79%)	1 (1.54%)	
< 0.1	36 (20.9%)	7 (12.5%)	8 (12.3%)	0.165
≥ 0.1	136 (79.1%)	49 (87.5%)	57 (87.7%)	
Pla a 3	0.44 [0.00;1.26]	0.78 [0.22;1.59]	0.85 [0.23;2.48]	0.006
[0.0, 0.1)	51 (29.7%)	10 (17.9%)	9 (13.8%)	0.094
[0.1, 0.3)	25 (14.5%)	7 (12.5%)	11 (16.9%)	
[0.3, 1.0)	44 (25.6%)	19 (33.9%)	14 (21.5%)	
[1.0,15.0)	49 (28.5%)	18 (32.1%)	30 (46.2%)	
[15.0,63.3]	3 (1.74%)	2 (3.57%)	1 (1.54%)	
< 0.1	52 (30.2%)	11 (19.6%)	10 (15.4%)	0.037
≥ 0.1	120 (69.8%)	45 (80.4%)	55 (84.6%)	
Art v 3	0.19 [0.00;0.82]	0.39 [0.12;1.54]	0.43 [0.10;1.47]	0.017
[0.0, 0.1)	74 (43.0%)	13 (23.2%)	15 (23.1%)	0.023
[0.1, 0.3)	22 (12.8%)	8 (14.3%)	14 (21.5%)	
[0.3, 1.0)	42 (24.4%)	17 (30.4%)	17 (29.2%)	
[1.0,15.0)	31 (18.0%)	18 (32.1%)	19 (29.2%)	
[15.0,40.4]	3 (1.74%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	
< 0.1	74 (43.0%)	13 (23.2%)	17 (26.2%)	0.005
≥ 0.1	98 (57.0%)	43 (76.8%)	48 (73.8)	

Ole e 7	0.00 [0.00;0.00]	0.00 [0.00;0.00]	0.00 [0.00;0.24]	0.095
[0.0, 0.1)	136 (79.1%)	45 (80.4%)	44 (67.7%)	0.512
[0.1, 0.3)	15 (8.72%)	5 (8.93%)	7 (10.8%)	
[0.3, 1.0)	13 (7.56%)	4 (7.14%)	7 (10.8%)	
[1.0,15.0)	8 (4.65%)	2 (3.57%)	7 (10.8%)	
< 0.1	136 (79.1%)	45 (80.4%)	44 (67.7%)	0.141
≥ 0.1	36 (20.9%)	11 (19.6%)	21 (32.3%)	
Nº LTPs positivas	5.00 [3.00;6.00]	6.00 [4.00;6.00]	6.00 [4.00;7.00]	0.082
Homólogos Bet v 1				
Negativo	165 (95.9%)	55 (98.2%)	61 (93.8%)	0.554
Positivo	7 (4.07%)	1 (1.79%)	4 (6.15%)	
Profilinas				
Negativo	164 (95.3%)	55 (98.2%)	63 (96.9%)	0.699
Positivo	8 (4.65%)	1 (1.79%)	2 (3.08%)	
Taumatinas				
Negativo	165 (94.2%)	51 (91.1%)	61 (93.8%)	0.717
Positivo	10 (5.81%)	5 (8.93%)	4 (6.15%)	

Cuando se analizaron las diferencias en el perfil de sensibilización a LTP agrupando las reacciones en función de si los síntomas fueron locales o sistémicos (tabla 21), se observaron diferencias en el perfil de sensibilización a LTP de polen de plátano de sombra y artemisia.

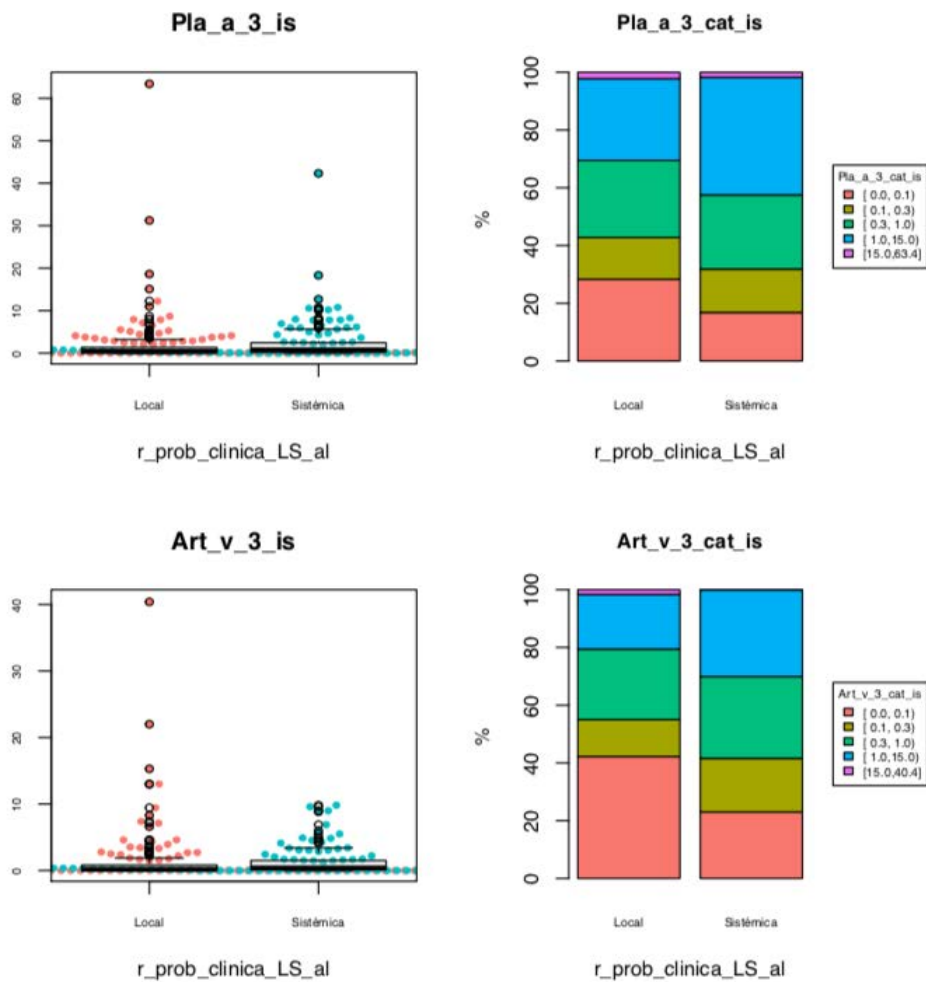
La positividad para Pla a 3 y Art v 3 fue significativamente superior en aquellos pacientes que presentaban síntomas sistémicos respecto a los que tenían clínica local. El 75% de los pacientes con clínica sistémica tenían valores positivos de Art v 3 frente a un 57.8% de los pacientes con clínica local ($p=0.002$), siendo del 82% y 70% respectivamente en el caso de Pla a 3 ($p=0.024$). Las diferencias se mantuvieron al considerar las variables de forma cuantitativa (figura 23). El grupo de clínica sistémica presentaba valores más altos de Pla a 3 (0.81 ISU [0.22;2.45]) y Art v 3 (0.41 ISU [0.11;1.50]) comparados con el grupo de clínica local (Pla a 3 0.46 ISU [0.00;1.32], $p=0.005$ y Art v 3 0.20 ISU [0.00;0.82], $p=0.007$).

Tabla 21. Comparación del recuento de LTPs positivas entre clínica local y sistémica considerando como punto de corte 0.1 ISU.

LTP	Clínica Local (UC, SAO, clínica GI)	Clínica sistémica (UA/AE, ANF/Shock ANF)	p
Pru p 3			
< 0.1	9 (5.00%)	9 (7.96%)	0.304
≥ 0.1	171 (95.0%)	104 (92%)	
Ara h 9			
< 0.1	46 (25.6%)	20 (17.7%)	0.117
≥ 0.1	134 (74.4%)	93 (82.3%)	
Cor a 8			
< 0.1	71 (39.4%)	39 (34.5%)	0.396

≥ 0.1	109 (60.6%)	74 (65.5%)	
Jug r 3			
< 0.1	36 (20.0%)	15 (13.3%)	0.139
≥ 0.1	144 (80.0%)	98 (86.7%)	
Pla a 3			
< 0.1	53 (29.4%)	20 (17.7%)	0.024
≥ 0.1	137 (70.6%)	93 (82.3%)	
Art v 3			
< 0.1	76 (42.2%)	28 (24.8%)	*0.002
≥ 0.1	104 (57.8%)	85 (75.2%)	
Ole e 7			
< 0.1	142 (78.9%)	83 (73.5%)	0.283
≥ 0.1	38 (21.1%)	30 (26.5%)	
Nº LTPs positivas	5.00 [3.00;6.00]	6.00 [4.00;6.00]	0.044

Figura 23. Comparación de los valores de Pla a 3 y Art v 3 en clínica sistémica y local.



Respecto al número de LTPs positivas (considerando un punto de corte mayor o igual a 0.1 ISU), se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con

síntomas locales, con una media de 5 LTP positivas, y aquellos con síntomas sistémicos, que tenían una media de 6 LTP positivas ($p=0.04$).

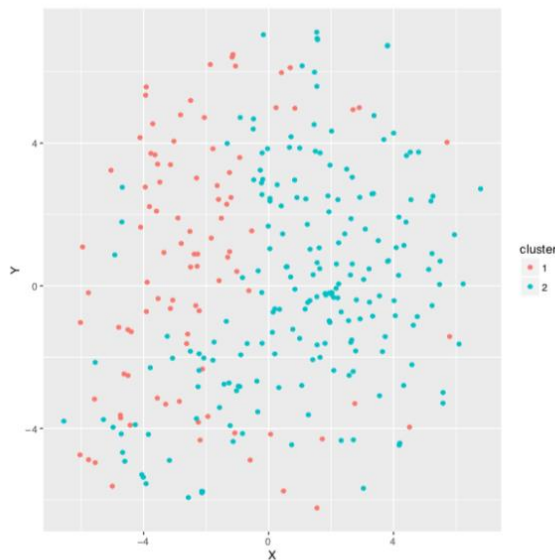
6. Creación de “clústers”

Con el objetivo de evaluar si las diferentes variables clínicas y de laboratorio se podían agrupar en “clústers” diferenciando fenotipos, se llevó a cabo un análisis estadístico específico basado en análisis de conglomerados.

6.1. Variables clínicas y alimentos implicados en la reacción

El análisis de las variables clínicas y de los alimentos implicados en las reacciones reveló que la población podía dividirse en dos grupos diferenciados: “clústers” 1 y 2 (puntos color naranja y azul turquesa respectivamente, de la figura 24 y 25).

Figura 24. Partición Alrededor de Medoids (PAM) con las variables específicas (alimentos).



Una vez seleccionados los grupos, se realizaron pruebas de comparación entre grupos, para detectar qué variables definían a cada grupo. En la tabla 22 se muestran las variables con diferencias estadísticamente significativas, con p-valor ajustado inferior a 0.05, entre ambos “clústers”. Atendiendo a las diferencias entre ambos grupos, a continuación, se detallan las principales características de cada uno de ellos.

El “clúster” 1 se caracterizaba por:

a/ Reacciones más graves:

- La primera reacción con alimentos vegetales fue con más frecuencia anafilaxia y UA/AE.
- En el momento del estudio los pacientes presentaban con mayor frecuencia clínica moderada -grave y sistémica.

b/ Mayor número de sIgE positivas a diferentes extractos completos de alimentos vegetales.

c/ Reacciones con un mayor número de alimentos vegetales (reacciones con una media de 9 alimentos vegetales distintos frente una media de 5 en el “clúster” 2).

d/ Los alimentos que con más frecuencia inducían síntomas fueron: nuez, pipa de girasol, castaña, cacahuete, guisante y altramuç.

e/ El alimento responsable de la primera reacción no acostumbraba a ser melocotón.

El “clúster” 2 se caracterizaba por:

a/ Reacciones más leves

- Todos los individuos asintomáticos incluidos en el estudio (n=13) pertenecían al “clúster” 2.
- Los pacientes debutaron con más frecuencia con clínica leve (UC y SAO).
- En el momento del estudio los pacientes presentaban fundamentalmente clínica leve y local.

b/ Reacciones con un menor número de alimentos vegetales.

c/ El alimento responsable de la primera reacción era principalmente el melocotón.

Tabla 22. Variables con diferencias estadísticamente significativas entre los “clústers” 1 y 2, atendiendo a los alimentos implicados en la reacción.

	“clúster” 1 N=94	“clúster” 2 N=212	2*p.overall	2* N
Clínica primera reacción presentada con alimento vegetal				
Asintomático	0 (0.00%)	13 (6.13%)	<0.001	306
UC, tolera pulpa	0 (0.00%)	99 (46.7%)		
SAO	15 (16.0%)	58 (27.4%)		
Clínica GI	3 (3.19%)	5 (2.36%)		
UA/AE	38 (40.4%)	10 (4.72%)		
ANF/Shock ANF	38 (40.4%)	27 (12.7%)		
Alimento primera reacción				
Melocotón	17 (18.1%)	151 (71.6%)	<0.001	305
Otro alimento vegetal	77 (81.9%)	47 (22.3%)		
Ningún alimento (asintomáticos)	0 (0.00%)	13 (6.16%)		
Gravedad de la clínica al momento estudio				
No clínica	0 (0.00%)	13 (6.16%)	<0.001	306
Leve	15 (16.0%)	157 (74.1%)		
Moderada	41 (43.6%)	15 (7.08%)		
Grave	38 (40.4%)	27 (12.7%)		
Localización de la clínica al momento del estudio				
Local	18 (19.1%)	162 (81.4%)	<0.001	293
Sistémica	76 (80.9%)	37 (18.6%)		
Clínica_No_al_count¹	31.0 [26.2;35.0]	35.0 [30.0;38.0]	<0.001	306
Clínica_Sí_al_count²	9.00 [5.00;13.8]	5.00 [2.00;10.0]	<0.001	306
SAO_al_count³	4.0 [2.00;6.00]	3.00 [0.00;5.00]	0.003	306
UA/AE_al_count⁴	0.50 [0.00;2.00]	0.00 [0.00;1.00]	<0.001	306
sIgE_cat_No_al_count⁵	31.0 [26.2;35.0]	35.0	<0.001	306

		[30.0;38.0]		
sIgE_cat_Si_al_count⁶	7.00 [4.00;11.0]	4.00 [2.00;6.00]	<0.001	306
Clínica con uva				
No	61 (64.9%)	175 (82.5%)	0.001	306
Sí	33 (35.1%)	37 (17.5%)		
Clínica con plátano				
No	74 (78.7%)	193 (91.0%)	0.003	306
Sí	20 (21.3%)	19 (8.96%)		
Clínica con nuez				
No	14 (14.9%)	132 (62.3%)	<0.001	306
Sí	80 (85.1%)	80 (37.7%)		
Gravedad clínica con nuez				
SAO	46 (52.3%)	46 (41.1%)	0.001	200
UA/AE	14 (15.9%)	12 (10.7%)		
Clínica GI	1 (1.14%)	0 (0.00%)		
ANF/Shock ANF	19 (21.6%)	18 (16.1%)		
Evita alimento	8 (9.09%)	36 (32.1%)		
Clínica cacahuete				
No	16 (17.0%)	147 (69.3%)	<0.001	306
Sí	78 (83.0%)	65 (30.7%)		
Gravedad clínica con cacahuete				
SAO	38 (46.9%)	41 (38.3%)	<0.001	188
UA/AE	17 (21.0%)	7 (6.54%)		
Clínica GI	3 (3.70%)	0 (0.00%)		
ANF/Shock ANF	17 (21.0%)	16 (15.0%)		
Evita alimento	6 (7.41%)	43 (40.2%)		
Tipo cofactor implicado reacciones con cacahuete				
AINES	1 (1.06%)	0 (0.00%)	0.006	306
Alcohol	1 (1.06%)	7 (0.47%)		
Cualquier combinación	1 (1.06%)	2 (0.94%)		
Ejercicio	4 (4.26%)	0 (0.00%)		
No cofactores implicados	87 (92.6%)	209 (98.6%)		
Clínica con avellana			<0.001	306

No	42 (44.7%)	151 (71.2%)		
Sí	52 (55.3%)	61 (28.8%)		
Clínica con almendra				
No	55 (58.5%)	172 (81.1%)	<0.001	306
Sí	39 (41.5%)	40 (18.9%)		
Clínica con guisantes				
No	82 (87.2%)	205 (96.7%)	0.002	306
Sí	12 (12.8%)	7 (3.30%)		
Clínica con pipas				
No	63 (67.0%)	173 (81.6%)	0.005	306
Sí	31 (33.0%)	39 (18.4%)		
Clínica con altramuz				
No	76 (80.9%)	197 (92.9%)	0.002	306
Sí	18 (19.1%)	15 (7.08%)		
Clínica con castaña				
No	65 (69.1%)	179 (84.4%)	0.002	306
Sí	29 (30.9%)	33 (15.6%)		
sIgE manzana	3.34 [1.75;5.18]	1.25 [0.46;3.36]	0.006	98
Uva sIgE_cat_Si_al_count⁷				
Desconocida	7 (7.45%)	10 (4.72%)	0.003	306
No	61 (64.9%)	175 (82.5%)		
Sí	26 (27.7%)	27 (12.7%)		
Nuez sIgE_cat_Si_al_count⁷				
Desconocida	1 (1.06%)	4 (1.89%)	<0.001	306
No	14 (14.9%)	132 (62.3%)		
Sí	79 (84.0%)	76 (35.8%)		
Cacahuete sIgE_cat_Si_al_count⁷				
Desconocida	3 (3.19%)	4 (1.89%)	<0.001	306
No	16 (17.0%)	147 (69.3%)		
Sí	75 (79.8%)	61 (28.8%)		
Avellana sIgE_cat_Si_al_count⁷				
Desconocida	5 (5.32%)	6 (2.83%)	<0.001	306
No	42 (44.7%)	151 (71.2%)		
Sí	45 (50.0%)	55 (25.9%)		

Almendra sIgE_cat_Si_al_count⁷				
Desconocida	5 (5.32%)	4 (1.89%)	<0.001	306
No	55 (58.5%)	172 (81.1%)		
Sí	34 (36.8%)	36 (17.0%)		
Guisantes sIgE_cat_Si_al_count⁷				
Desconocida	0 (0.00%)	1 (0.47%)	0.002	306
No	82 (87.2%)	205 (96.7%)		
Sí	12 (12.8%)	6 (2.83%)		
Pipas sIgE_cat_Si_al_count⁷				
Desconocida	0 (0.00%)	10 (4.72%)	<0.001	306
No	63 (67.0%)	173 (81.6%)		
Sí	31 (33.0%)	29 (13.7%)		
Altramuz sIgE_cat_Si_al_count⁷				
Desconocida	18 (19.1%)	15 (7.08%)	0.002	306
No	76 (80.9%)	197 (92.9%)		
Sí				
Castaña sIgE_cat_Si_al_count⁷				
Desconocida	7 (7.45%)	11 (5.19%)	0.006	306
No	65 (69.1%)	179 (84.4%)		
Sí	22 (23.4%)	22 (10.4%)		

Clínica_No_al_count¹: recuento en un mismo individuo del número de eventos “no clínica” para todos los alimentos incluidos en el CRD.

Clínica_Si_al_count²: recuento en un mismo individuo del número de eventos “clínica” sin tener en cuenta la gravedad para todos los alimentos incluidos en el CRD.

SAO_al_count³: recuento en un mismo individuo del número de eventos “SAO” con cualquier alimento incluidos en el CRD.

UA/AE_al_count⁴: recuento en un mismo individuo del número de eventos “SAO” con cualquier alimento incluidos en el CRD.

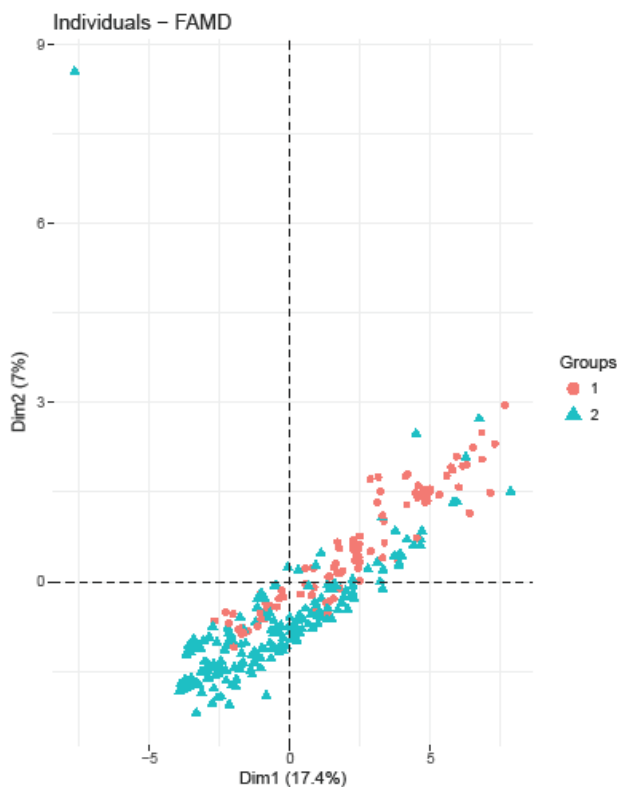
sIgE_cat_No_al_count⁵: número de alimentos al que un mismo individuo presenta valores de IgE específica a dicho alimento < 0.35kU/L.

sIgE_cat_Si_al_count⁶: número de alimentos al que un mismo individuo presenta valores de IgE específica a dicho alimento \geq 0.35kU/L.

Alimento sIgE_cat_Si_al_count⁷: número de individuos que presenta valores de IgE específica a dicho alimento < 0.35kU/L.

La figura 25 muestra los gráficos resultantes tras el análisis factorial por datos mixtos (FAMD), agrupando las variables en dimensiones. En el gráfico se observa como ambos grupos se diferencian mejor en la dimensión 1.

Figura 25. Gráficos resultantes del Análisis Factorial para datos mixtos (FAMD). Dimensión 1 (eje de abscisas y 2 (eje de ordenadas).

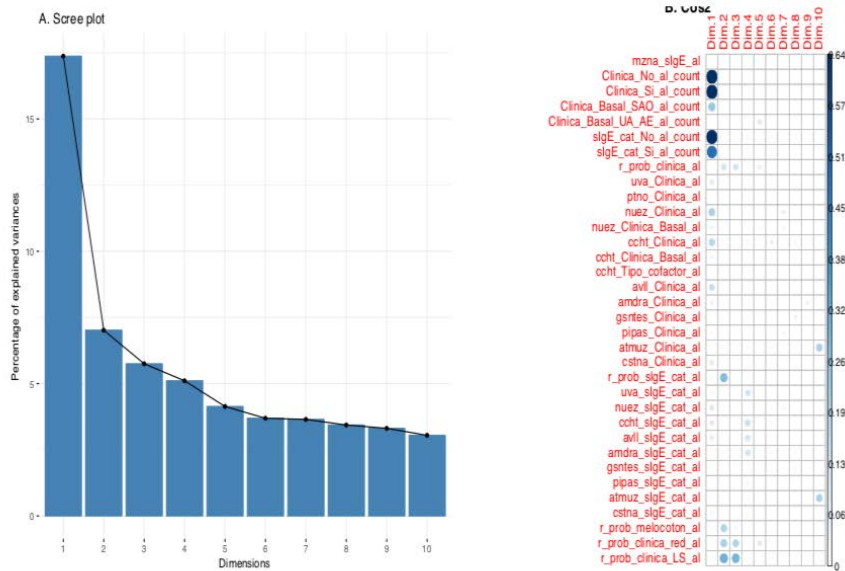


El análisis de las variables de ambas dimensiones (figura 26) muestra qué las variables de las dimensiones 1 y 2 que mejor discriminaban entre ambos “clústers” fueron:

- **“Clínica_No_al_count”**: recuento en un mismo individuo del número de eventos “no clínica” para todos los alimentos incluidos en el CRD.
- **“Clínica_Si_al_count”**: recuento en un mismo individuo del número de eventos “clínica” sin tener en cuenta la gravedad para todos los alimentos incluidos en el CRD.
- **“sIgE_cat_No_al_count”**: número de alimentos al que un mismo individuo presenta valores de IgE específica a dicho alimento $\geq 0.35\text{kU/L}$.

- “sIgE_cat_Si_al_count”: número de alimentos al que un mismo individuo presenta valores de IgE específica a dicho alimento $< 0.35\text{kU/L}$.

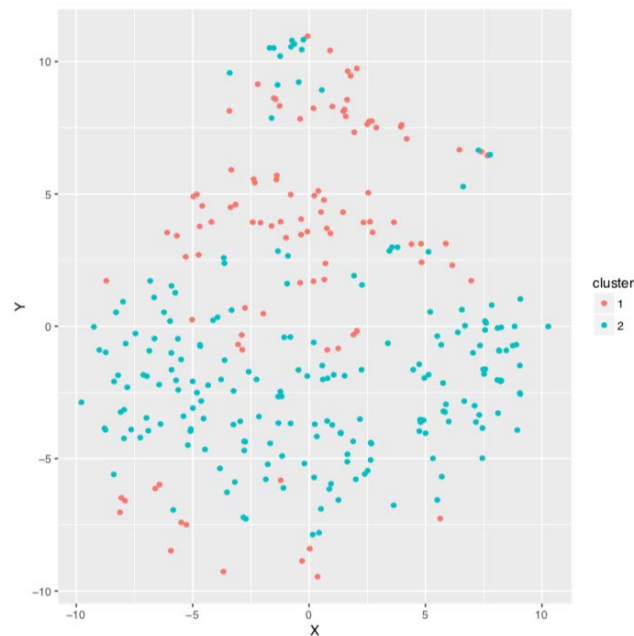
Figura 26. Componentes principales de las variables clínicas.



6.2. Datos comunes

Se siguió el mismo método para analizar los datos comunes (variables demográficas, analíticas y clínicas representadas en tabla 10) de la población de estudio. En este caso la población podía dividirse en dos nuevos grupos diferenciados: “clústers” 1 y 2 (puntos color naranja y azul turquesa respectivamente, de la figura 27).

Figura 27. Partición Alrededor de Medoids (PAM) con los datos comunes.



En la tabla 23 se muestran las variables con diferencias estadísticamente significativas, con p-valor ajustado inferior a 0.05, entre ambos “clústers”. Atendiendo a las diferencias entre ambos grupos, a continuación, se detallan las principales características de cada uno de ellos.

El “clúster” 1 se caracterizaba por:

- a/ Predominio de sexo masculino con historia personal de atopia (rinoconjuntivitis y asma bronquial).
- b/ Valores más elevados de IgE total.
- c/ Valores más bajos de IgE específica para melocotón.
- d/ Urticaria de contacto con melocotón con tolerancia de pulpa.
- e/ Mayor frecuencia de sensibilización a epitelios y menor a polen de plátano de sombra y artemisia.

El “clúster” 2 se caracterizaba por:

- a/ Predominio de sexo femenino.
- b/ Mayor frecuencia de reacciones anafilácticas y reacciones exacerbadas por cofactor (CEFA).

c/ No tolerar el melocotón.

d/ Mayor frecuencia de SLTP.

e/ Mayor frecuencia de sensibilización a polen de plátano de sombra y artemisia.

Tabla 23. Variables que muestran diferencias estadísticamente significativas entre los “clústers” 1 y 2, atendiendo a los datos comunes (variables demográficas, analíticas y clínicas) de la población a estudio.

	Todos N= 306	“clúster” 1 N=101	“clúster” 2 N=205	2*p.overall	2* N
Género					
Varón	115 (37.6%)	65 (64.5%)	50 (24.4%)	<0.001	306
Mujer	191 (62.4%)	36 (35.6%)	155 (75.6%)		
Rinoconjuntivitis					
No	60 (19.6%)	11 (10.9%)	49 (23.9%)	0.007	306
Sí	246 (80.4%)	90 (89.1%)	156 (76.1%)		
Asma bronquial					
No	228 (74.5%)	64 (63.4%)	164 (80.0%)	0.002	306
Sí	78 (25.5%)	37 (36.6%)	41 (20.0%)		
IgE total	132 [54.7;289]	200 [73.8;334]	117 [44.8;264]	0.002	306
sIgE melocotón	2.80 [0.90;6.82]	1.83 [0.60;4.54]	3.38 [1.21;8.26]	0.007	306
sIgE Pru p 3_CAP	3.29 [1.12;8.75]	3.76 [1.30;9.10]	3.76 [1.30;9.10]	0.024	306
Ratio sIgE Pru p 3/ IgE total	0.41 [-0.03;0.83]	0.12 [- 0.20;0.45]	0.58 [0.08;0.95]	<0.001	306
Tolerancia melocotón					
No	162 (53.8%)	48 (48.5%)	114 (56.4%)	0.017	301
Sí	51 (16.9%)	20 (20.2%)	31 (15.3%)		

UC, tolera pulpa	40 (13.3%)	21 (21.2%)	19 (9.41%)		
SAO con piel, tolera pulpa	11 (3.65%)	4 (4.04%)	7 (3.47%)		
Evita	16 (5.32%)	2 (2.02%)	14 (6.93%)		
UC, evita melocotón	18 (5.98%)	3 (3.03%)	15 (7.43%)		
Sólo tolera en almíbar	1 (0.33%)	0 (0.00%)	1 (0.50%)		
Tolera sin cofactor	1 (0.33%)	0 (0.00%)	1 (0.50%)		
Desconocido	1 (0.33%)	1 (1.01%)	0 (0.00%)		
Sensibilización a neumoaérgenos					
Monosensibilización	40 (13.1%)	25 (24.8%)	15 (7.32%)	<0.001	306
Polisensibilización [2,4 pólenes]	266 (86.9%)	76 (75.2%)	190 (92.7%)		
Nº de pólenes reconocidos por los pacientes polisensibilizados	2.00 [2.00;3.00]	2.00 [2.00;3.00]	3.00 [2.00;3.00]	<0.001	306
Sensibilización prick ácaros					
No	142 (46.4%)	26 (25.7%)	116 (56.6%)	<0.001	306
Sí	162 (52.9%)	74 (73.3%)	88 (42.9%)		
Desconocido	2 (0.65%)	1 (0.99%)	1 (0.49%)		
Sensibilización prick epitelios					
No	190 (62.1%)	42 (41.6%)	148 (72.2%)	<0.001	306
Sí	111 (36.3%)	57 (56.4%)	54 (26.3%)		
Desconocido	5 (1.63%)	2 (1.98%)	3 (1.46%)		
Sensibilización prick polen de plátano de sombra					
No	124 (40.5%)	58 (57.4%)	66 (32.2%)	<0.001	306
Sí	177 (57.8%)	41 (40.6%)	136 (66.3%)		
Desconocido	5 (1.63%)	2 (1.98%)	3 (1.46%)		

Sensibilización prick polen de artemisia					
No	178 (58.2%)	69 (68.3%)	109 (53.2%)	0.007	306
Sí	123 (40.2%)	29 (28.7%)	94 (45.9%)		
Desconocido	5 (1.63%)	3 (2.97%)	2 (0.98%)		
Clínica Leve					
No	206 (67.3%)	18 (17.8%)	188 (91.7%)	<0.001	306
Sí	100 (32.7%)	83 (82.2%)	17 (8.29%)		
Shock anafiláctico					
No	114 (37.3%)	88 (87.1%)	26 (12.7%)	<0.001	306
Sí	192 (62.7%)	13 (12.9%)	179 (87.3%)		
SLTP					
No	48 (15.7%)	29 (28.7%)	19 (9.27%)	<0.001	306
Sí	258 (84.3%)	72 (71.3%)	186 (90.7%)		
CEFA					
No	215 (70.3%)	86 (85.1%)	129 (62.9%)	<0.001	306
Sí	91 (29.7%)	15 (14.9%)	76 (37.1%)		

La figura 28 muestra los gráficos resultantes tras el análisis factorial por datos mixtos (FAMD), agrupando las variables en dimensiones. En el gráfico se observa como ambos grupos se diferencian mejor en la dimensión 1 (eje abscisas). El análisis de las variables de ambas dimensiones (figura 29) muestra que las variables de las dimensiones 1, 2 y 3 que mejor discriminaban entre ambos “clústers” fueron:

- “**fenot_poli_bas**”: media del número de pólenes reconocidos por los pacientes polisensibilizados.
- “**fenot_Sd_LTP_bas**”: pacientes con síndrome LTP
- “**fenot_poli_cat_bas**”: pacientes con monosensibilización o polisensibilización (de 2 a 4 pólenes)
- “**neumoal_epitelios_bas**”: pacientes con sensibilización mediante prick a epitelios.
- “**neumoal_plátano de sombra_bas**”: pacientes con sensibilización mediante prick a polen de plátano de sombra.
- “**mctn_sIgE_bas**”: IgE específica a extracto completo de melocotón.

- “mctn_CAP_Pru p 3_bas”: IgE específica a Pru p 3 determinada mediante Inmuno CAP.

Figura 28. Gráficos resultantes del Análisis Factorial para datos mixtos (FAMD) para los datos comunes de la población a estudio. Dimensión 1 (eje de abscisas) y 2 (eje de ordenadas).

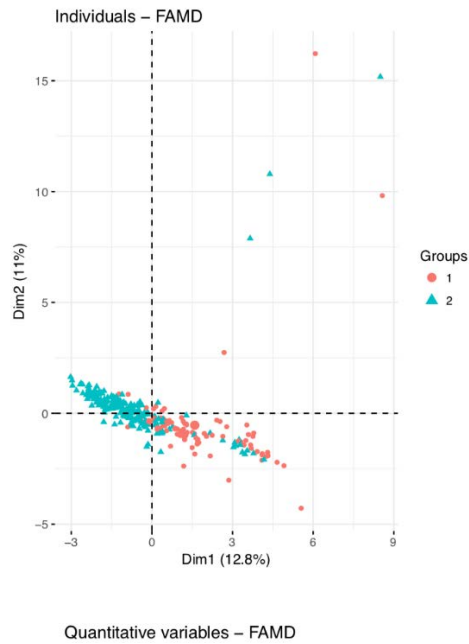
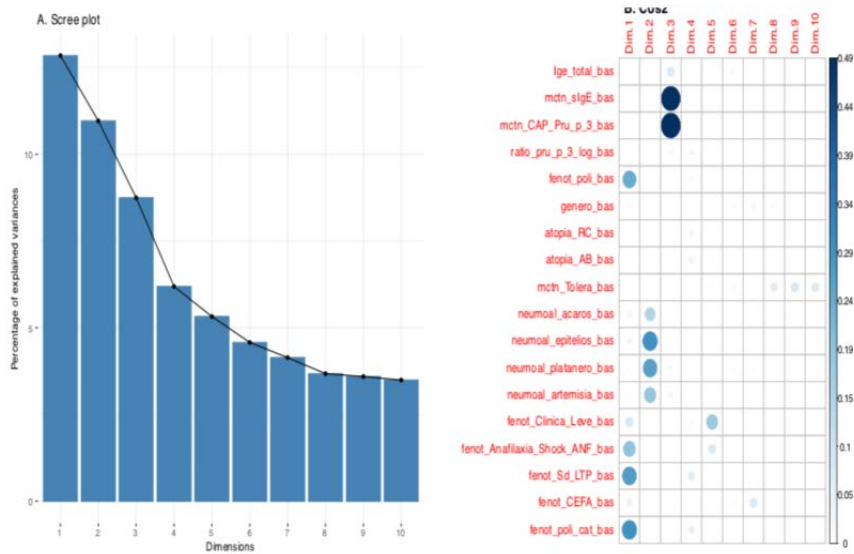


Figura 29. Componentes principales de las variables clínicas.



6.3. Comparación entre los “clústers” 1 y 2 generados según los datos fijos y las variables alimentos

En este apartado se realizó un test de comparación entre los grupos “clúster” 1 y 2 generados en el análisis anterior según los datos fijos (ver apartado 6.2) para evaluar si existían diferencias entre las variables alimentos. Los resultados del análisis con las variables con diferencias estadísticamente significativas entre ambos “clústers” se muestran en la tabla 24.

El “clúster” 1 se caracterizaba por:

a/ Presentar principalmente urticaria de contacto con tolerancia a la pulpa de melocotón como síntoma de la la primera reacción con un alimento vegetal.

b/ Mayor proporción de clínica local (UC, SAO y clínica GI).

El “clúster” 2 se caracterizaba por:

a/ Presentar anafilaxia/shock anafiláctico como síntoma de la primera reacción con un alimento vegetal con más frecuencia que el “clúster” 1 (30% vs 4%).

b/ Mayor proporción de clínica sistémica en la primera reacción por alimento vegetal respecto al “clúster” 1.

c/ Los alimentos más frecuentemente implicados en las reacciones fueron: la manzana, el melón, la nuez, el cacahuete, la lechuga, el tomate, las cerezas y el altramuz.

Tabla 24. Comparación entre grupo 1 y 2 y las variables de los alimentos.

	“clúster” 1 N=101	“clúster” 2 N=205	2*p.overall	2*N
1ª Reacción presentada con alimento vegetal				
Asintomático	5 (4.95%)	8 (3.90%)	<0.001	306
UC, tolera pulpa	38 (37.6%)	61 (29.8%)		
SAO	30 (29.7%)	43 (21.0%)		
Clínica GI	2 (1.98%)	6 (2.93%)		
UA/AE	22 (21.8%)	26 (12.7%)		
ANF/Shock ANF	4 (3.96%)	61 (29.8%)		
Clínica manzana				
No	78 (77.2%)	122 (59.5%)	0.002	306
Sí	23 (22.8%)	83 (40.5%)		
Clínica melón				
No	82 (81.2%)	123 (60.0%)	<0.001	306
Sí	19 (18.8%)	82 (40.0%)		
Clínica nuez				
			<0.001	306

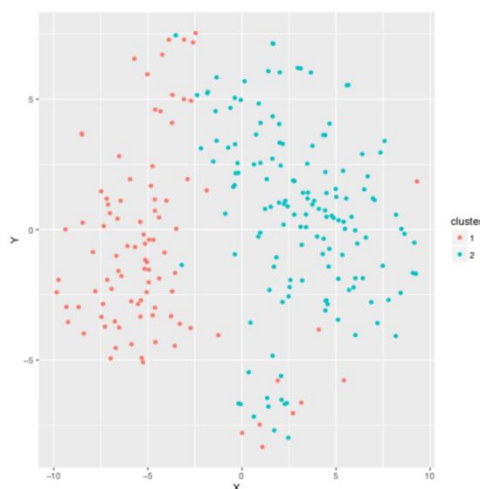
SAO	35 (62.5%)	57 (39.6%)		
UA/AE	14 (25.0%)	12 (8.33%)		
Clínica GI	0 (0.00%)	1 (0.69%)		
ANF/Shock ANF	2 (3.57%)	35 (24.3%)		
Evita alimento	5 (8.93%)	39 (27.1%)		
Clínica cacahuete				
SAO	26 (53.1%)	53 (38.1%)	0.001	306
UA/AE	11 (22.4%)	13 (9.35%)		
Clínica GI	2 (4.08%)	1 (0.72%)		
ANF/Shock ANF	3 (6.12%)	30 (21.6%)		
Evita alimento	7 (14.3%)	42 (30.2%)		
Clínica lechuga				
No	89 (88.1%)	124 (60.5%)	<0.001	306
Sí	12 (11.9%)	81 (39.5%)		
Clínica tomate				
No	94 (93.1%)	151 (73.7%)	<0.001	306
Sí	7 (6.93%)	54 (26.3%)		
Clínica con cerezas				
No	94 (93.1%)	160 (78.0%)	0.001	306
Sí	7 (6.93%)	45 (22.0%)		
Mango				
No clínica con cofactor	101 (100%)	185 (90.2%)	0.001	306
Nunca ha comido mango	0 (0.00%)	20 (9.76%)		
Clínica Altramuz				
SAO	3 (27.3%)	22 (35.5%)	<0.001	306
UA/AE	1 (9.09%)	0 (0.00%)		
Clínica GI	4 (36.4%)	1 (1.61%)		
ANF/Shock ANF	0 (0.00%)	1 (1.61%)		
Evita alimento	3 (27.3%)	17 (27.4%)		
Nunca lo ha comido	0 (0.00%)	21 (33.9%)		
Clínica CEFA altramuz				
No clínica con cofactor	101 (100%)	183 (89.3%)	<0.001	306
ANF/Shock ANF	0 (0.00%)	1 (0.49%)		
Nunca ha comido alimento	0 (0.00%)	21 (10.2%)		
Clínica CEFA hinojo				
No clínica con cofactor	101 (100%)	182 (88.8%)	<0.001	306
Nunca ha comido alimento	0 (0.00%)	23 (11.2%)		
sIgE melón				
Desconocida	4 (3.96%)	13 (6.34%)	0.001	306
No	82 (81.2%)	123 (60.0%)		
Sí	15 (14.9%)	69 (33.7%)		
sIgE lechuga				
Desconocida	0 (0.00%)	6 (2.93%)	<0.001	306
No	89 (88.1%)	123 (60.0%)		
Sí	12 (11.9%)	76 (37.1%)		
sIgE tomate				
Desconocida	1 (0.99%)	7 (3.41%)	<0.001	306
No	94 (93.1%)	151 (73.7%)		
Sí	6 (5.94%)	47 (22.9%)		
sIgE cerezas				
Desconocida	1 (0.99%)	6 (2.93%)	0.003	306
No	94 (93.1%)	160 (78.0%)		
Sí	6 (5.94%)	39 (19.0%)		

Gravedad de la 1ª reacción alérgica con alimento vegetal				
No clínica (asintomáticos)	5 (4.95%)	8 (3.90%)	<0.001	306
Clínica leve	68 (67.3%)	104 (50.7%)		
Clínica moderada	24 (23.8%)	32 (15.6%)		
Clínica grave	4 (3.96%)	61 (29.8%)		
1ª reacción alérgica con alimento vegetal				
Local	70 (72.9%)	110 (55.8%)	0.005	293
Sistémica	26 (27.1%)	87 (44.2%)		
No clínica	36.0 [32.0;39.0]	33.0 [28.0;36.0]	<0.001	306
Sí clínica	4.00 [1.00;8.00]	7.00 [4.00;12.0]	<0.001	306
Anafilaxia/shock ANF	0.00 [0.00;0.00]	1.00 [0.00;2.00]	<0.001	306
Evita alimento	0.00 [0.00;3.00]	3.00 [1.00;6.00]	<0.001	306
Nunca ha comido al alimento	0.00 [0.00;0.00]	0.00 [0.00;1.00]	<0.001	306
No CEFA	40.0 [40.0;40.0]	40.0 [39.0;40.0]	<0.001	306
CEFA	0.00 [0.00;0.00]	0.00 [0.00;1.00]	<0.001	306
Cofactor AINEs	0.00 [0.00;0.00]	0.00 [0.00;0.00]	0.003	306
CEFA_ANF	0.00 [0.00;0.00]	0.00 [0.00;1.00]	<0.001	306

6.4. InmunoCAP ISAC 112®

Con el objetivo de evaluar si los perfiles de reconocimiento de los diferentes alérgenos individuales contenidos en la micromatriz ImmunoCAP ISAC® se podían agrupar en “clústers” diferenciando fenotipos, se realizó el análisis con el método Partición Alrededor de Medoids (PAM), que permitió diferenciar 2 “clústers” (“clúster” 1, naranja y 2, azul turquesa, de la figura 30).

Figura 30. Cálculo de “clúster” por el método Partición alrededor de Medoids (PAM) con los alérgenos individuales obtenidos con la micromatriz ImmunoCAP ISAC 112®.



Una vez seleccionados los grupos, se realizaron pruebas de comparación entre ambos para detectar qué variables definían dichos grupos. En la tabla 25 se muestran las variables que mostraban diferencias estadísticamente significativas con p valor ajustado inferior a 0.05, entre ambos “clústers”. Las diferencias entre ambos grupos fueron principalmente a expensas del reconocimiento de alérgenos individuales de ácaros y epitelios:

El “clúster” 1 se caracterizaba por:

a/ Positividad para los alérgenos principales de Dermatophagoides: Der f 1, Der f 2, Der p 1 y Der p 2.

b/ Positividad a títulos muy bajos para antígeno 5 de Blomia (Blo t 5), Lepidoglyphus (Lep d 2), calicreína prostática de perro (Can f 5) y uteroglobina de gato (Fel d 1).

El “clúster” 2 se caracterizaba por:

a/ Negatividad para los alérgenos individuales de ácaros (Der f 1, Der f 2, Der p 1, Der p 2, Blo t 5 y Lep d 2), y para los alérgenos principales de epitelio de perro (Can f 5) y epitelio de gato (Fel d 1).

Tabla 25. Identificación de alérgenos individuales que mejor discriminan entre “clúster” 1 y 2.

	“clúster” 1 N= 96	“clúster” 2 N=146	2*p.overall	2* N
Fel d 1	0.00 [0.00;3.74]	0.00 [0.00;0.00]	< 0.001	242
Can f 5	0.00 [0.00;0.34]	0.00 [0.00;0.00]	0.02	242
Blo t 5	0.00 [0.00;0.10]	0.00 [0.00;0.00]	< 0.001	242
Der f 1	3.39 [10.12;10.7]	0.00 [0.00;0.00]	< 0.001	242
Der f 2	10.4 [4.32;24.3]	0.00 [0.00;0.00]	< 0.001	242
Der p 1	5.39 [1.66;11.5]	0.00 [0.00;0.00]	< 0.001	242
Der p 2	12.0 [8.01;30.1]	0.00 [0.00;0.00]	< 0.001	242
Lep d 2	0.00 [0.00;0.02]	0.00 [0.00;0.00]	< 0.001	242

Para caracterizar los distintos perfiles se realizó un análisis de componentes principales (PCA), denominado Análisis Factorial para datos Mixtos (FAMD), teniendo en cuenta todas las variables (figura 31). En este caso las variables de la dimensión 1 (eje de ordenadas o vertical) explicaban un 18.1% de las diferencias entre los “clústers”, mientras que las variables de la dimensión 2 y 3 explicaban el 12.8% y 12% respectivamente (figura 32A). Sin embargo, como se puede observar en la figura 31, las variables de la dimensión 1 no dividen el conjunto de pacientes en los dos “clústers” detectados mediante el método PAM (figura 30) aunque si lo harían en otro tipo de agrupación distinta a la detectada. La dimensión 1 estaría formada (figura 32B) por las variables: Jug r 2, Phl p 4 y Cry j 1, y con menor intensidad Cyn d 1, Cup a 1 y Pla a 2, todas ellas pertenecientes al grupo de proteínas denominado “proteínas que contienen determinantes carbohidratados (CCD)”. En cambio, las variables de la dimensión 2 (eje de abscisas u horizontal) sí que dividen al conjunto de pacientes en los dos “clústers” detectados mediante el método PAM. Las variables de las dimensiones 2 y 3 que más contribuían a explicar las diferencias entre “clústers” fueron principalmente los alérgenos del grupo 1 y 2 de *Dermatophagoides pteronyssinus*. (figura 32B).

Figura 31. Gráfico resultante del Análisis Factorial para Datos Mixtos (FAMD) para los alérgenos individuales del InmunoCAP ISAC 112® de la población a estudio.

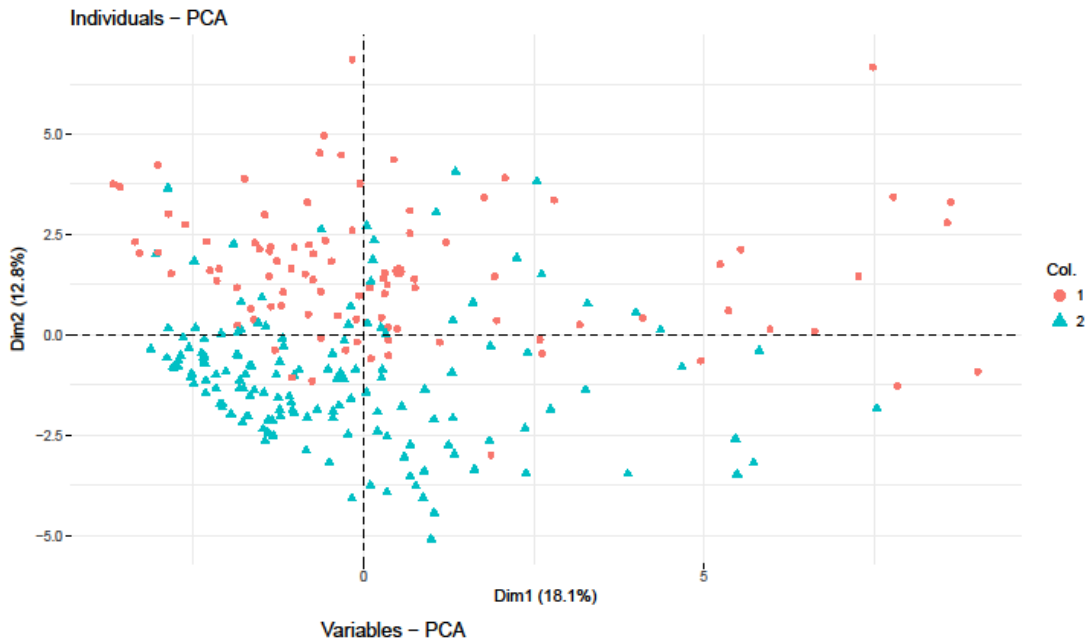
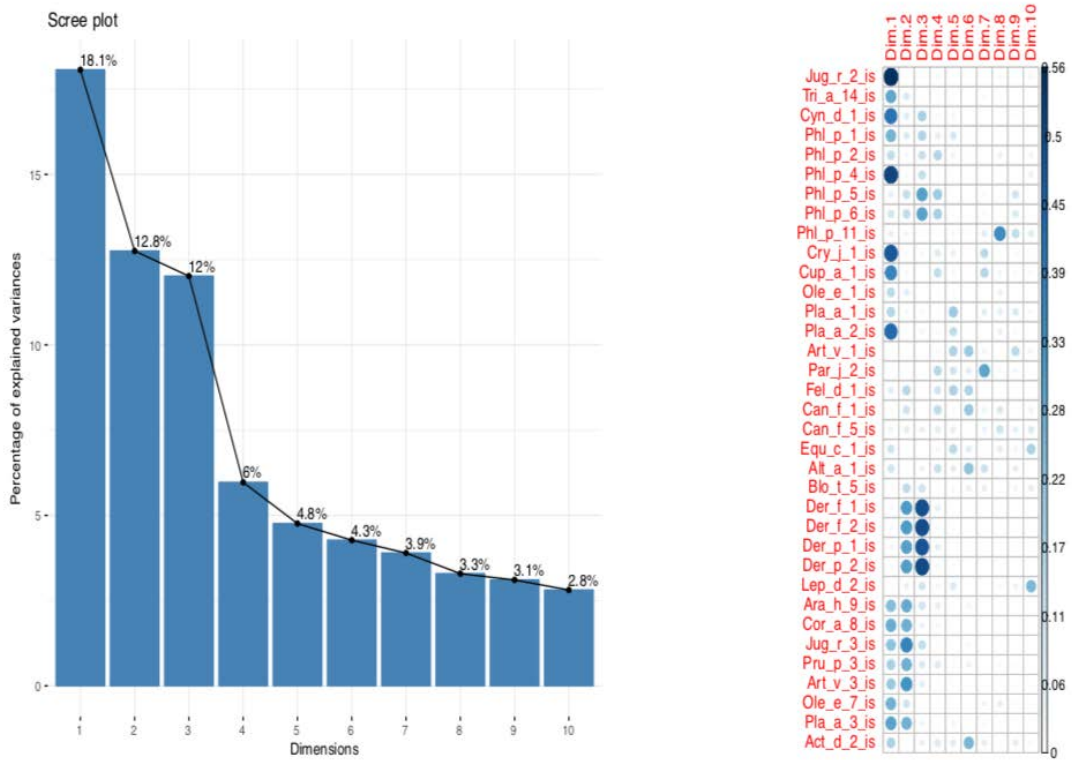


Figura 32A (izquierda) y 32B (derecha). Porcentaje de explicabilidad y componentes principales de las dimensiones.



6.5. Comparación entre los “clústers” 1 y 2 generados según los datos de los alérgenos individuales y las variables alimentos

En este apartado se ha realizado un test de comparación entre “clústers” resultantes del análisis de grupos según las moléculas alergénicas contenidas en el ImmunoCAP ISAC® (“clústers” 1 y 2 del apartado 6.4) y las variables de los alimentos para evaluar si existen diferencias entre los alimentos implicados en las reacciones entre ambos “clústers”. En la tabla 26 se muestran las variables que mostraban diferencias estadísticamente significativas entre los “clústers” 1 y 2 generados en el apartado 6.4.

Las diferencias entre ambos grupos fueron:

El “clúster” 1 (predominio de sensibilización a grupo 1 y 2 de Dermatophagoides) se caracterizaba por:

a/ Una mediana mayor del número de veces que un mismo individuo evita un alimento (evita alimento).

b/ Mayor proporción de anafilaxias inducidas por la ingesta de paraguay.

El “clúster” 2 (ausencia de sensibilización a alérgenos de ácaros y epitelios) se caracterizaba por:

a/ Los alimentos que con más frecuencia inducían síntomas fueron: la avellana, la lechuga, las pipas y el cacahuete.

b/ Mayor proporción de reacciones exacerbadas por cofactor, siendo má frecuente el ejercicio o la combinación de cofactores.

d/ Mayor proporción de UA/AE inducidas por la ingesta de paraguay.

e/ Mayor proporción de individuos que evitan paraguay o nunca lo han comido.

f/ Todos los individuos que presentaron clínica GI tras la ingesta de castaña pertenecen a este grupo.

Tabla 26. Comparación de los grupos 1 y 2 de los fenotipos de ISAC y variables alimentos.

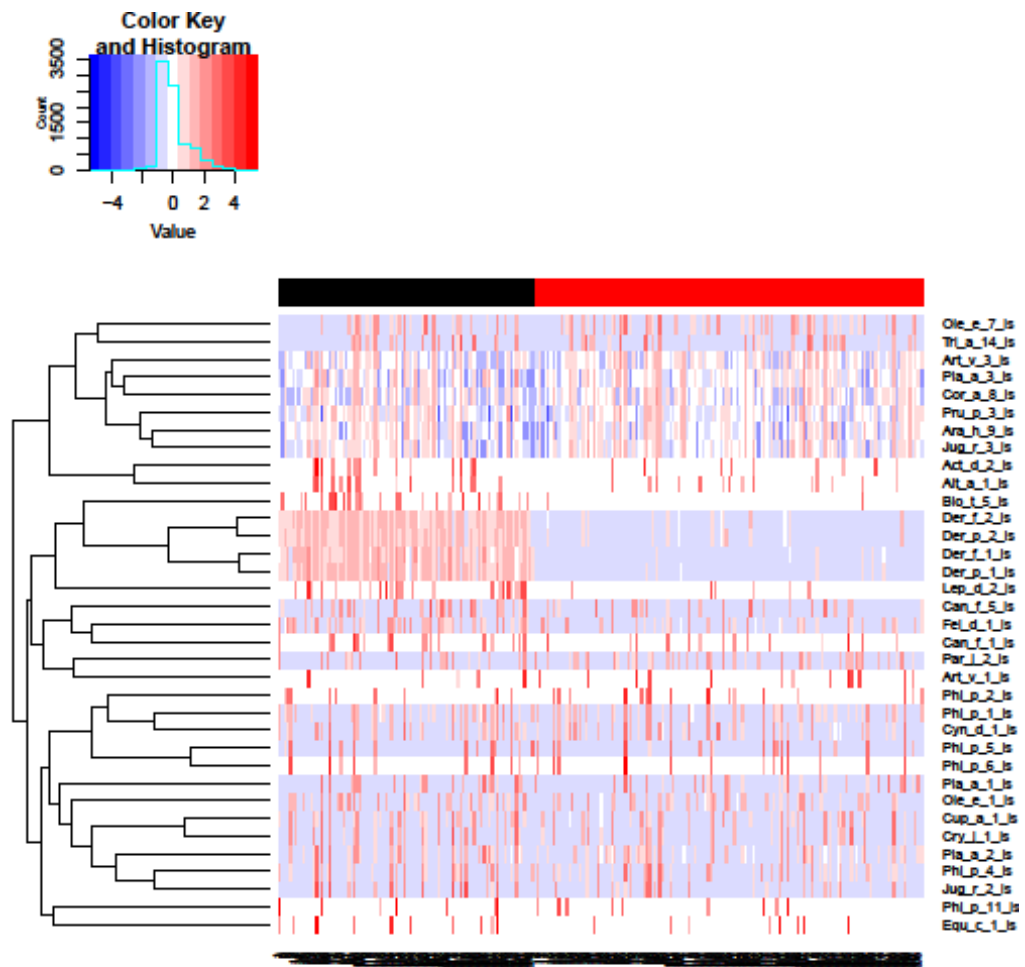
	Grupo 1 N=105	Grupo 2 N=156	2*p.overall	2*N
Clínica avellana				
No	73 (69.5%)	85 (54.5%)	0.015	261
Sí	32 (30.5%)	71 (45.5%)		
Clínica lechuga				
No	82 (78.1%)	98 (62.8%)	0.009	261
Sí	23 (21.9%)	58 (37.2%)		
Cofactor implicado reacciones con lechuga				
AINEs	2 (1.90%)	3 (1.92%)	0.035	261
Alcohol	3 (2.86%)	1 (0.64%)		
Cualquier combinación	0 (0.00%)	6 (3.85%)		
Ejercicio	2 (1.90%)	11 (7.05%)		
Menstruación	0 (0.00%)	1 (0.64%)		
No cofactores implicados	98 (93.3%)	134 (85.9%)		
Clínica pipas				
No	85 (81.0%)	109 (69.9%)	0.044	261
Sí	20 (19.0%)	47 (30.1%)		
Clínica paraguayo				
SAO	7 (12.3%)	7 (7.14%)	0.045	155
UC, tolera pulpa	4 (7.02%)	2 (2.04%)		
UA/AE	0 (0.00%)	3 (3.06%)		
Clínica GI	1 (1.75%)	0 (0.00%)		
ANF/Shock anafiláctico	4 (7.02%)	1 (1.02%)		
Evita alimento	23 (66.7%)	75 (76.5%)		
Nunca ha comido el alimento	3 (5.26%)	10 (10.2%)		
Clínica castaña				
SAO	13 (36.1%)	18 (27.7%)	0.037	101
UC, tolera pulpa	2 (5.56%)	0 (0.00%)		
UA/AE	1 (2.78%)	3 (4.62%)		
Clínica GI	0 (0.00%)	6 (9.23%)		
ANF/Shock anafiláctico	7 (19.4%)	5 (7.69%)		
Evita alimento	13 (36.1%)	33 (50.8%)		
sIgE manzana				
Desconocida	0 (0.00%)	6 (3.85%)	0.029	261
No	67 (63.8%)	110 (70.5%)		
Sí	38 (36.2%)	40 (25.6%)		
sIgE cacahuete				
Desconocida	0 (0.00%)	6 (3.85%)	0.018	261
No	67 (63.8%)	110 (70.5%)		
Sí	38 (36.2%)	40 (25.6%)		
sIgE avellana				
Desconocida	1 (0.95%)	9 (5.77%)	0.017	261
No	73 (69.5%)	85 (54.5%)		
Sí	31 (29.5%)	62 (39.7%)		
sIgE lechuga				
Desconocida	1 (0.95%)	2 (1.28%)	0.014	261
No	82 (78.1%)	97 (62.2%)		

Sí	22 (21.0%)	57 (36.5%)		
sIgE pipas				
Desconocida	1 (0.95%)	9 (5.77%)	0.049	261
No	85 (81.0%)	109 (69.9%)		
Sí	19 (18.1%)	38 (24.4%)		
Evita el alimento	1.00 [0.00;5.00]	3.00 [0.00;5.00]	0.004	261
CEFA	0.00 [0.00;0.00]	0.00 [0.00;1.00]	0.022	261
No cofactores implicados	40.0 [39.0;40.0]	40.0 [38.0;40.0]	0.005	261
Clínica UA/AE con cofactor	0.00 [0.00;0.00]	0.00 [0.00;0.00]	0.019	261

6.6. “Mapa de calor” o “heatmap”

Por último y con el objetivo de visualizar de forma más gráfica los “clústers” 1 y 2 generados teniendo en cuenta los alérgenos contenidos en el InmunoCAP ISAC 112® (ver apartado 6.4), se realizó un “mapa de calor” o “heatmap” que representa los valores originales de las proteínas transformados logarítmicamente y escalados (las columnas representan los pacientes y las filas las variables) donde las intensidades están codificadas por colores con el fin de resaltar posibles patrones entre grupos. El código de colores es: azul para los valores bajos y rojo para los valores elevados. Se realizó una agrupación jerárquica de las proteínas (y en el segundo caso para los individuos) para facilitar su interpretación. En la figura 33 se representa el mapa de calor o “heatmap” generado según la agrupación de los individuos mediante el método “Partición Alrededor de Medoids” (PAM) en “clúster” 1, caracterizados por presentar positividad para algunos alérgenos individuales de ácaros (Der f 1, Der f 2, Der p 1 y Der p 2) y representado en color negro y el “clúster” 2 con negatividad para dichos alérgenos, en color rojo.

Figura 33. Mapa de calor o “Heatmap” según la agrupación de los individuos obtenidos mediante el método PAM.



7. Pruebas de exposición oral a melocotón controlada con placebo

7.1. Cuantificación de Pru p 3 en el zumo de melocotón

La tabla 27 muestra los resultados del análisis de cuantificación de Pru p 3 de los tres lotes analizados del zumo de melocotón Granini®: M1 (lote A2081035311), M2 (lote A100301144_1) y M3 (lote A505994870_1). La muestra número 1 (M1) estaba contaminada por hongos por lo que los resultados no fueron fiables y la muestra 2 (M2) se perdió por el transporte y no pudo ser analizada. La muestra 3 (M3) (5.46µg Pru p 3/ml) es la que se utilizó para saber la cantidad de Pru p 3 contenida en la receta activa con zumo de melocotón Granini® desarrollada para la validación de la receta y las pruebas de exposición oral. Sin embargo, los resultados obtenidos mediante el método ELISA pero usando otro anticuerpo fueron diferentes al método anterior (M1: 0.33µg Pru p 3/ml; M2: 4.6µg Pru p 3/ml; M3: 1.98µg Pru p 3/ml).

Tabla 27. Cuantificación de Pru p 3 en diferentes lotes de zumo de melocotón Granini®.

Muestra	Cuantificación de Pru p 3 (ELISA)
M1 (*contaminación hongos)	1.851 µg/ml Pru p 3
M2	Muestra perdida
M3	5.463 µg/ml Pru p 3

7.2. Validación de la receta de melocotón

El test del triángulo se realizó en 32 voluntarios, siendo el 62.5% mujeres con una mediana de edad de 42.5 años (rango 24-61). La mayoría de los participantes no fueron capaces de identificar la muestra diferente (17/32) frente al 46.9% que sí la identificaron. Del total de voluntarios, 8 consideraron que no había diferencias entre las tres muestras y de éstos, solo 2 identificaron correctamente la muestra diferente cuando el test les forzó a marcar una opción. Las diferencias sensoriales de la muestra diferente respecto a las otras, evaluadas por los voluntarios por medio de una escala visual analógica (EVA) de 0 (no diferencias) a 10 (muestras extremadamente diferentes) se muestran en la tabla 28. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre las características sensoriales de la fórmula activa y el placebo (test binomial de significancia estadística exacta bilateral 0.860; contraste de proporción del test 0.5).

Tabla 28. Test del triángulo: evaluación de las características sensoriales de la muestra considerada diferente por los voluntarios participantes.

Variable sensorial	Mediana	Rango
Olor	2.7	0-10
Textura	3.3	0-8
Sabor	4.59	0-10
Color	2.44	0-9

Figura 35. Imágenes de las fórmulas activo y placebo usadas para provocación oral a melocotón.



7.3. Población

Se seleccionaron 36 pacientes, la mayoría mujeres (66.6%), con una mediana de edad de 40 años (rango 18-54 años). De los 36 pacientes, a 16 se les realizó la prueba de exposición controlada (DBPCFC), a 9 la DBPCFC y un rubbing test y a 11 pacientes se les realizó únicamente rubbing test. Las características demográficas, analíticas y clínicas de los pacientes se muestran en la tabla 29.

Tabla 29. Características demográficas, analíticas y clínicas de la población a la que se les realizó prueba de provocación.

Paciente	Edad (años)	Género	Atopia	Sensibilización aeroalérgenos	LTP Prick (mm)	Melocotón Prick (mm)	tIgE (KU/L)	Melocotón sIgE KU/L	sIgE Pru p 3 CAP (KU/L)	Fenotipo melocotón	Última reacción/contacto melocotón	Reactividad clínica otros alimentos vegetales	Test Tolerancia
1	50	F	No	No	6x6/15x15	7x7/15x15	17.80	0.59	1.30	SAO	Infancia	CEFA UA/AE Nu + Ej+ OH CEFA UA/AE Al + Ej +OH UA/AE pipas	DBPC FC
2	51	F	RC	H, Gr	12x12/35x35	8x8/12x12	56.40	1.72	1.52	SAO	Edad adulta	ANF man UA/AE gr SAO frutos secos, rosáceas	DBPCFC, R
3	31	F	No	Pl, Art	6x6/10x10	8x8/15x15	37.80	4.17	2.43	UC, Evita	Edad adulta	ANF Tmate, Gui UA/AE Ca	DBPCFC, R
4	42	F	RC, DA	Gr	9x9/20x20	8x8/10x10	21.40	0.66	0.79	UC, CEFA (ANF + Ej + OH)	Edad adulta	ANF Ce SAO Al, ca	DBPCFC, R
5	45	F	No	OI	6x6/15x15	9x9/25x25	180	0.28	0.31	ANF	Edad adulta	CEFA ANF Al + Ej SAO Al	QOFC
6	36	M	RC	A, E, OI, Pl, Gr	10x10/25x25	15x15/20x20	1542	14.6	20.2	SAO	Infancia	Ninguno	DBPCFC
7	33	F	RC	Pl	10x5/10x10	20x10/30x30	83.20	8.27	10.30	SAO	Edad adulta	CEFA ANF Av + AINEs SAO pipas UA/AE ce, fr	QOFC
8	24	F	No	Pl, Art	9x9/20x20	6x6/20x20	277	53.60	23.40	SAO	Infancia	UA/AE me SAO man, uva, cir, ki, hi, ber, al, ca, mos	DBPCFC
9	37	F	AB, RC	A, E, OI, Gr, C	10x10/20x20	8x8/20x20	1194	28.40	29.9	UC, UA/AE	Infancia	CEFA ANF le + M CEFA ANF tmate + M UA/AE nec, pa, ca SAO ki, cir, hi	QOFC
10	18	M	AB, RC	A, E, OI, Pl	7x7/20x20	20x10/0x0	772	6.48	5.27	SAO	Adolescencia	UA/AE ca SAO uva, pl, pi, al, gui	QOFC
11	26	F	No	No	5x5/10x10	4x4/5x5	57.70	3.32	3.39	Evita	Edad adulta	CEFA ANF man + Ej + AINEs UA/AE le	DBPCFC, R
12	54	M	RC	Pl, Gr	7x7/25x25	8x8/20x20	334	7.93	28.90	UA/AE	Edad adulta	AU/AE uva, alb, ca SAO nu	DBPCFC
13	46	F	AB, RC,	A, E, H, OI, Pl, Pr, Art	13x6/20x20	10x10/25x25	2265	72.50	70.30	UC, SAO	Edad adulta	UA/AE av, ca, al, pipas GI: le, alt	DBPCFC, R

Resultados

Paciente	Edad (años)	Género	Atopia	Sensibilización aeroalérgenos	LTP Prick (mm)	Melocotón Prick (mm)	tIgE (KU/L)	Melocotón sIgE KU/L	sIgE Pru p 3 CAP (KU/L)	Fenotipo melocotón	Última reacción/contacto melocotón	Reactividad clínica otros alimentos vegetales	Test Tolerancia
			DA									SAO nu	
14	49	F	RC	Pl, Art	10x10/20x20	8x8/20x20	31.50	1.32	1.39	CEFA UA/AE mel+ Ej SAO mel	Adolescencia	ANF me CEFA UA/AE un + ex CEFA UA/AE le +ex + AINEs GI man SAO nu, av, al, pipas, cir	DBPCFC
15	45	M	RC	OI, Pl, Gr	12x8/20x20	3x3/10x10	23.70	3.82	5.43	SAO	Edad adulta	CEFA UA/AE frutos secos + s UA/AE man, uva SAO frutos secos, pa, ki, pl, mos, hi	DBPCFC
16	40	F	RC	A, OI, Pl, Gr, Pr, Art	11x11/15x15	6x6/10x10	678	1.30	0.90	UC, SAO	Adolescencia	CEFA ANF uva + OH GI man, le, z, tri SAO cir, nis, hi, me, al, ca, av, mos	DBPCFC, R
17	49	M	RC	Pr, Art	7x7/20x20	7x7/20x20	118	0.58	7.02	UC, ANF	Edad adulta	ANF man, av SAO nu, ca, mos, pipas, ber UC me, hi	DBPCFC, R
18	25	M	AB, RC	A, E, OI, Pl, Gr, C, Art	8x8/20x20	11x11/25x20	1280	23.40	0.35	SAO	UKN	SAO pa, man, pe, uva, cir, alb, nis, pl, pi, hi, nu, ca, len	DBPCFC
19	23	F	AB, RC	A, H, E, OI, Pl, Gr, C, Art	6x6/20x20	7x7/25x25	437	15.10	17.90	UC, ANF	Adolescencia	ANF pa SAO ce, me, nis, ca, jud UC man, pe, p, cir, alb, tmate, cal	DBPCFC, R
20	40	F	No	A, Pl, Gr	11x11/35x35	9x9/25x25	36	1.49	1.74	UA/AE	Adolescencia	ANF me UA/AE uva SAO pe, ki, nu, cal, jud CU man	DBPCFC
21	26	F	RC	Art	9x9/14x14	0x0/0x0	137	27.80	26.80	UA/AE	Adolescencia	ANF man, pi, nu, ca, av UA/AE uva, fram SAO ki, al GI me, pl, nis, cas, pipas, le, tmate, ap, alc, tri, len UC cal	DBPCFC
22	42	M	AB, RC	A, E, Pl, Gr, Pr, C, Art	13x13/30x30	10x10/20x20	122	2.93	2.92	SAO	Edad adulta	GI uva, ki, pi, tmate, le, gui, len, tri	DBPCFC

Resultados

Paciente	Edad (años)	Género	Atopia	Sensibilización aeroalérgenos	LTP Prick (mm)	Melocotón Prick (mm)	tIgE (KU/L)	Melocotón sIgE KU/L	sIgE Pru p 3 CAP (KU/L)	Fenotipo melocotón	Última reacción/contacto melocotón	Reactividad clínica otros alimentos vegetales	Test Tolerancia
												SAO alb, nec, hi, me, nu, ca, av, al, pipas, alc	
23	46	F	AB, RC, DA	A, E, Gr	6x6/20x20	9x9/25x25	123	2.80	2.14	UC, SAO	Infancia	UA/AE man, fr, cir SAO alb UC ki	DBPCFC, R
24	43	F	RC, DA	A, Ol, Pl, Gr, Ar	10x10/20x20	10x10/20x20	286	5.12	6.25	SAO	Infancia	GI me, pl, av, cas, le, tmate, cal, pat, tri, mos SAO uva, ki, pi, hi, pipas, alt, ber, alc	DBPCFC
25	34	F	DA	C	7x7/15x15	4x4/4x4	24.30	0.10	0.10	UA/AE	Edad adulta	Ninguno	DBPCFC
26	29	M	RC	A, Pl, Pr	6x6/20x20	5x5/10x10	73.80	7.10	9.52	UC, tolera pulpa	Infancia	Ninguno	R
27	50	M	RC	E, Pl, Gr, C	5x5/15x15	4x4/10x10	95.50	2.05	1.54	UC, tolera pulpa	Edad adulta	CEFA ANF le + AINES UA/AE hin SAO hi, pi, ca, al, av, ap, mos, alt UC nec, pa	R
28	47	F	RC, DA	A, Ol, Pl, Pr, Art	7x7/20x20	9x9/25x25	135	15	8.97	UC, tolera pulpa	Edad adulta	ANA nu UA/AE ki SAO uva, fram, hi, ca, av, cas, le, alc, ber	R
29	48	F	RC	Ol	7x7/20x20	6x6/20x20	294	2.27	2.10	UC, tolera pulpa	Infancia	UA/AE man	R
30	53	M	AB, RC	Ol, Pl, Pr	5x5/10x10	5x5/0x0	33.70	0.33	0.44	UC, tolera pulpa	Infancia	CEFA UA/AE me + E GI av, al SAO me, nu	R
31	49	F	AB, RC	D, Ol, Pl, Gr, Pr	5x5/15x15	9x9/25x25	80	6.68	7.26	UC, tolera pulpa	Adolescencia	ANF es, ca, av, pipas CEFA ANF nu + Ej CEFA ANF ca + Ej CEFA ANF av + Ej SAO uva, ki, pl, ce, gr, pi, nu, alc, ber	R
32	48	M	RC	E, Pl, Pr	7x7/20x20	7x7/20x20	237	7.09	8.96	UC, tolera pulpa	Adolescencia	ANF ca, al, chestnut SAO le, UC me	R
33	50	F	RC	Ol, C	9x9/30x30	9x9/30x30	87.80	0.54	0.66	UC, tolera pulpa	Infancia	GI len, pipas, alt, alc, ber SAO man, nu UC cas	R

Resultados

Paciente	Edad (años)	Género	Atopia	Sensibilización aeroalérgenos	LTP Prick (mm)	Melocotón Prick (mm)	tIgE (KU/L)	Melocotón sIgE KU/L	sIgE Pru p 3 CAP (KU/L)	Fenotipo melocotón	Última reacción/contacto melocotón	Reactividad clínica otros alimentos vegetales	Test Tolerancia
34	31	M	AB, RC	A, E, Ol, Pl, Gr, Art	12x12/20x20	18x18/25x25	228	0.96	1.22	UC, tolera pulpa	Infancia	SAO man, gui, al, pipas, ber	R
35	41	F	RC	A, Pl, Pr	6x6/30x30	9x9/40x40	1672	17.30	20.90	UC, tolera pulpa	Adolescencia	GI pl, gui, alt, cas SAO nu, ca, av	R
36	40	F	AB, RC, DA	A, E, Ol, Pl	7x7/9x9	10x5/20x25	143	2.55	2.33	UC, tolera pulpa	Infancia	ANA mang GI le SAO ki, me, pi, nu UC alb	R

Abreviaciones: Género: F: femenino, M: masculino; Atopia: AB: asma bronquial; RC: rinoconjuntivitis, DA: dermatitis atópica; Sensibilización aeroalérgenos: A: ácaros; E: epitelios; H: hongos; Art: Artemisia vulgaris; C: ciprés; Gr: gramíneas; Ol: olivo; Pr: Parietaria Judaica; Pl: plátano de sombra; tIgE: IgE total; sIgE: IgE específica; Fenotipo melocotón: UC: urticaria de contacto; SAO: síndrome de alergia oral; UA/AE: urticaria aguda/angioedema; GI: clínica gastrointestinal; ANF: anafilaxia; CEFA: alergia alimentaria potenciada por cofactor; Evita: nunca síntomas, Evita melocotón desde el diagnóstico; Cofactores: Ej: ejercicio; OH: alcohol; AINEs: antiinflamatorios no esteroideos; M: menstruación; E: estrés; Alimentos: Al: almendra; Alb: albaricoque; Alc: alcachofa; Alt: altramuz; Ap: apío; Av: avellana; Ber: berenjena; Ca: cacahuete; Cal: calabacín; Ce: cereza; Cir: ciruela; Es: espárrago; Fr: fresas; Gr: granada; Gui: guisante; Hi: higo; Hin: hinojo; Jud: judía verde; Ki: kiwi; Le: lechuga; Len: lentejas; Man: manzana; Mang: mango; Me: melon; Mel: melocotón; Mos: mostaza; Nis: nispero; Nec: nectarine; Nu: nuez; Pa: paraguay; Pat: patata; Pe: pera; Pi: piña; Pl: plátano; Rosáceas: frutas rosáceas; Tmate: tomate; Tri: trigo; Z: zanahoria; Prueba de provocación: DBPCFC: doble ciego controlado con placebo; COFC: casi provocación oral abierta; R: rubbing test con piel de melocotón; UKN: desconocido.

La mayoría de los pacientes (83.3%) presentaba otras enfermedades alérgicas concomitantes, principalmente rinitis (29/36), seguido de asma (11/36) y dermatitis atópica (7/36). Al menos el 95% de la población estaba sensibilizada a alérgenos respiratorios, la mayoría de ellos polisensibilizados. Algunos pacientes habían estado evitando el melocotón desde la infancia (33.3%) o la adolescencia (25%), pero la última reacción o contacto con el melocotón había ocurrido en la edad adulta en más de un tercio de los pacientes a los que se realizó una prueba de exposición oral (38.8%).

La mediana de la pápula del SPT a LTP fue de 7mm (RIQ 4mm) y de 8mm (RIQ 3mm) a extracto de melocotón. La mediana de los valores de IgE total e IgE específica a Pru p 3 y melocotón fueron 129 kU/l (RIQ 267.3 kU/l), 3.15 kU/l (RIQ 8.8 kU/l) y 3.57 kU/l (RIQ 11.7), respectivamente. En cuanto a las manifestaciones clínicas, el SAO (38.8%) y la urticaria de contacto con tolerancia a la pulpa (30.5%) fueron los síntomas más frecuentemente referidos tras la ingesta de melocotón. Por el contrario, si consideramos la reacción más grave presentada con cualquier alimento vegetal, la clínica más frecuente fueron las reacciones sistémicas, como la ANF (36.11%) y la UA/AE 30.5%, seguidas de síntomas GI (16.66%) y SAO (13.8%). En 11 casos (11/36) los síntomas fueron potenciados por la presencia de cofactores (CEFA).

7.3. Pruebas de exposición oral con melocotón

Se realizaron finalmente un total de 21 DBPCFC y 4 QOFC, de las que 14 se llevaron a cabo en el Hospital de Día de Alergia y 7 en las Consultas Externas de Alergia. Los síntomas presentados durante la reacción, la dosis umbral, la dosis acumulativa y los resultados de la prueba se muestran en la tabla 30.

Tabla 30. Resultados de las provocaciones orales.

	Provocación con fórmula activa							Provocación con placebo				Resultado final
	Dosis (dosis administrada/dosis acumulada (µg))							Resultado	Síntomas	Dosis umbral	Resultado	
	1 (0.76/0.76µg)	2 (2.29/3.05µg)	3 (6.93/9.98µg)	4 (20.86/30.84µg)	5 (62.68/93.52µg)	6 (188.10/281.19µg)	7 (564.29/845.91µg)					
1	N	N	FEVA 4 PEVA 3 E ≤ 50%					Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
2	N	ON, RN, PP EVA 4, SAO EVA 4						Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
3	N	N	N	N	N	N	N	Negativo	N	7	Negativo	No Alergia alimentaria
4	FEVA 2	N	Dolor torácico EVA 1	N	N	DA EVA 6, NA, V (1)		Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
5	SAO EVA 3	SAO EVA 5, FEVA 3, PO EVA 2, PEVA 5, U (1)						Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
6	N	N	N	N	N	N	N	Negativo	N	7	Negativo	No Alergia alimentaria
7	SAO EVA 1	SAO EVA 1	N	SAO EVA 1	N	FEVA 3, DA EVA 4, NA		Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
8	N	N	N	SAO EVA 2	N	N	N	Negativo	N	7	Negativo	No Alergia alimentaria
9	N	N	N	SAO EVA 6	FEVA 3, E ≤ 50%			Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
10	PEVA 5, Es, ON, PN EVA 5, RO, FEVA 7							Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
11	N	N	N	N	N	SAO EVA 0.5, PP EVA 0.5	N	Negativo	Dosis 4 SAO EVA 0.5	7	Negativo	No Alergia alimentaria
12	N	N	PEVA 2	N	U (3), RO, FEVA 3			Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
13	N	N	N	N	N	N	N	Negativo	N	7	Negativo	No Alergia alimentaria
14	N	N	N	N	N	N	PEVA 2	Negativo	PEVA 3, SAO EVA 2, Rot EVA 1	6	Positivo	No Alergia alimentaria
15	PN EVA 1,	N	N	PCC EVA 1,				Positivo	N	7	Negativo	Alergia

Resultados

	Provocación con fórmula activa							Provocación con placebo				Resultado final
	Dosis (dosis administrada/dosis acumulada (µg))							Resultado	Síntomas	Dosis umbral	Resultado	
	1 (0.76/0.76µg)	2 (2.29/3.05µg)	3 (6.93/9.98µg)	4 (20.86/30.84µg)	5 (62.68/93.52µg)	6 (188.10/281.19µg)	7 (564.29/845.91µg)					
	PCC EVA 1			RO, ON								alimentaria
16	N	N	N	N	N	N	FEVA 3	Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
17	N	N	N	N	SAO EVA 1	SAO EVA 2	SAO EVA 2	Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
18	N	N	N	N	N	N	DA EVA 3	Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
19	SAO EVA 1 FEVA 2	N	SAO EVA 7 FEVA 7					Positivo	P EVA 4 (en 2 dosis consecutivas)	5	Positivo	Alergia alimentaria
20	R EVA 2	N	N	N	FEVA 7, T			Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
21	DA EVA 1	N	N	N	N	FEVA 2	FEVA 1, DA EVA 1	Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
22	N	N	SAO EVA 1	N	N	SAO EVA 3, FEVA 2, DA EVA 1		Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
23	FEVA 5	N	N	FEVA 2				Positivo	P EVA 3 (en 2 dosis separadas)	6	Positivo	Alergia alimentaria
24	SAO EVA 7	N	N	SAO EVA 1	N	Er (6), S EVA 9		Positivo	N	7	Negativo	Alergia alimentaria
25	N	SAO EVA 1	SAO EVA 1	N	N	N	N	Negativo	P EVA 2	7	Negativo	No Alergia alimentaria

Abreviaciones: DA: dolor abdominal; E: eritema; Es: estornudos; Er: eructos (número de eructos); EVA: escala visual analógica; F: sensación ocupación faríngea; N: no síntomas; NA: náuseas; SAO: síndrome de alergia oral; ON: obstrucción nasal; P: prurito cutáneo; PCC: prurito cuero cabelludo; PN: prurito nasal; PP: prurito palmar; PO: prurito ocular; Pot: prurito ótico; R: rascado; RN: rascado nariz; RO: rascado ojos; S: sequedad oral; T: tos; U: urticaria (número de habones); V: vómito (número de vómitos).

Se diagnosticó “Alergia alimentaria Confirmada” a 18 pacientes (72%), “No alergia alimentaria” a 7 pacientes (28%). Entre los pacientes con provocación oral a melocotón positiva (18 en total), las dosis 6 y 7, con dosis acumuladas de 281.19 μ g y 845.91 μ g de Pru p 3 respectivamente, fueron las dosis umbral más frecuentes alcanzadas (22.2% cada una). La dosis 5 (dosis acumulativa 93.52 μ g de Pru p 3) fue alcanzada por 3 pacientes (16.6%), mientras que las dosis 4, 3 y 2 fueron las dosis umbral responsables de la positividad de la prueba en 2 casos cada una, y sólo en un paciente la provocación fue positiva con la primera dosis (0.76 μ g de Pru p 3).

Los síntomas subjetivos más frecuentes que referían los pacientes con la fórmula activa fueron SAO (26.3%), sensación de ocupación faríngea (22.4%), prurito en cualquier localización (15.8%) y dolor abdominal (7.9%). Entre los signos presentados por los pacientes durante la provocación oral con la fórmula activa, la obstrucción nasal y el frotamiento ocular fueron los más frecuentes (ambos 3.9%), seguidos de urticaria aguda (menos de tres habones) y eritema cutáneo que afectaba a menos del 50% de la superficie corporal (ambos 2.6%). Los síntomas menos frecuentes presentados por los pacientes fueron tos, náuseas, vómitos y dolor retroesternal. La mayoría de los pacientes no requirieron tratamiento sintomático, excepto en 5 pacientes a los que se les administró antihistamínicos (orales o intravenosos) y un antiemético endovenoso por síntomas gastrointestinales aislados. Ningún paciente requirió la administración de adrenalina. Cinco pacientes refirieron síntomas subjetivos con la fórmula placebo siendo el más frecuente el prurito cutáneo sin lesiones cutáneas objetivables (80%) en cualquier localización, seguido de prurito intraoral (20%). Ninguno de los pacientes presentó síntomas objetivos con la fórmula placebo. No se registraron reacciones retardadas con fórmula activa ni placebo.



Figura 36. Signos presentados por una paciente durante la provocación oral con fórmula activa (imágenes tomadas para publicación con el previo consentimiento de la paciente).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el resultado final de la prueba de exposición oral con melocotón y la mediana del tamaño de la pápula del SPT con LTP ni con extracto de melocotón, ni con los niveles de IgE específica a Pru p 3, melocotón o sus ratios sobre la IgE total.

La alergia alimentaria se confirmó mediante DBPCFC en todos aquellos pacientes que referían reacción anafiláctica tras la ingesta de melocotón (4/4), 71% (10/14) de los pacientes que referían SAO y el 80% de los que referían UA/AE (4/5). Por el contrario, no se confirmó alergia alimentaria en los dos pacientes que evitaban melocotón. Además, casi el 30% de los pacientes (7/25) con resultado final en la provocación de “No alergia alimentaria” habían presentado reacciones alérgicas con otros alimentos vegetales distintos al melocotón, 5 de ellos reacciones sistémicas (3 UA/AE y 2 ANF). En 4 de 5 de estos pacientes, la sensibilización a otros alérgenos alimentarios distintos de LTP se descartó mediante el InmunoCAP ISAC®. A todos los pacientes se les realizó un seguimiento a los 3 meses de la provocación oral. Entre los pacientes con “Alergia alimentaria confirmada”, todos seguían una dieta estricta de evitación de melocotón, 2 de 18 iniciaron una pauta oral de desensibilización y un paciente inició inmunoterapia específica sublingual con extracto de melocotón cuantificado en Pru p 3.

8. Test de frotamiento o “Rubbing test” con piel de melocotón

Se realizó el rubbing test con piel de melocotón a 20 pacientes que referían urticaria de contacto con la piel de melocotón, en su mayoría mujeres (70%) con una mediana de edad de 42 años (rango 23-53 años). Al menos la mitad de los pacientes (11/20) toleraban la pulpa del melocotón, mientras que un 35% (7/20) presentaban síntomas tras la ingesta la pulpa y un 10% (2/20) la evitaban, aunque nunca habían presentado síntomas. En el 55% de los pacientes la urticaria de contacto había aparecido antes que los síntomas en la cavidad oral o sistémicos con la pulpa de melocotón u otro alimento vegetal. El rubbing test fue positivo en el 85% de los casos, principalmente (17/20) a los 15 minutos. Sólo en tres casos la prueba fue positiva después de los 15 minutos (en 2 casos a los 30 minutos y sólo un paciente (5%) presentó lesiones cutáneas después de los 45 minutos). Tres pacientes (15%) presentaron dermatografismo. Entre los 10 controles atópicos a los que se le realizó el rubbing test, resultó negativo en el 80% de los casos, y 2 pacientes (20%) presentaron dermatografismo, previamente conocido.



Figura 37. Rubbing test a piel de melocotón positivo (imágenes tomadas para publicación con el previo consentimiento del paciente)



Figura 38. Rubbing test a piel de melocotón con dermografismo (imágenes tomadas para publicación con el previo consentimiento del paciente)

DISCUSIÓN

La alergia alimentaria por sensibilización a LTP representa una patología muy heterogénea con una gran variabilidad tanto en su expresión clínica, que va desde sensibilizaciones asintomáticas o reacciones leves hasta reacciones alérgicas graves, como en los perfiles de reconocimiento molecular. Con el objetivo de identificar patrones comunes en su expresión clínica y posibles biomarcadores analíticos y/o moleculares que puedan ayudar a identificar los diferentes patrones de expresión clínica, se ha llevado a cabo el presente trabajo en el que se ha analizado una muestra de 306 adultos diagnosticados de alergia alimentaria por sensibilización a LTP y controlados en nuestro hospital que demuestra la existencia de fenotipos o agrupaciones en la expresión clínica y molecular de dicho tipo de alergia.

Las características basales de nuestra población se caracterizaron por un predominio de sexo femenino con una mediana de edad de 38 años, antecedentes personales de atopia, en su mayoría rinoconjuntivitis, y polisensibilización a neumalérgenos, siendo los pólenes más frecuentes el de plátano de sombra y de artemisia. Estos resultados están en consonancia con los publicados por Basagaña y colaboradores (265) y Pascal y colaboradores (233) en su serie de pacientes con alergia alimentaria por sensibilización a LTP. En las cohorte italianas estudiada por Scala y colaboradores (245) y Asero y colaboradores (266) también había predominio del sexo femenino con una edad media ligeramente inferior, aunque la condición de atopia concomitante y la sensibilización a neumalérgenos no fueron estudiadas.

En este trabajo se han analizado un total de 2138 reacciones alérgicas por alimentos vegetales referidas por los pacientes de la muestra. Debido a que la gran mayoría presentaban clínica con dos o más alimentos vegetales distintos taxonómicamente, definido previamente como síndrome LTP, y un fenotipo mixto con dos o más manifestaciones clínicas de diferente grado de gravedad, se procedió a un análisis por separado de las reacciones alérgicas teniendo en cuenta los alimentos más frecuentemente implicados, la reacción alérgica más grave presentada, las reacciones potenciadas por cofactor y la primera reacción con alimento vegetal.

De forma global los alimentos más frecuentemente implicados sin tener en cuenta la gravedad de la reacción fueron el melocotón, la nuez, el cacahuete, la avellana, la manzana, el melón y la lechuga. Resultados similares obtuvieron Asero y colaboradores (266) en un estudio reciente en pacientes italianos alérgicos a LTP en el que los alimentos más frecuentemente implicados en las reacciones fueron los pertenecientes a la familia de las rosáceas/prunoideas, frutos secos, cacahuete y tomate. De nuevo, el melocotón, la lechuga, la nuez, la avellana, el cacahuete y la judía verde fueron los principales alimentos implicados en las reacciones, de mayor a menor frecuencia, en la serie de pacientes alérgicos a LTP procedentes del área metropolitana de Barcelona descrita por Pascal y colaboradores (233). Sin embargo, si tenemos

en cuenta los alimentos más frecuentemente implicados según la gravedad de las reacciones desencadenadas, el melocotón fue el que con más frecuencia produjo urticaria de contacto y urticaria/angioedema, mientras que la nuez fue el alimento más implicado en síndrome de alergia oral y en reacciones anafilácticas. La lechuga fue el alimento que con más frecuencia produjo clínica gastrointestinal. Estas asociaciones han sido observadas previamente por otros grupos, como en la cohorte de pacientes alérgicos a LTP estudiada por Asero (266) en la que el melocotón fue el alimento que más causaba urticaria de contacto. Por otra parte, la nuez junto con otros frutos secos están considerados causa frecuente de reacciones alérgicas graves (267) como describieron Pastorello y colaboradores en su cohorte italiana de 46 pacientes alérgicos a nuez siendo la LTP el principal alérgeno identificado. En la serie de Pascal y colaboradores hasta en un 20% de las anafilaxias sin cofactor, la nuez fue identificada por los pacientes como el alimento responsable. La clínica gastrointestinal como síntoma aislado (náuseas, dispepsia, vómitos y diarrea) tras la ingesta de alimentos vegetales que contienen LTP ha sido previamente descrita (12), y tras analizar la literatura disponible, podemos observar que la lechuga es un alimento relevante en este tipo de alergia. Como en el presente trabajo en el que la lechuga fue el alimento más frecuentemente responsable de la clínica gastrointestinal, y en nuestra serie de 30 pacientes alérgicos a la lechuga (205) en la que el 10% sólo manifestó molestias gastrointestinales. Por otra parte, en la serie de alérgicos a LTP de Pascal y colaboradores (233) hasta un 55.5% de los pacientes refirieron clínica gastrointestinal, identificando la lechuga como alimento responsable en 10 de 25 pacientes (40%).

La mayoría de nuestros pacientes referían no tolerar el melocotón. Un dato interesante respecto a la clínica autoreportada con melocotón fue que el porcentaje de pacientes que refería alergia por contacto con la piel del melocotón, pero toleraban la pulpa fue igual a los que referían tolerancia al melocotón en su totalidad (piel y pulpa). Este hecho apoya el concepto de que la LTP del melocotón presenta capacidad para sensibilizar por vía cutánea tal y como han sugerido autores como Asero (12) y Egger (169), y recientemente ha sido demostrado en un modelo murino por Tordesillas y colaboradores (180).

En nuestra población la manifestación clínica más frecuente de forma global fue el síndrome de alergia oral, coincidiendo con lo descrito por Pascal y colaboradores (233) y por Basagaña y colaboradores (265) en sus series de pacientes sensibilizados a LTP procedentes de la misma área geográfica, y por Asero y colaboradores (266) en su cohorte italiana de pacientes alérgicos a LTP, así como en una revisión reciente sobre el síndrome LTP publicada por Asero (12). Cuando se tuvo en cuenta la reacción más grave presentada con cualquier alimento vegetal, se observó que un 63% de los pacientes habían presentado al menos una reacción anafiláctica con la ingesta de un alimento vegetal y que los alimentos vegetales diferentes al melocotón estaban principalmente implicados en reacciones graves, mientras que el melocotón

mayoritariamente se asociaba a reacciones leves, seguramente porque los pacientes lo evitaban tras una primera reacción leve. Otra posible explicación a este hecho es que Pru p 3, la LTP del melocotón, actuaría como sensibilizante primario desempeñando un papel inmunodominante sobre el resto de LTPs, y por fenómenos de reactividad cruzada con las LTPs de otros alimentos vegetales (200)(12) ampliaría el espectro de sensibilización y reactividad clínica. Sin embargo, los hallazgos obtenidos en este estudio podrían sugerir que el melocotón, a pesar de actuar como un alérgeno inmunodominante sobre otras LTPs, podría no ser capaz de desencadenar eficientemente reactividad clínica en estos pacientes alérgicos a LTP que presentan síntomas predominantemente con otros alimentos vegetales ya que hasta el 30% de nuestros pacientes diagnosticados tras la prueba de exposición oral a melocotón como “no alergia alimentaria” habían presentado previamente reacciones sistémicas con otros alimentos vegetales, aunque la mayoría estaban monosensibilizados a LTP. No obstante, hay que tener en cuenta que como el diagnóstico molecular realizado estaba limitado a los alérgenos contenidos en el microarray comercial ISAC 112®, no podemos valorar el posible papel patogénico que puede desempeñar una cosensibilización a otros alérgenos vegetales como las TLPs (113)(119) o la pemaclina de melocotón (268)(269)(270) que no han podido ser adecuadamente evaluados en estos pacientes “monosensibilizados a LTP”.

Como se ha comentado en la introducción, la gravedad de las reacciones alérgicas viene determinada por factores dependientes del huésped, intrínsecos y extrínsecos, mecanismos compensatorios y relacionados con el alérgeno como la afinidad y avidéz de la unión alérgeno-IgE, el repertorio de epítomos, la neutralización de la IgE y su biodisponibilidad en el organismo (36), por lo que serían necesarios estudios adicionales para investigar los factores implicados en la capacidad de Pru p 3 para inducir reactividad clínica grave. Además, debemos resaltar que la gravedad de la clínica presentada en el momento del estudio se correlacionó de forma significativa con la gravedad de la clínica de la primera reacción con alimento vegetal, sin tener en cuenta el alimento vegetal que desencadenó la primera reacción. Esto hace pensar que la gravedad del fenotipo de los pacientes que progresan en su alergia por LTP, como los que presentan síndrome LTP, podría venir determinada por la gravedad de la primera reacción, siendo de gran utilidad en la práctica clínica del manejo de este tipo de alergia. Aunque por el momento no hay más estudios al respecto disponibles para contrastar resultados ya que en el estudio longitudinal de una cohorte italiana de pacientes alérgicos a LTP publicado por Asero (266) no hay datos referentes a la primera reacción alérgica.

Debido a que con frecuencia se ha asociado una mayor proporción de reacciones exacerbadas por cofactor en los pacientes con síndrome LTP (32)(233)(12), nos propusimos analizar el número de reacciones en las que había un cofactor implicado. En total los pacientes estudiados habían presentado 165 reacciones alérgicas por alimentos vegetales exacerbadas por

cofactor (CEFA), siendo la presentación clínica mayoritaria la anafilaxia, lo que está en consonancia con los resultados descritos por nuestro grupo en 2012 (32) sobre una población de 74 pacientes con CEFA y los publicados por Pascal y colaboradores (233) y Basagaña y colaboradores (265) en sus respectivas poblaciones de pacientes con alergia alimentaria por sensibilización a LTP procedentes de la misma área geográfica que el presente estudio. Respecto al cofactor más implicado en estas reacciones, en el presente trabajo observamos que el ejercicio fue el cofactor más frecuente, mientras que tanto en nuestra serie previa (32) como en la serie de pacientes con síndrome LTP descrito por Pascal y colaboradores (233), los AINES fueron los cofactores más frecuentemente asociados con las reacciones potenciadas por cofactor. Sin embargo, este dato no fue analizado en la población de Basagaña y colaboradores (265). En un estudio más reciente realizado en Holanda por Versluis y colaboradores (271) sobre el papel de los cofactores en pacientes con alergia alimentaria confirmada, el ejercicio fue también el cofactor más implicado, aunque no se tuvo en cuenta en la selección de pacientes si estaban sensibilizados a LTP. Uno de los posibles motivos por los que en el presente estudio el ejercicio ha sido el cofactor más frecuentemente implicado, frente a los AINES en otros estudios realizados previamente, podría ser el cambio en los hábitos de vida de la población actual hacia un estilo de vida más saludable que incluye el ejercicio ligado a una dieta más sana con mayor ingesta de frutas y verduras, lo que además podría contribuir a su vez al aumento de la frecuencia de este tipo de alergia alimentaria (12). La lechuga destaca como el alimento implicado en mayor frecuencia en las reacciones CEFA en nuestra serie, lo que ya se había venido observando tanto previamente por nuestro grupo, cuando describimos que la lechuga estaba implicada en el 43% de las reacciones anafilácticas inducidas por cofactores (32), como por el grupo del Hospital Clínic de Barcelona (233). Recientemente, pudimos estudiar a una población de 30 pacientes con alergia a lechuga diagnosticados en nuestro centro (205) en el que observamos que en el 43% de las reacciones anafilácticas inducidas por cofactores estaba implicada la lechuga, y el ejercicio era el cofactor más frecuente. El estudio de una cohorte italiana (240) de 82 pacientes sensibilizados a LTP que habían experimentado al menos un episodio de anafilaxia por alimentos exacerbada o inducida por ejercicio reveló que el alimento más frecuente implicado fue el tomate mientras que la lechuga sólo estuvo presente en el 4% de las reacciones. Todo ello resalta la influencia de los hábitos alimentarios y localización geográfica en las características de la alergia a LTP (12). Otro aspecto a tener en cuenta es que normalmente la lechuga no se come aislada, sino en forma de ensalada junto con otros alimentos vegetales como el tomate, lo que podría dificultar la identificación del alimento culpable si el paciente está sensibilizado a varios alimentos implicados en la reacción y no ha vuelto a ingerir ninguno de ellos tras la reacción, o que se tratara de un efecto sumatorio entre los alérgenos de los alimentos necesario para alcanzar el umbral para generar la reacción alérgica (33)(272), lo que estaría relacionado con la cantidad de alimento necesaria para desencadenar la reacción. En

su estudio en pacientes con anafilaxia por trigo inducida por ejercicio (WDEIA), Brockow y colaboradores (273) demostraron que la cantidad de alimento ingerida es importante para que se desencadene la reacción alérgica, de forma que mayor cantidad de alimento, en este caso gluten, podía desencadenar la misma reacción que referían los pacientes en ausencia del ejercicio.

Actualmente se considera que los cofactores están implicados hasta en el 30% de las anafilaxias inducidas por alimentos (34) y que pueden desencadenar reacciones alérgicas que no se producirían en su presencia, como si de un mecanismo “on/off” se tratase como pueden modular la gravedad de la reacción dando lugar a reacciones alérgicas más graves en su presencia (233)(272)(34). Los mecanismos identificados hasta la fecha en estos procesos son el aumento de la permeabilidad intestinal y el aumento de la activación celular (33)(272)(34), como en el estudio realizado por Pascal y colaboradores (274) que demuestra que los AINEs potencian la activación de los basófilos a través de un mecanismo mediado por IgE en pacientes con anafilaxia inducida por alimentos vegetales por sensibilización a Pru p 3 y potenciada por AINEs. Una de las entidades mejor estudiadas es la anafilaxia por ingesta de trigo dependiente de ejercicio (del inglés, wheat-dependent exercise induced anaphylaxis (WDEIA)) (275)(276), que sugiere una fuerte asociación entre el trigo y el ejercicio en desencadenar anafilaxia. Un análisis más detallado de la alergia por alimentos vegetales exacerbada por cofactor en nuestra población revela la asociación de determinados alimentos con un cofactor y/o alimento concreto, si bien dicha asociación es puramente descriptiva ya que serían necesarios estudios adicionales para poder extrapolarla a otras poblaciones de características similares. Entre ellos cabe destacar el caso de la lechuga que típicamente desencadena anafilaxia, como también la manzana, el melocotón, el tomate, la nuez y el cacahuete; mientras que por el contrario los guisantes, las lentejas y la judía verde en presencia de cofactores desencadenan con mayor frecuencia urticaria aguda/angioedema y alimentos como el trigo, además de producir anafilaxia y urticaria/angioedema, también precisó de la presencia de cofactor para desencadenar clínica leve como síndrome de alergia oral. La clínica gastrointestinal, por el contrario, no siguió un patrón definido en nuestra población, sino que sólo se produjo asociada a cofactores en dos ocasiones únicamente y con alimentos distintos: cacahuete y lechuga. En el presente estudio hay alimentos que sólo se han asociado a un determinado cofactor para desencadenar una reacción alérgica como es el caso de la alcachofa, el calabacín, los espárragos, los guisantes, la pera, el plátano, la ciruela, la nectarina, la granada y el níspero que sólo se asociaron al ejercicio; mientras que las frambuesas al alcohol, y el altramuza y kiwi se asociaron a los AINEs. Sin embargo, el número de pacientes sensibilizados a éstos últimos era demasiado bajo como para poder sacar conclusiones al respecto y se deberían realizar estudios más amplios para confirmar la asociación. Por su parte el melón necesitó la combinación de varios cofactores para poder desencadenar una reacción alérgica. El resto de alimentos vegetales reportados desencadenaron

reacciones alérgicas con los distintos cofactores sin presentar una asociación definida. Cabe tener en cuenta que en muchos de los casos de alergia potenciada por cofactor analizados en nuestra serie el/la paciente atribuía la reacción a un único alimento vegetal, aunque no podemos descartar que en realidad estuvieran implicados varios alimentos vegetales.

Cuando se interpreta el resultado de una prueba de exposición oral a alimentos (60) se debe de tener en cuenta la implicación de los cofactores en las reacciones alérgicas producidas por alimentos, ya que si la presencia del cofactor es necesaria para desencadenar los síntomas (12), la realización de una prueba de exposición oral evitando dichos cofactores pueden dar lugar a falsos negativos. En el presente trabajo hemos descartado esta posibilidad porque ninguno de los pacientes a los que se les realizó una prueba de exposición oral y referían previamente reacciones alérgicas potenciadas por cofactor presentaron una prueba negativa. Sí que pudimos objetivar que los síntomas que experimentaron durante la prueba de exposición controlada fueron más leves que los que referían haber presentado previamente asociando el cofactor, lo que apoya el fenómeno de disminución del umbral de tolerancia al alérgeno en presencia de cofactores, tal como se ha descrito (233)(272)(34).

Se considera el melocotón como el alimento responsable con más frecuencia de la sensibilización a LTP en nuestra área (233) lo que pudimos confirmar en nuestro estudio, en el que observamos que el melocotón era el alimento con más frecuencia responsable de la primera manifestación de alergia por alimentos vegetales tanto en niños como en adolescentes, con predominio de clínica leve como urticaria de contacto y síndrome de alergia oral, mientras que la frecuencia de implicación del melocotón como alimento inicial disminuía con la edad. En la edad adulta era mucho más frecuente que debutaran con un alimento vegetal distinto al melocotón y con clínica grave. En este caso, los niveles séricos de IgE específica a Pru p 3 fueron casi del doble respecto a aquellos pacientes en los que el debut de la alergia alimentaria con melocotón. Una posible explicación a este hecho podría ser que en los individuos más jóvenes (cuya alergia alimentaria debuta con melocotón) la inmadurez de la mucosa gastrointestinal podría favorecer la sensibilización a Pru p 3 (248) y con la conducta de evitación los niveles séricos de IgE disminuirían en el tiempo por el contrario en los individuos cuya alergia alimentaria debutó en la edad adulta estarían previamente sensibilizados a dicho alimento sin presentar clínica con la ingesta continua de melocotón lo que podría haber inducido tolerancia oral a este alimento, además de provocar un incremento de los niveles séricos de IgE (y otras inmunoglobulinas como IgG4) por el contacto repetido.

Todo ello sugiere que una historia clínica detallada sobre cómo debutó la alergia alimentaria por alimentos vegetales por sensibilización a LTP nos aporta información sobre cómo evolucionará la alergia en el paciente. Además, los resultados obtenidos tras el análisis

detallado de las reacciones alérgicas presentadas por nuestra población nos llevan a plantear si a los individuos con alergia alimentaria por LTP se les debería recomendar la evitación de melocotón, nuez y lechuga por ser los alimentos más frecuentemente implicados en las reacciones en el caso de estar sensibilizados, pero sin haber presentado previamente clínica con alguno de ellos. También nos planteamos si se debería extender la recomendación de evitar cofactores en las horas previas y posteriores a la ingesta de lechuga en pacientes sensibilizados a lechuga y LTP, aunque no hayan presentado clínica con este alimento en el momento del diagnóstico e independientemente de si han presentado previamente reacciones alérgicas potencias por cofactor o no. En una publicación reciente, Asero y colaboradores (266) proponen que se debería considerar la exclusión individualizada de la dieta en pacientes con alergia a LTP al inicio del diagnóstico de frutas rosáceas y de la familia de las prunonidae, frutos secos y cacahuete al ser los alimentos más frecuentes en dicha alergia alimentaria.

Dada la gran variabilidad en el perfil de reconocimiento de la IgE a fuentes alérgicas completas y alérgenos moleculares individuales, así como en la reactividad cruzada que presentan los pacientes que padecen la alergia alimentaria por sensibilización a LTP llevamos a cabo un detallado estudio in vitro con el fin de identificar características analíticas que pudieran diferenciar los individuos asintomáticos de los sintomáticos y los distintos grados de gravedad de las manifestaciones clínicas de los pacientes sintomáticos. En cuanto a los valores de la IgE específica, los alimentos con mayores niveles fueron el melocotón, la pera, la ciruela, la manzana, la nuez, las cerezas, la avellana y el albaricoque. Datos similares obtuvo Asero (277) en un estudio de pacientes alérgicos a melocotón cuyas IgE específicas seguían un orden jerárquico, que no se relacionaba necesariamente con la clínica: melocotón, manzana, avellana, almendra, cacahuete, lentejas, maíz, soja, tomate, sésamo, mostaza, melón, kiwi y apio, teniendo en cuenta que sólo testó la IgE específica de los alimentos citados. El hecho de que los alimentos con niveles más elevados de IgE no fueran necesariamente los que inducían clínica puede obedecer bien a que los extractos alérgicos sean de mayor calidad y contengan una mayor cantidad de LTP o al hecho de que no hay una correlación lineal entre los valores de IgE específica y las manifestaciones clínicas. Aunque Pastorello y colaboradores (250) describieron en su estudio que al diagnóstico los valores de IgE específica a rPru p 3 determinada mediante ImmunoCAP fueron mayores conforme menor era la edad de inicio de alergia a melocotón, en el presente trabajo no encontramos asociaciones significativas entre la edad de inicio de la alergia alimentaria con la ratio de IgE específica Pru p 3 sobre la IgE total de la clínica.

Respecto al perfil de sensibilización a las distintas LTPs, Pru p 3, la LTP del melocotón fue la más frecuentemente reconocida por los pacientes, seguida de la LTP de nuez (Jug r 3), cacahuete (Ara h 9), polen de plátano de sombra (Pla a 3), polen de artemisia (Art v 3), avellana (Cor a 8) y polen de olivo (Ole e 7). En las poblaciones estudiadas por Pascal y colaboradores

(233), Basagaña y colaboradores (265) y Scala y colaboradores (240), Pru p 3 también fue la LTP más frecuentemente reconocida por los pacientes, aunque con variaciones en el orden de reconocimiento del resto de LTPs. Es importante resaltar que tras el análisis de los valores cuantitativos categorizados para cada una de las LTP pudimos comprobar que entre el 10 y el 17% de los pacientes reconocían las distintas LTPs con valores por debajo de 0.3 ISU, que es el punto de corte establecido por el fabricante para ser considerado como positivo. Este hallazgo confirma nuestra apreciación derivada del manejo diario de que algunos pacientes que sufren este tipo de alergia presentan clínica con alimentos vegetales con valores de LTPs menores a 0.3 ISU siendo considerados por nuestro grupo como un diagnóstico positivo de alergia por sensibilización a LTP. Además, es la razón por la que en el presente estudio se consideró como criterio de inclusión valores de IgE específica a cualquier LTP mediante InmunoCAP ISAC® igual o mayores a 0.1 ISU. Este hecho también fue reportado por el grupo de Pascal y colaboradores (278) en su cohorte de 42 pacientes con alergia a LTP y que presentaban manifestaciones clínicas desde leve a graves con valores de IgE específica a Pru p 3 determinada mediante InmunoCAP de 0.1 a 0.35Ku/L.

Los valores de la IgE específica a Pru p 3 han sido estudiados como posible biomarcador de gravedad de la clínica en distintos estudios. Uasuf y colaboradores (249) estudiaron el punto de corte de los niveles de LTP que discriminaban entre población sintomática y asintomática en pacientes con sensibilización a LTP del sur de Italia describiendo que un nivel de Pru p 3 por encima de 2.87 kUA/L resultaba ser el mejor valor discriminativo entre pacientes sintomáticos y asintomáticos mientras que 10.2 kUA/L fue el valor que mejor discriminaba entre reacciones graves y no graves, mientras que no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de sIgE Pru p 3, la presencia de síntomas y la gravedad de la clínica en los pacientes del norte de Italia. La comparación del perfil de sensibilización en los pacientes de este estudio reveló que la diferencia en los valores de Pru p 3 fue significativamente mayor en individuos sintomáticos frente a los asintomáticos, aunque no se pudo establecer un punto de corte que discriminara entre los dos grupos. Además, el porcentaje de pacientes asintomáticos con valores negativos para la LTP de melocotón fue significativamente mayor respecto a los sintomáticos. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en el resto de LTPs entre asintomáticos y sintomáticos, lo que podría sugerir que la principal diferencia entre sintomáticos y asintomáticos viene determinada por Pru p 3, aunque para ello serían necesarios estudios comparativos entre ambos grupos que incluyeran un tamaño muestral de asintomáticos mayor que el presente estudio en el que había 13 pacientes asintomáticos, lo que supone sólo un 4.25% de la muestra. La ausencia de más datos significativos entre ambos grupos también podría deberse al pequeño tamaño muestral de asintomáticos. Datos similares obtuvieron Basagaña y colaboradores (265) en un estudio

publicado recientemente en una cohorte de Badalona de 84 pacientes con alergia a LTP en los que la proporción de individuos asintomáticos sensibilizados a LTP fue la misma y presentaron valores inferiores de Pru p 3 respecto a los pacientes sintomáticos, aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Curiosamente los individuos asintomáticos en su estudio fueron significativamente más jóvenes que los sintomáticos.

En cuanto al perfil molecular según la gravedad de la clínica, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas con la mediana de los valores séricos ni categorizados de Pru p 3, Ara h 9, Jug r 3, Art v 3 ni Ole e 7 con la gravedad de la clínica. Aunque no alcanzaba significación estadística, es reseñable que el grupo de pacientes con clínica sistémica presentaba valores más altos de Pla a 3 y Art v 3 comparados con los que presentaban el grupo de clínica local. Adicionalmente, los valores de Pla a 3 se correlacionaron de forma estadísticamente significativa con la gravedad de la clínica de forma que los individuos con reacciones graves presentaban valores más altos de Pla a 3 comparados con los que presentaban clínica moderada y clínica leve. El papel de la sensibilización a pólenes en la gravedad de las reacciones alérgicas ha sido estudiado previamente con discrepancias en los resultados. Pastorello y colaboradores (215) describieron la cosensibilización de artemisia como un fenómeno sin relevancia clínica. Mientras que Pascal y colaboradores (233) como un epifenómeno que modula el espectro de la sensibilización a LTP en cuanto a que ambos pólenes, Pla a 3 y Art v 3 podrían actuar como cosensibilizantes y en algunos casos como sensibilizantes primarios aunque en su serie no describen si tienen implicación en la expresión clínica del SLTP de su muestra de estudio. En cambio, en un estudio realizado por nuestro grupo, publicado más recientemente, en una cohorte de alergia a lechuga por LTP no hallamos asociación entre la sensibilización a pólenes y la severidad de la clínica (205). Por otra parte, Basagaña y colaboradores (265) encontraron en su estudio valores más elevados de Pla a 3 y Art v 3 en individuos sintomáticos independientemente de la gravedad de la clínica, respecto a los asintomáticos por lo que proponen que dichos alérgenos podrían ser marcadores de reacciones alérgicas mediadas por LTP. En general en este estudio, la sensibilización a otros alérgenos como profilinas, homólogos de Bet v 1 (o PR-10) y taumatinas fue escasa, no superando el 10% de los casos. Además, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre la sensibilización a homólogos de Bet v 1 y profilinas y la gravedad de la clínica, en contra del concepto actual de que la cosensibilización a LTP y dichos alérgenos reduce la severidad de las reacciones a alimentos que contienen LTP ya que la ocupación parcial de los receptores de alta afinidad para la IgE (FcεRI) por otros alérgenos reduce la liberación de histamina por los mastocitos (191). En cambio, Scala y colaboradores (245) encontraron mayor prevalencia estadísticamente significativa de clínica local a alimentos vegetales (síndrome de alergia oral) y menor prevalencia de clínica sistémica en pacientes cosensibilizados a LTP, PR-10 y profilinas,

aunque su porcentaje de sensibilización fue mayor que en nuestro estudio por lo que no podemos concluir que no exista una relación entre la gravedad de la clínica y la cosensibilización a otros panalérgenos por el bajo porcentaje de sensibilización de nuestra muestra.

En el presente estudio, el número de LTPs positivas fue significativamente mayor en el grupo de pacientes con clínica sistémica comparados con los que presentaban sólo clínica local, con una media de 6 y 5 LTPs positivas, respectivamente. Aunque no se identificó una agrupación de LTPs que se relacionara con la gravedad de la clínica como el observado por Scala y colaboradores (243) en una cohorte italiana, en el que demostraban una fuerte correlación positiva entre las LTP de polen de plátano de sombra (Pla a 3), cacahuete (Ara h 9), nuez (Jug r 3) y melocotón (Pru p 3) y la gravedad de la clínica. Además, tal y como se ha comentado previamente, dicha clínica fue de menor gravedad cuando los pacientes estaban cosensibilizados a profilinas y homólogos de Bet v 1. Una de las diferencias entre el presente estudio y el reseñado es que Scala y colaboradores incluyeron y estratificaron en grados de gravedad pacientes nacidos en el centro y sur de Italia con sospecha de reacciones alérgicas por alimentos, rinitis, asma y/o eccema atópico y fueron incluidos sólo aquellos pacientes con positividad para algunas de las LTPs contenidas en el InmunoCAP ISAC®, mientras que en el presente estudio nuestros los pacientes fueron inicialmente seleccionados por presentar síntomas con algún alimento vegetal y sensibilización a LTP (prick positivo a LTP e IgE específica a Pru p 3 positiva y/o positividad para algunas de las LTPs contenidas en el InmunoCAP ISAC®) y posteriormente estratificados según la clínica presentada tras la ingesta de alimentos vegetales. Para investigar posibles biomarcadores que discriminen entre el tipo de clínica presentada por los pacientes en local y sistémica se analizó su posible relación con los niveles de IgE específica para Pru p 3 determinada mediante InmunoCAP como por InmunoCAP ISAC® ni por la ratio de IgE Pru p 3/IgE total sin poder establecerse un punto de corte óptimo.

El objetivo principal del presente estudio fue la identificación de patrones comunes o “clústers” en la alergia alimentaria por sensibilización a LTP. Cuando el análisis se realizó en base a las características clínicas de la reacción, en el debut de la alergia alimentaria y de la reacción problema que condicionaba la consulta en alergia, y de los alimentos implicados en las mismas se identificaron dos grupos de pacientes que presentaban unas características diferenciadoras y estadísticamente significativas entre sí y que además eran concordantes a los resultados previamente expuestos. De forma que el grupo o “clúster” 1 estaba formado por los pacientes que presentaban reacciones más graves con la ingesta de alimentos tanto en la primera reacción, en la que el alimento responsable no acostumbraba a ser el melocotón, como en la reacción problema que generaba el motivo de consulta en alergia. Este grupo de pacientes se caracterizaba, además por presentar clínica con un mayor número de alimentos vegetales, siendo

los más frecuentes los frutos secos y legumbres. Por otra parte, el grupo o “clúster” 2 incluía a los pacientes asintomáticos y aquellos que presentaban una clínica má leve tanto al debut de la alergia a alimentos como en el momento de la consulta. En este caso el melocotón sí era el alimento más frecuentemente implicado en el debut de la alergia alimentaria. En definitiva, el grupo o “clúster” 1 constituiría un fenotipo de alergia alimentaria grave por sensibilización a LTP, mientras que el grupo 2 representa al fenotipo de alergia alimentaria más leve.

Cuando el estudio de agrupación se realizó en base a las consideradas “variables fijas”: variables demográficas, historia personal de atopia, clínica con la ingesta de melocotón, presencia de cofactores en la reacción problema, cosensibilizaciones respiratorias y niveles de IgE específica a extractos completos de alimentos y Pru p 3, de nuevo se pudieron diferenciar dos “clústers”. El grupo o “clúster” 1 incluía predominantemente a varones con historia personal de atopia, principalmente rinoconjuntivitis y asma bronquial, con valores más elevados de IgE total pero más bajos de IgE específica para melocotón, mayor frecuencia de sensibilización a ácaros del polvo doméstico y epitelios de animales y menor a polen de plátano de sombra y artemisia. En este grupo, la clínica más frecuente con melocotón era la urticaria de contacto con buena tolerancia a la pulpa. En cambio, el grupo o “clúster” 2 incluía predominantemente mujeres, mayor frecuencia de sensibilización a polen de plátano de sombra y artemisia, mayor frecuencia de SLTP, reacciones anafilácticas y reacciones exacerbadas por cofactor y que no toleraban el melocotón. En este caso, el grupo o “clúster” 1 se correspondería con un fenotipo más leve y el grupo o “clúster” 2 más grave. Al hacer un análisis combinado de los “clústers” 1 y 2 generados tras el análisis de las variables fijas y analíticas con las variables alimentos observamos que el “clúster” 1 generado por las variables fijas y analíticas se caracterizaba por presentar urticaria de contacto con la piel de melocotón, pero con tolerancia a la pulpa y mayor proporción de clínica local (UC, SAO y clínica GI), lo que se correspondería con el “clúster” 2 obtenido por las variables alimentos, también de clínica más leve. Por otra parte, el “clúster” 2 generado por las variables fijas y analíticas se caracterizaba por una clínica más grave con mayor proporción de clínica sistémica en la primera reacción por alimento vegetal, lo que se relaciona con el “clúster” 1 de variables alimentos también con una clínica más grave. De esta forma, como se muestra en la figura 39, tras el análisis combinado de ambos grupos de variables: clínicas y alimentos, y fijas y analíticas, podemos diferenciar un fenotipo más grave formado por el “clúster” 1 [variables clínicas + alimentos] y “clúster” 2 [variables fijas + analíticas], y un fenotipo más leve “clúster” 2 [variables clínicas + alimentos] y “clúster” 1 [variables fijas + analíticas].

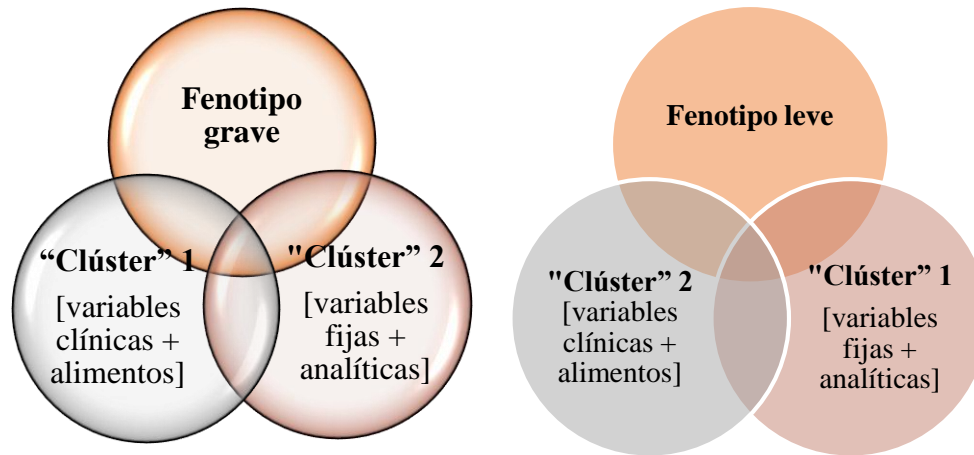


Figura 39. Identificación de fenotipos tras el análisis combinado de las variables clínicas y de alimentos, y variables fijas y analíticas.

Además, se realizó el análisis de agrupaciones en función del perfil de reconocimiento a alérgenos individuales contenidos en la matriz InmunoCAP ISAC 112®. En este caso se obtuvieron también dos grupos claramente diferenciados, en los que en el grupo o “clúster” 1 se caracterizaba por estar predominantemente sensibilizados a los alérgenos principales de *Dermatophagoides* (Der p 1, Der p 2, Der f 1 y Der f 2) y y débilmente a alérgenos de *Blomia* y *Lepidoglyphus* (Blo t 5 y Lep d 2), y epitelios de perro (Can f 5) y gato (Fel d 1). 1). Contrariamente, el grupo o “clúster” molecular 2 incluía a aquellos pacientes con negatividad para dichos alérgenos. Sin embargo, según el análisis factorial para datos mixtos (FAMD) las dimensiones 1, 2 y 3 eran las que mejor discriminaban a los dos grupos, pero la dimensión 1 no fue la variable que dividió el conjunto de la muestra en los dos “clústers” originados mediante el método PAM (“clústers” 1 y 2 comentados previamente), sino que los divide en otras agrupaciones distintas y que podrían ser objetivo de estudios adicionales. Es importante resaltar que la dimensión 1 contenía principalmente como alérgenos individuales: Jug r 2, Phl p 4 y Cry j 1, y con menor intensidad Cyn d 1, Cup a 1 y Pla a 2 pero todos tienen en común que forman parte de la familia de las “proteínas que contienen componentes carbohidratados”, del inglés, “CCD bearing proteins” (www.allergome.org, último acceso 19/05/2018), y han descritos como alérgenos sin relevancia clínica (99). Por lo tanto, serían necesarios análisis estadísticos adicionales para dilucidar si estas variables contenidas en la dimensión 1, asociadas o no a otras variables, dan lugar a agrupaciones distintas del conjunto de individuos.

Cuando se hizo un análisis combinado teniendo en cuenta los grupos o “clústers” resultantes del análisis molecular anterior con las variables alimentos, el grupo 1 se caracterizó por mayor evitación de alimentos y mayor proporción de anafilaxias inducidas tras la ingesta de

paraguayo, y el grupo o “clúster” 2 por mayor proporción de reacciones potenciadas por cofactor, siendo el ejercicio el cofactor más frecuente. Además, en este último grupo los alimentos con los que los pacientes presentaban clínica alérgica con mayor frecuencia fueron avellana, lechugas, pipas y cacahuete y además clínica GI con castaña; por el contrario, evitaban el paraguayo o nunca lo habían comido. Teniendo en cuenta los análisis realizados parece que las variables que mejor discriminan a los pacientes en dos grupos claramente diferenciadores son las variables alimentos, clínicas y datos fijos. Aunque sería necesario un análisis adicional para verificar si el “clúster” con fenotipo más grave o más leve es el que se corresponde con los “clústers” derivados del análisis por los alérgenos individuales o si por el contrario no existe ninguna relación entre los fenotipos resultantes de la clínica y el perfil de reconocimiento molecular.

Hasta la fecha, esta es la primera agrupación en “clústers” de fenotipos de alergia alimentaria por sensibilización a LTP en base a un extenso número de variables clínicas y analíticas además de por los alimentos implicados en la reacción, en una amplia población de pacientes con alergia alimentaria por sensibilización a LTP. Tal y como se ha comentado previamente, Scala y colaboradores (245) establecieron un fenotipo de expresión clínica grave basado únicamente en los datos analíticos del perfil de sensibilización molecular, según el cual los pacientes con sensibilización a más de 5 LTPs, niveles más altos de IgE específica a Pru p 3 y ausencia de sensibilización a PR10 y profilinas tenían mayor riesgo de presentar reacciones graves. Sin embargo, utilizar un sólo modelo estadístico para la detección de posibles “clústers” en la alergia alimentaria por sensibilización a LTP puede suponer una limitación, ya que como hemos podido comprobar tras el análisis de numerosas variables clínicas, analíticas, moleculares y de alimentos en el presente estudio se han detectado dos “clústers” bien diferenciados, pero los resultados sugieren diferentes vías posibles para seguir analizando e investigando patrones comunes. Puede que en la alergia alimentaria ocurra como en el asma, una enfermedad alérgica cuyo estudio de los fenotipos está actualmente más avanzado, y en la que la extensa cantidad de fenotipos descritos podrían en parte ser explicados por la gran variabilidad de los parámetros usados para obtener dichos fenotipos o “clústers” (279). Y es que de acuerdo a lo expuesto por Deschildre y colaboradores (37) en la alergia alimentaria existen numerosos factores que influyen en los fenotipos de la alergia alimentaria como los dependientes de los alérgenos alimentarios (características bioquímicas, ruta de exposición, dosis umbral, estado de cocción, matriz), el aboraje molecular, la edad y gravedad de la reacción de inicio, progresión de la alergia alimentaria (resolución o persistencia), las enfermedades atópicas concomitantes (rinitis, asma y dermatitis atópica), los cofactores, las características demográficas y antecedentes patológicos personales de los individuos. Por ello es probable que para una aproximación más precisa a los fenotipos de la alergia alimentaria por sensibilización a LTP sea necesario analizar

múltiples variables clínicas, de alimentos, moleculares y analíticas, algunas de ellas no disponibles para su análisis todavía como el reconocimiento de epítomos y la afinidad personal anticuerpo-antígeno. Otro aspecto a tener en cuenta en el estudio de fenotipos de la alergia alimentaria son los mecanismos fisiopatológicos e inmunológicos (6)(13)(37)(7)(8) que abarca el término común pero que dan lugar a diferentes expresiones clínicas de la misma. Por lo que sería de interés investigar los posibles cambios histológicos mediante extracción de tejido de la mucosa oral y/o gastrointestinal y estudios de anatomía patológica para comprobar si en este tipo de alergia existen cambios histológicos en la mucosa oral, como los descritos por Barber y colaboradores (112) en un estudio recientemente publicado en un modelo de reacciones alérgicas graves a alimentos por sensibilización a profilina respecto al fenotipo leve comentado previamente en la introducción del presente estudio.

Asimismo, se han realizado otros estudios de alergia alimentaria causada por sensibilización distinta a LTP para evaluar la relación entre la gravedad de la clínica tras ingerir el alimento y otros parámetros clínicos, analíticos y en algunos casos, los resultados de las pruebas de provocación oral. En el estudio de Just y colaboradores (272) para definir fenotipos en pacientes alérgicos al cacahuete se identificaron las variables que más contribuían a explicar la variabilidad del conjunto de datos y después se les aplicó un análisis “clúster” jerárquico para clasificar la población en grupos homogéneos en cuanto a la severidad de la alergia a cacahuete. El método está basado en la varianza mínima de Ward que minimiza la varianza total dentro del “clúster”. La distancia entre individuos se calculó usando la distancia euclidiana. El resultado fue la identificación de 3 “clústers”: 1) alergia grave a cacahuete con poca multimorbilidad alérgica (n=123), 2) alergia grave a cacahuete con frecuente multimorbilidad alérgica (n=62) y 3) alergia a cacahuete leve/fenotipo sensibilizado (n=62) teniendo en cuenta la proporción de pacientes con prueba de provocación positiva, la proporción de reacciones graves, la mediana de proteína de cacahuete que inducía una provocación positiva, pápula del prick test, niveles de Ara h 2 y la multimorbilidad alérgica. Además, se realizó un análisis estratificado por género en el que los tres “clústers” se identificaron en niños, pero sólo los dos primeros “clústers” estaban presentes en niñas. En otro estudio multicéntrico realizado por Mastroilli y colaboradores en niños italianos con síndrome polen-alimentos (273) se identificaron cinco endotipos según el perfil de sensibilización a IgE a panalérgenos mediante el análisis de “clústers” o agrupamiento aglomerativo jerárquico no supervisado usando el criterio de Ward para minimizar la variabilidad total dentro del “clúster” y la estandarización de Gower para calcular la disparidad de la muestra. Recientemente Datema y colaboradores (274) han llevado a cabo modelos de regresión lineal multivariable que combina el diagnóstico molecular por componentes con la clínica referida en la historia clínica y durante la prueba de provocación para predecir el riesgo

de reacciones graves en pacientes de todas las edades alérgicos a la avellana procedentes de 15 ciudades europeas identificando 4 modelos diferentes.

Junto a la necesidad de identificar patrones comunes en la alergia alimentaria por sensibilización a LTP, detectamos que existe una deficiencia importante en lo que respecta a la estandarización de su diagnóstico basado en la prueba patrón de exposición oral controlada con placebo. Por dicho motivo, nos marcamos el doble objetivo de generar por un lado una receta estandarizada a base de melocotón y por otro estandarizar el procedimiento de interpretación de las pruebas de exposición oral a melocotón.

Así, este es el primer estudio en el que se valida una receta a base de zumo de melocotón comercial para DBPCFC. Una de las principales ventajas de realizar la receta con zumo de melocotón comercial Granini® es su disponibilidad en la mayoría de los países europeos, lo que permite su uso generalizado a otros centros. Sin embargo, su limitación principal es la variabilidad de los resultados de cuantificación obtenidos tras analizar los tres lotes diferentes de zumo de melocotón Granini® mediante ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Cisteró y colaboradores (257) cuantificaron la cantidad de Pru p 3 en un lote de zumo melocotón Granini® fabricado en la misma fábrica que el lote utilizado en el presente estudio por la misma técnica de ELISA y en el mismo laboratorio obteniendo como resultado 21.16 µg Pru p 3/ml de zumo, cuatro veces por encima del valor de 5.463 µg Pru p 3/ml de zumo que obtuvimos en nuestro caso. La variabilidad en la cantidad de Pru p 3 en el melocotón y los alimentos procesados que lo contienen, ya ha sido descrita previamente por Duffort y colaboradores (170) tras analizar 9 lotes diferentes de melocotones frescos que contenían al menos cuatro piezas, concluyendo que la cantidad media de Pru p 3 por kilogramo de fruta de melocotón era 16.50 mg (rango 3.8–23.9 mg), lo que equivale en un melocotón medio que pesa aproximadamente 200 gr, a 3300 µg de Pru p 3 por gramo de fruta (rango 760- 4780 µg/gr), siendo la cantidad de Pru p 3 10 veces mayor en la piel que en la pulpa. Además, analizaron 1 ó 2 lotes diferentes de zumos de varios fabricantes distintos cuya cuantificación de Pru p 3 oscilaba entre 1.328 y 3.696 µg/g. Según este dato, la cuantificación de Pru p 3 obtenida en el lote de zumo usado para nuestra receta estaría ligeramente por encima del rango superior obtenido por el grupo de Duffort, aunque el valor obtenido por el segundo método analizado sí que estaría dentro de este rango.

En el presente estudio, a pesar de que la cantidad de Pru p 3 por mililitro usada en la receta validada fue inferior a la obtenida por otros grupos, resultó ser adecuada para el diagnóstico de los pacientes con alergia a melocotón puesto que la mayoría de las pruebas de exposición con fórmula activa fueron positivas antes de llegara a la última dosis y los pacientes que toleraron la fórmula completa y fueron diagnosticados como “no alergia alimentaria”

toleraron con posteridad melocotón y zumos de melocotón sin incidencias incluso 5 meses después de la realización de la prueba de exposición oral.

La gran variabilidad en los valores de Pru p 3 entre frutas y productos procesados distintos puede deberse a que las técnicas de cuantificación varían según el método de detección y probablemente en lugar de ser cuantitativas sean semicuantitativas, aunque para elucidar dicha hipótesis serían necesarios estudios adicionales de cuantificación de Pru p 3 en un número mayor de lotes diferentes de zumo. En contra de lo deseable, parece que la cantidad de Pru p 3 en los productos manufacturados también varía como también varía la cantidad de Pru p 3 en los melocotones y en otras frutas rosáceas debido a la influencia que los factores medioambientales, las condiciones de cultivo y las sustancias contaminantes tienen sobre la expresión de los niveles de Pru p 3 en los melocotones frescos (169)(174), aunque queda por determinar las causas que afectarían a la variabilidad de la cantidad de Pru p 3 en productos manufacturados. El hecho de saber el rango de microgramos de Pru p 3 que se administran en cada dosis permitiría conocer la dosis umbral en microgramos de Pru p 3 a la que el/la paciente reacciona lo que sería útil para personalizar la dosis de inicio en inmunoterapia oral específica a melocotón y en desensibilizaciones. Frente a la variabilidad en la cantidad y características bioquímicas de la LTP, que varía de un cultivo a otro e incluso entre distintas frutas del mismo lote, del estado madurativo, de una cosecha a otra y de las condiciones medio ambientales, que supone usar una pieza de fruta para la realización de una DBPCFC, proponemos una receta validada y estandarizada con un rango conocido de concentración de LTP, en el que las variaciones por el estado madurativo y las condiciones de cultivo de los diferentes melocotones se ve más homogeneizada al mezclarse de forma industrial en grandes cantidades.

Sin embargo, aunque hasta la fecha han sido reportados diversos factores de riesgo que se asocian con mayor gravedad de la alergia alimentaria (35) como la historia previa de anafilaxia, el tipo de alimento y su estado de procesamiento o manufacturación, la asociación de cofactores, el perfil de sensibilización del huésped, estar en ayunas, presentar una infección concomitante, el sistema inmune del huésped, presentar una exacerbación de otras enfermedades atópicas y estar en tratamiento con beta-bloqueantes y/o antibióticos, no se han identificado biomarcadores que puedan predecir cuál es el riesgo futuro de reacciones alérgicas a alimentos o cuál debería ser el nivel de la dosis umbral de seguridad en la rutina diaria o durante una provocación oral (36). Aunque no era un objetivo del presente trabajo, y el número de DBPCFC fue bajo (25), también se analizaron si alguna de las variables clínicas o analíticas podía predecir el resultado y gravedad de la DBPCFC. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el resultado final de la provocación oral y los resultados del prick test con LTP o extracto completo de melocotón, los niveles de sIgE a Pru p 3 y extracto completo de melocotón, ni con las ratios de sIgE Pru p 3/tIgE e sIgE melocotón/tIgE.

Por el contrario, Mehl y colaboradores (276) encontraron una correlación estadísticamente significativa entre una ratio sIgE/tIgE elevada con una mayor probabilidad de presentar síntomas de alergia a leche de vaca, huevos y trigo en niños, pero no con soja. Sin embargo, en su estudio la determinación de las diferentes ratios sIgE/tIgE reveló resultados similares a los de la IgE aislada, concluyendo que las ratios no suponen una ventaja añadida. Resultados similares obtuvieron Grabenhenrich y colaboradores (277) en su estudio multicéntrico llevado a cabo en niños con sospecha de alergia a cacahuete y avellana para evaluar si la ratio sIgE de componentes alergénicos de ambos alimentos respecto a la IgE total podía mejorar la predicción de la prueba de exposición oral controlada; finalmente concluyeron que los valores individuales de IgE específica de Ara h 2 y Cor a 14 fueron los mejores predictores de alergia en la infancia a cacahuete y avellana, respectivamente, sugiriendo la supresión de pruebas de exposición controlada a niveles muy elevados y que el cálculo del ratio de ambas no mejoraba la predicción en dicha población. Por otro lado, en un estudio realizado en niños alérgicos a leche, huevo, cacahuete y frutos secos, Gupta y colaboradores (278) reportaron que ratios sIgE/tIgE más elevados se correlacionaban con un resultado positivo en la OFC con una mayor precisión que la IgE específica para predecir el resultado de la misma. Aun así, el uso de las ratios sIgE/tIgE para predecir el resultado de las distintas provocaciones ha sido discutido debido a que la correlación con la clínica no es linear (280).

Mientras que la historia natural de la alergia a leche y huevo ha sido extensamente estudiada, hasta la fecha no se ha llevado a cabo ningún estudio sobre la historia natural de la alergia a alimentos vegetales por sensibilización a LTP. Aunque el presente estudio no estaba diseñado a tal efecto, los resultados obtenidos sugieren que existen distintas vías de sensibilización que pueden desencadenar este tipo de alergia y que podrían influir de diferente forma en su evolución. La marcha atópica en la primera infancia se inicia con la aparición de dermatitis atópica lo que favorecería la sensibilización por vía cutánea tal como han propuesto Lack y colaboradores (281). En el modelo de alergia alimentaria tipo I en adultos la ruta de sensibilización a alérgenos alimentarios estables y resistentes a la digestión enzimática, como es el caso de las LTP o las proteínas de almacenamiento de semillas es por vía digestiva. En nuestro estudio, como se ha comentado previamente, en niños y adolescentes el melocotón fue el alimento que con más frecuencia estaba implicado en la primera reacción y con predominio de clínica leve como urticaria de contacto y síndrome de alergia oral, mientras que en la edad adulta era mucho más frecuente que debutaran con un alimento vegetal distinto al melocotón y con clínica grave.

Aunque está descrito que las alergias alimentarias de la edad adulta persisten a lo largo de la vida (7)(8) en el presente estudio se ha observado que 5 de los 7 pacientes que toleraron la fórmula activa en la prueba de exposición a melocotón controlada con placebo, y

por tanto se descartaba alergia en el momento actual, referían reacciones clínicas previas tras la ingesta de melocotón: 4 de ellos un síndrome de alergia oral y uno urticaria/angioedema. Estos resultados se pueden atribuir a la adquisición de tolerancia espontánea o bien a que nunca habían presentado una verdadera alergia a melocotón. Sería necesario realizar estudios prospectivos de cohortes para estudiar la evolución natural de la alergia alimentaria por sensibilización a LTP que además, presenta una particularidad que se observa en la práctica clínica diaria de los pacientes que la padecen y es que mientras que unos pacientes presentan clínica con uno o varios alimentos y se mantienen estables a lo largo del tiempo, otros, debido a la amplia distribución de la LTP en los alimentos vegetales y la elevada reactividad cruzada entre sí, desarrollan clínica con numerosos alimentos vegetales distantes taxonómicamente y de diferente espectro de gravedad. Esto último ha venido a denominarse “síndrome LTP” (12), presentado por la gran mayoría de nuestra población. Actualmente el conocimiento sobre la historia natural de la alergia a LTP (tanto en niños como en adultos) es poco conocida debido a la falta de estudios longitudinales en grandes muestras de pacientes (282)(283). Una aproximación es el estudio longitudinal de la cohorte italiana de 67 pacientes alérgicos a LTP publicado recientemente por Asero y colaboradores (266) en el que se les recomendó a los pacientes evitar aquellos alimentos con los que habían presentado clínica sistémica (urticaria aguda/angioedema y anafilaxia), seguir comiendo los alimentos a los que estaban sensibilizados aunque hubieran presentado clínica local (urticaria de contacto y/o síndrome de alergia oral) si no les resultaba muy molesto, pero evitando los cofactores y comer los alimentos pelados. Tras entre 1 y 16 años de seguimiento el 70% de los pacientes no habían presentado clínica con nuevos alimentos vegetales, dos pacientes habían presentado clínica por ingesta inadvertida de frutos secos previamente conocida y el 27% de los pacientes reportaron alergias a nuevos alimentos. De estos, 8 presentaron sólo síntomas locales (7 SAO y 1 clínica gastrointestinal), 4 sólo síntomas sistémicos y 6 ambos, además la mitad de los que progresaron su alergia estaban monosensibilizados a LTP. En la mayoría de los pacientes las frutas rosáceas y prunoideas, así como los frutos secos fueron de nuevo los alimentos más implicados. No se encontraron asociaciones entre los niveles de IgE total, rPru p 3, rBet v 1 o rPhl p 12, sexo o edad y la distinta evolución clínica de estos pacientes. La presencia o ausencia de cosensibilización a PR-10 y/o profilina tampoco se asoció ni con la probabilidad de presentar reacciones alérgicas a nuevos alimentos ni con la gravedad de dichas reacciones. Los autores concluyen tras estos resultados que fomentar en estos pacientes la ingesta de alimentos vegetales que contienen LTP puede ser una forma de inmunoterapia natural, pero excluyendo los alimentos más frecuentemente implicados a largo plazo en nuevas reacciones con alimentos a los que los pacientes LTP están sensibilizados pero sin reactividad clínica: frutas de la familia de las rosáceas y prunoideas (con la posible excepción de la pera, por el escaso contenido de Pru p 3), frutos secos y cacahuete. Por otra parte, Basagaña y colaboradores (265) sugieren la existencia

de una historia natural en la sensibilización a LTP que tiende no sólo a la polisensibilización sino a un mayor grado de sensibilización mientras que la gravedad de la clínica dependería de factores individuales, sin embargo en diseño del estudio no permite responder a esa hipótesis. Uno de los requisitos necesarios para la realización de dichos estudios sería disponer de una receta validada para la realización de DBPCFC y una escala de interpretación estandarizada de los resultados con el fin de generar datos comparables entre los investigadores de diferentes centros o realizados en diferentes tiempos. En la evolución de la alergia alimentaria tanto por sensibilización a LTP como a otros alimentos, además de la adquisición de tolerancia espontánea también podemos observar que la gravedad de las reacciones presentadas tras la ingesta del mismo alimento puede cambiar a lo largo del tiempo. Aunque los pacientes con una historia previa de anafilaxia inducida por alimentos tienen un mayor riesgo de presentar reacciones anafilácticas en el futuro, algunos pacientes sólo desarrollarán síntomas leves en futuras ingestas del alimento responsable (36). En el presente estudio, algunos de los pacientes experimentaron síntomas diferentes durante la prueba de provocación a los que referían previamente. Así, dos de los pacientes que referían haber una reacción anafiláctica con la ingesta de melocotón presentaron únicamente SAO durante la DBPCFC. Aunque este hecho puede ser debido a un aumento en el umbral de tolerancia durante la evolución natural de la enfermedad, tampoco podemos descartar que la dosis máxima alcanzada durante la DBPCFC no fuera suficiente para desencadenar una reacción completa en esos pacientes.

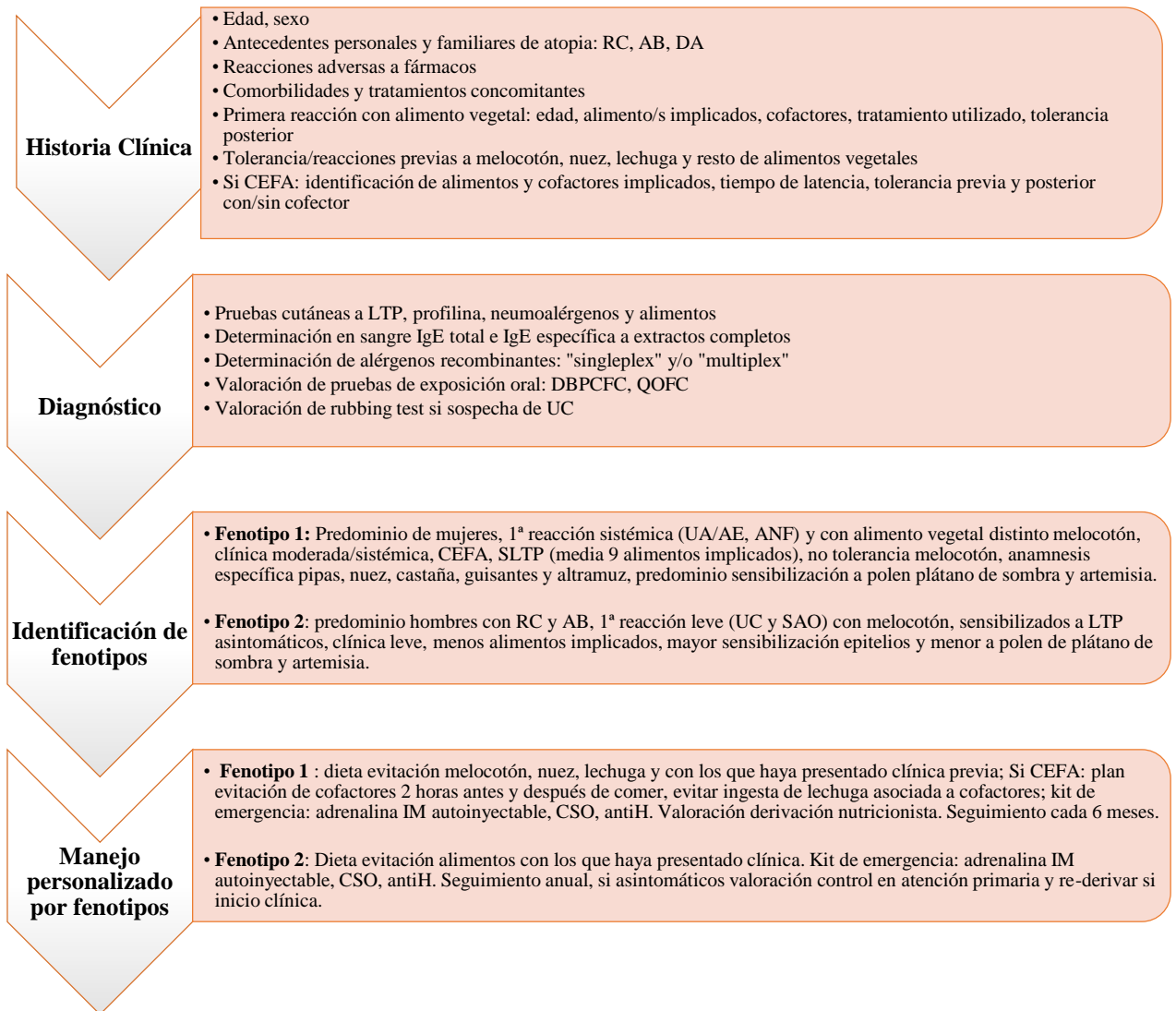
La urticaria de contacto inmunológica (UC) es un fenómeno común observado en pacientes con alergia alimentaria, resultante del contacto directo de la piel con un agente proteico. En nuestra población el alimento más frecuentemente implicado en la urticaria de contacto fue el melocotón, al igual que en la cohorte de pacientes alérgicos a LTP estudiada por Asero (266). Aunque actualmente no hay guías de consenso sobre el diagnóstico de UC, el método más comúnmente utilizado, a pesar de no estar estandarizado, es el “rubbing test” o prueba de frotamiento, el cual consiste en frotar un agente sobre la piel normal y valorar los posibles signos clínicos que han podido aparecer en la zona de aplicación a los 60 minutos (27). Cuesta Herranz y colaboradores (22) describieron en una población de 70 pacientes alérgicos al melocotón que la UC fue la manifestación clínica más frecuente presentada por el 60% de la muestra. En su estudio el rubbing test fue realizado frotando un melocotón fresco sin pelar por el antebrazo del paciente durante 30 segundos y revalorando el área de aplicación 15 minutos después, pero no se realizaron controles negativos. En el presente estudio se han añadido algunas modificaciones al protocolo descrito por Cuesta Herranz añadiendo observación cada 15 minutos de la zona tras la aplicación del melocotón fresco sobre la piel durante 60 minutos y dos controles negativos, un guante de nitrilo y un kiwi fresco con piel habiendo descartado previamente sensibilización a dicho alimento. De acuerdo con los resultados obtenidos, la

observación de un periodo de al menos 45 minutos después del frotado fue necesaria para el diagnóstico de algunos pacientes, y la inclusión adición de al menos un control negativo fue necesaria para hacer el diagnóstico diferencial entre UC y dermatografismo. Por ello, así como la DBPCF es el patrón oro para el diagnóstico de alergia alimentaria, el “rubbing test” con el alimento culpable y un control negativo, se debería considerar como el patrón oro para el diagnóstico de la urticaria de contacto por alimentos, ya que el prick test o la IgE específica sólo demuestran sensibilización a dicho alimento.

Para validar la receta e interpretación de la DBPCFC se decidió realizar las pruebas de provocación a un 10% de cada fenotipo para tener representación de todos los grupos. Una de las limitaciones del estudio fue que en 4 pacientes no se pudo hacer la DBPCFC en dos días debido a la falta de tiempo por parte de los pacientes para acudir a la cita y en su lugar se realizó una provocación oral con placebo y fórmula activa en el mismo día tal y como se explica en material y métodos. Entre los motivos más frecuentes para rechazar la prueba por parte de los pacientes fue el miedo a sufrir una reacción alérgica, sobretodo graves y/o la imposibilidad para acudir al hospital por falta de tiempo. En una revisión reciente sobre alergia alimentaria, Sicherer y colaboradores (8) para evitar los inconvenientes asociados a las pruebas de provocación orales, proponen la necesidad de uso de métodos diagnósticos alternativos citando los que actualmente están en vías de investigación como la identificación de epítomos incluyendo la afinidad de unión, otros marcadores como citoquinas, células T (número y función), actividad de células B y metilaciones de ADN y otras herramientas como la bioinformática y las “ómicas” (genómica, transcryptómica, proteómica, microbioma y metabolómica). Sin embargo, mientras estos métodos diagnósticos no estén validados y disponibles para su uso en la práctica clínica, la DBPCFC sigue siendo considerada el patrón oro para el diagnóstico de la alergia alimentaria (8) y por lo que es preciso la estandarización de su ejecución e interpretación de los resultados, como se ha llevado a cabo en el presente estudio, tanto en las provocaciones orales como en el protocolo propuesto para la realización del test de frotamiento o “rubbing test” con piel de melocotón para pacientes con sospecha de urticaria de contacto.

Otra de las limitaciones del estudio es la variabilidad encontrada respecto a la cuantificación de Pru p 3 en nuestros lotes analizados, aunque está en consonancia con lo previamente publicado en la literatura y ha permitido validar una receta para realizar provocaciones orales con fines diagnósticos en pacientes con sospecha de alergia por alimentos vegetales sensibilizados a LTP. Estandarizar la cuantificación de Pru p 3 podría suponer una vía de investigación a seguir.

La identificación de fenotipos implicados en la alergia alimentaria por sensibilización a LTP podría ayudar a la realización de un diagnóstico más preciso identificando aquellos pacientes con riesgo potencial de reacciones alérgicas graves y/o el desarrollo de múltiples sensibilizaciones alimentarias frente a los pacientes con una alergia más leve, lo que llevaría a la personalización en el tratamiento y manejo de los pacientes, así como para mejorar las estrategias de prevención. El presente trabajo está en línea con la tendencia actual en el cambio de paradigma de la alergia alimentaria (37)(8), y de otras enfermedades crónicas (284)(285), hacia una medicina personalizada y de precisión, al identificar y proponer dos fenotipos diferenciadores dentro del conjunto de los pacientes sensibilizados a LTP incluidos en este estudio y un algoritmo para su manejo que se detalla a continuación. Para la elaboración del algoritmo se ha tenido en cuenta los dos fenotipos obtenidos tras el análisis combinado de las variables clínicas y alimentos, y las variables de datos comunes y analíticas que caracterizaban a los “clúster” 1 y 2 que a su vez se correlacionaban con las variables clínicas y alimentos, ya que en el manejo diario de estos pacientes lo que determina la actitud terapéutica a seguir es la clínica presentada por el paciente, aunque el resto de variables aportan mucha información para identificar a los pacientes.



Abreviaciones: AB: asma bronquial; ANF: anafilaxia; AntiH: antihistamínicos de segunda generación; CEFA: DA: dermatitis atópica; CSO: corticosteroides orales; DBPCFC: prueba de exposición oral doble-ciego controlada con placebo; IM: intramuscular; QOFC: cuasi -RC: rinoconjuntivitis; SAO: síndrome de alergia oral; SLTP: síndrome LTP; UA/AE: urticaria aguda, angioedema; UC: urticaria de contacto.

Figura 40. Diagrama de flujo de manejo de pacientes con sospecha de alergia a alimentos vegetales.

CONCLUSIONES

A partir de los objetivos de este estudio y los resultados obtenidos podemos concluir que:

1. En la alergia alimentaria por sensibilización a LTP se identifican 2 grupos o “clúster” con características diferenciales en función de los alimentos implicados en las reacciones y la clínica de la primera reacción en el momento del estudio, que pueden ayudar en la predicción de riesgo de reacciones futuras y a mejorar las indicaciones de evitación dietéticas en estos pacientes.
2. El 85% de los pacientes con alergia alimentaria por sensibilización a LTP en nuestra serie padecen un síndrome LTP (SLTP) definido como clínica alérgica con alimentos de tres fuentes botánicas diferentes. La manifestación clínica más frecuente ha sido el SAO y los alimentos principalmente implicados en este SLTP son el melocotón, que produce sobre todo urticaria de contacto, la nuez, que induce síntomas de anafilaxia y la lechuga, más frecuentemente relacionada con reacciones exacerbadas por cofactor.
3. Las LTP reconocidas con mayor frecuencia por los pacientes con SLTP, son la de melocotón (Pru p 3), nuez (Jug r 3) y polen de plátano de sombra (Pla a 3). La forma de presentación clínica sistémica se asocia significativamente con mayor número de LTP positivas y con positividad para la LTP de polen de plátano de sombra (Pla a 3) y artemisia (Art v 3).
4. Se ha validado por primera vez una receta a base de zumo de melocotón comercial, cuantificada en μg de Pru p 3, para la realización de pruebas de exposición oral a melocotón enmascarada con placebo. El protocolo estandarizado para su realización e interpretación ha demostrado ser de utilidad para el diagnóstico de la alergia alimentaria por sensibilización a LTP y puede ser aplicable en la práctica clínica habitual.

PERSPECTIVA DE FUTURO

En el desarrollo de cualquier enfermedad en la que se pueden presentar diferentes fenotipos clínicos podemos identificar numerosos factores de riesgo implicados. Entre ellos se identifican características genóticas del individuo sobre las que actúan otros factores de riesgo específicos. Entre estos factores tenemos desde cambios medioambientales hasta diferentes intermediarios microbiológicos, inmunes y/o metabólicos específicos de un individuo que contribuyen al desarrollo de la enfermedad y que una vez identificados podríamos tratar. Un estudio reciente demuestra el valor de identificar fenotipos clínicos mediante la extracción de datos clínicos de registros electrónicos teniendo en cuenta los cambios en el microbioma, inmunológicos y metabólicos tratables de los pacientes para ofrecerles una medicina personalizada (285).

Actualmente no conocemos cual es la historia natural de la alergia a LTP, por todo ello en primer lugar serían necesarios estudios de cohortes longitudinales y prospectivos para comprender dicha historia natural.

Asimismo, son necesarios estudios que nos confirmen que el SLTP es una entidad diferenciada de la alergia a LTP y si Pru p 3 es inmunodominante en todas las variantes de este síndrome.

También necesitamos estudios que confirmen la eficacia a largo plazo o la posibilidad de cambiar el curso de la enfermedad con diferentes tratamientos inmunomoduladores.

Finalmente, sería deseable que podamos evaluar de forma individual a cada paciente alérgico a alimentos vegetales por sensibilización a LTP teniendo cuenta toda la información clínica, analítica (tanto sensibilización a extractos completos como sensibilización frente a componentes individuales) y podamos ofrecerles una medicina personalizada para implementar un tratamiento y manejo personalizado en base a la gravedad y fenotipo clínico de su enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, Wood RA, et al. 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* [Internet]. 2010;126(6):1105–18. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2010.10.008>
2. Johansson SGO, Hourihane JO, Bousquet J, Bruijnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, et al. A revised nomenclature for allergy: An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy* [Internet]. 2001;56(9):813–24. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1034/j.1398-9995.2001.t01-1-00001.x>
3. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(5):832–6.
4. De Blok BMJ, Vlieg-Boerstra BJ, Oude Elberink JNG, Duiverman EJ, DunnGalvin A, Hourihane JO, et al. A framework for measuring the social impact of food allergy across Europe: a EuroPrevall state of the art paper. *Allergy* [Internet]. 2007;62(7):733–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2006.01303.x>
5. Mills ENC, Mackie AR, Burney P, Beyer K, Frewer L, Madsen C, et al. The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe. *Allergy*. 2007;62(7):717–22.
6. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2014;133(2):291–307.e5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2013.11.020>
7. Moore LE, Stewart PH, deShazo RD. Food Allergy: What We Know Now. *Am J Med Sci*. 2017;353(4):353–66.
8. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2018;141(1):41–58. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.11.003>
9. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A. Prevalence of common food allergies in Europe: A systematic review and meta-analysis. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2014;69(8):992–1007.
10. Ojeda P, Sastre J, Olaguibel J, Chivato T. Alergológica 2015: A National Survey on Allergic Diseases in the Adult Spanish Population. *J Investig Allergy Clin Immunol*. 2018;28(3):151–64.
11. Sánchez-López J, Gázquez V, Rubira N, Valdesoiro L, Guilarte M, Garcia-Moral A, et al. Food allergy in Catalonia: Clinical manifestations and its association with airborne allergens. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2017;45(1):48–54.
12. Asero R, Piantanida M, Pinter E, Pravettoni V. The clinical relevance of lipid transfer protein. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2018;48(1):6–12. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/cea.13053>
13. Valenta R, Hochwallner H, Linhart B, Pahr S. Food allergies: The basics. *Gastroenterology* [Internet]. 2015;148(6):1120–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2015.02.006>
14. Lee KH, Song Y, O'Sullivan M, Pereira G, Loh R, Zhang G. The Implications of DNA Methylation on Food Allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2017;173(4):183–92.

15. Sampson H. Update on food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113:805–19.
16. Wang J, Sampson H. Food allergy. *J Clin Invest* [Internet]. 2011;121(3):827–835. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3049383/pdf/JCI45434.pdf>
17. Chinthrajah RS, Hernandez JD, Boyd SD, Galli SJ, Nadeau KC. Molecular and Cellular Mechanism of Food Allergy and Food Tolerance. 2017;137(4):984–97.
18. Sampson HA, O'Mahony L, Burks AW, Plaut M, Lack G, Akdis CA. Mechanisms of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2018;141(1):11–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.11.005>
19. Breiteneder H, Ebner C. Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2000;106(1):27–36. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674900724213>
20. Asero R, Antonicelli L. Does sensitization to foods in adults occur always in the gut? *Int Arch Allergy Immunol*. 2010;154(1):6–14.
21. Van Bilsen JHM, Sienkiewicz-Szlapka E, Lozano-Ojalvo D, Willemsen LEM, Antunes CM, Molina E, et al. Application of the adverse outcome pathway (AOP) concept to structure the available in vivo and in vitro mechanistic data for allergic sensitization to food proteins. *Clin Transl Allergy* [Internet]. 2017;7(1):13. Available from: <http://ctajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13601-017-0152-0>
22. Cuesta-Herranz J, Lázaro M, de las Heras M, Lluch M, Figueredo E, Umpierrez a, et al. Peach allergy pattern: experience in 70 patients. *Allergy* [Internet]. 1998;53(1):78–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9491233>
23. García Figueroa B, Díaz Perales A, Rodríguez García R, Garriga Baraut T, Fernández Rivas M. Alérgenos alimentarios. In: Dávila González I, Jáuregui Presa I, Olaguibel Rivera J, Zubeldia Ortuño J., editors. *Tratado de Alergología*. 2nd Editio. Madrid: Ergon; 2015. p. 969–89.
24. Fernández-Rivas M. Fruit and vegetable allergy. *Chem Immunol Allergy*. 2015;101:162–70.
25. Bartra Tomás J, Sánchez López J, Muñoz Cano R, Plaza Martín A. Manifestaciones clínicas de la alergia a los alimentos mediada por IgE. In: Dávila González I, Jáuregui Presa I, Olaguibel Rivera J, Zubeldia Ortuño J., editors. *Tratado de Alergología*. 2nd ed. Madrid: Ergon; 2015. p. 959–68.
26. Burks AW, Tang M, Sicherer S, Muraro A, Eigenmann PA, Ebisawa M, et al. ICON: Food allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012;129(4):906–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.02.001>
27. McFadden J. Immunologic Contact Urticaria. *Immunol Allergy Clin North Am* [Internet]. 2014;34(1):157–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.iac.2013.09.005>
28. Sampson HA, Muñoz-Furlong A, Campbell RL, Adkinson NF, Allan Bock S, Branum A, et al. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: Summary report - Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network Symposium. *Ann Emerg Med*. 2006;47(4):373–80.
29. Cardona V, Cabañes N, Chivato T, De la Hoz B, Fernández Rivas M, Gangoiti Goikoetxea I, et al. Guía de actuación en anafilaxia: Galaxia 2016 [Internet]. [cited 2018 Feb 23]. Available from: http://www.seaic.org/wp-content/plugins/download-monitor/download.php?id=galaxia_2016_seaic_28-11-2016.pdf

30. Panesar SS, Javad S, De Silva D, Nwaru BI, Hickstein L, Muraro A, et al. The epidemiology of anaphylaxis in Europe: A systematic review. *Allergy*. 2013;68(11):1353–61.
31. Tejedor Alonso MA, Moro Moro M, Múgica García M V. Epidemiology of anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2015;45(6):1027–39.
32. Cardona V, Luengo O, Garriga T, Izquierdo A. Co-factor-enhanced food allergy. *Allergy*. 2012;67(10):1316–8.
33. Wölbing F, Fischer J, Köberle M, Kaesler S, Biedermann T. About the role and underlying mechanisms of cofactors in anaphylaxis. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2013;68(9):1085–92.
34. Muñoz-Cano RM, Bartra J, Picado C, Valero A. Mechanisms of anaphylaxis beyond IgE. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2016;26(2):73–82.
35. Umasunthar T, Leonardi-Bee J, Turner PJ, Hodes M, Gore C, Warner JO, et al. Incidence of food anaphylaxis in people with food allergy: A systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Allergy*. 2015;45(11):1621–36.
36. Turner PJ, Baumert JL, Beyer K, Boyle RJ, Chan CH, Clark AT, et al. Can we identify patients at risk of life-threatening allergic reactions to food? *Allergy*. 2016;71(9):1241–55.
37. Deschildre A, Lejeune S, Cap M, Flammarion S, Jouannic L, Amat F, et al. Food allergy phenotypes: The key to personalized therapy. *Clin Exp Allergy*. 2017;47(9):1125–37.
38. Nassiri M, Babina M, Dölle S, Edenharter G, Rüeff F, Worm M. Ramipril and metoprolol intake aggravate human and murine anaphylaxis: Evidence for direct mast cell priming. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(2):491–9.
39. Manea I, Ailenei E, Deleanu D. Overview of food allergy diagnosis. *Clujul Med* [Internet]. 2016;89(1):5–10. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4777468&tool=pmcentrez&endertype=abstract>
40. Gupta M, Cox A, Nowak-Węgrzyn A, Wang J. Diagnosis of Food Allergy. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2018;38(1):39–52.
41. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, et al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines: Diagnosis and management of food allergy. *Allergy*. 2014;69(8):1008–25.
42. Soares-Weiser K, Takwoingi Y, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, et al. The diagnosis of food allergy: A systematic review and meta-analysis. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2014;69(1):76–86.
43. 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(7):896–904.
44. Canonica G, Ansotegui I. A WAO-ARIA-GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World Allergy Organ* [Internet]. 2013;6(1):17. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3874689&tool=pmcentrez&endertype=abstract%5Cnhttp://link.springer.com/article/10.1186/1939-4551-6-17>
45. Marsh D, Goodfriend L, King T, Lowenstein H, Platts-Mills T. Allergen nomenclature. *Bull World Health Organ*. 1986;64(5):767–70.

46. King T, Hoffman D, Lowenstein H, Marsh D, Platts-Mills T, Thomas W. Allergen nomenclature. *Int Arch Allergy Immunol*. 1994;105(3):224–33.
47. Radauer C, Nandy A, Ferreira F, Goodman RE, Larsen JN, Lidholm J, et al. Update of the WHO/IUIS Allergen Nomenclature Database based on analysis of allergen sequences. *Allergy*. 2014;69(4):413–9.
48. Macchia D, Melioli G, Pravettoni V, Nucera E, Piantanida M, Caminati M, et al. Guidelines for the use and interpretation of diagnostic methods in adult food allergy. *Clin Mol Allergy* [Internet]. 2015;13:27. Available from: <http://clinicalmolecularallergy.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12948-015-0033-9>
49. Tuano KS, Davis CM. Utility of Component-Resolved Diagnostics in Food Allergy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015;15(6):32.
50. Borres MP, Maruyama N, Sato S, Ebisawa M. Recent advances in component resolved diagnosis in food allergy. *Allergol Int* [Internet]. 2016;65(4):378–87. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.alit.2016.07.002>
51. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, et al. EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol*. 2016;27(Suppl 23):1–250.
52. Incorvaia C, Rapetti A, Aliani M, Castagneto C, Corso N, Landi M, et al. Food allergy as defined by component resolved diagnosis. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov* [Internet]. 2014;8(1):59–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24483212>
53. Luengo O, Cardona V. Component resolved diagnosis: when should it be used? *Clin Transl Allergy* [Internet]. 2014;4(1):28. Available from: <http://www.ctajournal.com/content/4/1/28>
54. Hamilton RG, Kleine-Tebbe J. Molecular Allergy Diagnostics: Analytical Features That Support Clinical Decisions. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015;15(9).
55. Van Hage M, Hamsten C, Valenta R. ImmunoCAP assays: Pros and cons in allergology. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2017;140(4):974–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2017.05.008>
56. Harwanegg C, Laffer S, Hiller R, Mueller MW, Kraft D, Spitzauer S, et al. Microarrayed recombinant allergens for diagnosis of allergy. *Clin Exp Allergy*. 2003;33(1):7–13.
57. Patelis A, Borres MP, Kober A, Berthold M. Multiplex component-based allergen microarray in recent clinical studies. *Clin Exp Allergy*. 2016;46(8):1022–32.
58. Loveless M. Allergy for corn and its derivatives: experiments with a masked ingestion test for its diagnosis. *J Allergy*. 1950;21(6):500–9.
59. May C. Objective clinical and laboratory studies of immediate hypersensitivity reactions to foods in asthmatic children. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1976;58(4):500–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/61222>
60. Ballmer-Weber BK, Beyer K. Food challenges. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2018;141(1):69–71. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S009167491731196X>
61. Bindeslev-Jensen C, Ballmer-Welser BK, Bengtsson U, Blanco C, Ebner C, Hourihane J, et al. Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods - Position paper from the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy*. 2004;59(7):690–7.

62. Sampson HA, Gerth Van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Burks AW, et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology-European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012;130(6):1260–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.10.017>
63. Agache I, Bilò M, Braunstahl G-J, Delgado L, Demoly P, Eigenmann P, et al. In vivo diagnosis of allergic diseases-allergen provocation tests. *Allergy* [Internet]. 2015;70(4):355–65. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/all.12586>
64. Van Erp FC, Knulst AC, Meijer Y, Gabriele C, Van Der Ent CK. Standardized food challenges are subject to variability in interpretation of clinical symptoms. *Clin Transl Allergy*. 2014;4(1):43–8.
65. Grabenhenrich LB, Reich A, Bellach J, Trendelenburg V, Sprickelman AB, Roberts G, et al. A new framework for the documentation and interpretation of oral food challenges in population-based and clinical research. *Allergy*. 2017;72(3):453–61.
66. Nowak-Węgrzyn A, Assa'ad AH, Bahna SL, Bock SA, Sicherer SH, Teuber SS. Work Group report: Oral food challenge testing. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123(6 Suppl):S365-83.
67. Ronteltap A, Van Schaik J, Wensing M, Rynja FJ, Knulst AC, De Vries JHM. Sensory testing of recipes masking peanut or hazelnut for double-blind placebo-controlled food challenges. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2004;59(4):457–60.
68. Vlieg-Boerstra BJ, Bijleveld CMA, Van Der Heide S, Beusekamp BJ, Wolt-Plompen SAA, Kukler J, et al. Development and validation of challenge materials for double-blind, placebo-controlled food challenges in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(2):341–6.
69. Van Odijk J, Ahlstedt S, Bengtsson U, Borres MP, Hulthén L. Double-blind placebo-controlled challenges for peanut allergy the efficiency of blinding procedures and the allergenic activity of peanut availability in the recipes. *Allergy*. 2005;60(5):602–5.
70. Meilgaard M, Carr B, Civille G. *Sensory Evaluation Techniques*. Fourth, editor. Boca Raton, London, New York: CRC Press; 2006.
71. Vassilopoulou E, Douladiris N, Sakellariou A, Cortes S V., Sinaniotis A, Rivas MF, et al. Evaluation and standardisation of different matrices used for double-blind placebo-controlled food challenges to fish. *J Hum Nutr Diet*. 2010;23(5):544–9.
72. Vlieg-Boerstra B, Herpertz I, Pasker L, Van Der Heide S, Kukler J, Jansink C, et al. Validation of novel recipes for double-blind, placebo-controlled food challenges in children and adults. *Allergy*. 2011;66(7):948–54.
73. Cochrane SA, Salt LJ, Wantling E, Rogers A, Coutts J, Ballmer-Weber BK, et al. Development of a standardized low-dose double-blind placebo-controlled challenge vehicle for the EuroPrevall project. *Allergy*. 2012;67(1):107–13.
74. Winberg A, Nordström L, Strinnholm Å, Nylander A, Jonsäll A, Rönmark E, et al. New validated recipes for double-blind placebo-controlled low-dose food challenges. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013;24(3):282–7.
75. González-Mancebo E, Alonso Díaz de Durana MD, García Estringana Y, Meléndez Baltanás A, Rodríguez-Alvarez M, de la Hoz Caballer B, et al. Validation of recipes for double-blind placebo-controlled challenges with milk, egg white, and hazelnut. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2017;27(1):40–5.
76. Vandekerckhove M, Droogenbroeck B Van, Loose M De, Coudijzer K, Coppens M,

- Gevaert P, et al. Development and validation of a standardized double - blind , placebo - controlled food challenge matrix for raw hazelnuts. *Clin Transl Allergy* [Internet]. 2018;8:3. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13601-017-0181-8>
77. Sainte-Laudy J, Vallon C, Guérin J. Analysis of membrane expression of the CD63 human basophil activation marker. Applications to allergologic diagnosis. *Allerg Immunol (Paris)*. 1994;26(6):211–4.
78. Knol EF, Mul F, Jansen H, Calafat J, Roos D. Monitoring human basophil activation via CD63 monoclonal antibody 435. *J Allergy Clin Immunol*. 1991;88(3 Pt 1):238–38.
79. Hoffmann HJ, Santos AF, Mayorga C, Nopp A, Eberlein B, Ferrer M, et al. The clinical utility of basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease. *Allergy*. 2015;70(11):1393–405.
80. Hoffmann-Sommergruber K, Pfeifer S, Bublin M. Applications of Molecular Diagnostic Testing in Food Allergy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015;15(9):56.
81. Rubio A, Vivinus-Nébot M, Bourrier T, Saggio B, Albertini M, Bernard A. Benefit of the basophil activation test in deciding when to reintroduce cow's milk in allergic children. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2011;66(1):92–100.
82. Sato S, Tachimoto H, Shukuya A, Kurosaka N, Yanagida N, Utsunomiya T, et al. Basophil activation marker CD203c is useful in the diagnosis of hen's egg and cow's milk allergies in children. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010;152(Suppl 1):54–61.
83. Nilsson N, Nilsson C, Hedlin G, Johansson SGO, Borres MP, Nopp A. Combining analyses of basophil allergen threshold sensitivity, CD-sens, and IgE antibodies to hydrolyzed wheat, ω -5 gliadin and timothy grass enhances the prediction of wheat challenge outcome. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;162(1):50–7.
84. Thyagarajan A, Jones SM, Calatroni A, Pons L, Kulis M, Woo CS, et al. Evidence of pathway-specific basophil anergy induced by peanut oral immunotherapy in peanut-allergic children. *Clin Exp Allergy*. 2012;42(8):1197–205.
85. Vila L, Moreno A, Gamboa PM, Martínez-Aranguren R, Sanz ML. Decrease in antigen-specific CD63 basophil expression is associated with the development of tolerance to egg by SOTI in children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013;24(5):463–8.
86. Glaumann S, Nopp A, Johansson SGO, Rudengren M, Borres MP, Nilsson C. Basophil allergen threshold sensitivity, CD-sens, IgE-sensitization and DBPCFC in peanut-sensitized children. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2012;67(2):242–7.
87. Ford L, Bloom K, Nowak-Wegrzyn A, Shreffler W, Masilamani M, Sampson H. Basophil reactivity, wheal size, and immunoglobulin levels distinguish degrees of cow's milk tolerance. *J Allergy*. 2013;131(1):180-6. e 1-3.
88. De la Hoz B. Alergia a los alimentos. In: SEAIC, editor. *Alergológica 2015*. Tercera. Madrid: Draft; 2017. p. 206–28.
89. Muraro A, Roberts G, Worm M, Bilò M., Brockow K, Fernández Rivas M, et al. Anaphylaxis: Guidelines from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*. 2014;69(8):1026–45.
90. Jones SM, Burks AW, Dupont C. State of the art on food allergen immunotherapy: Oral, sublingual, and epicutaneous. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2014;133(2):318–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2013.12.1040>
91. Wood RA. Food allergen immunotherapy: Current status and prospects for the future. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2016;137(4):973–82. Available from:

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2016.01.001>
92. Wai C, Leung N, Leung P, Chu K. Immunotherapy of Food Allergy: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2017;[Epub ahead of print].
 93. Fiocchi A, Pecora V, Valluzzi RL, Fierro V, Mennini M. Use of biologics in severe food allergies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2017;17(3):232–8.
 94. Sampson H, Leung D, Burks A, Lack G, Bahna S, Jones S, et al. A phase II, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled oral food challenge trial of Xolair (omalizumab) in peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011;127(5):1309–1310.e.1. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2011.01.051>
 95. Asero R. Disappearance of severe oral allergy syndrome following omalizumab treatment. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2017;49(3):143–4.
 96. Aalberse RC. Structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106(2):228–38.
 97. Aalberse RC, Akkerdaas J, van Ree R. Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens. *Allergy*. 2001;56(6):478–90.
 98. García BE, Lizaso MT. Cross-reactivity syndromes in food allergy. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2011;21(3):162–70.
 99. Popescu F-D. Cross-reactivity between aeroallergens and food allergens. *World J Methodol* [Internet]. 2015;5(2):31–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26140270> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4482820>
 100. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Evaluation of allergenicity of genetically modified foods: Report of a joint FAO/WHO expert consultation on allergenicity of foods derived from biotechnology. 2017.
 101. Sicherer SH. Clinical implications of cross-reactive food allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108(6):881–90.
 102. Hauser M, Roulias A, Ferreira F, Egger M. Panallergens and their impact on the allergic patient. *Allergy, Asthma Clin Immunol*. 2010;6(1):1–14.
 103. McKenna OE, Asam C, Araujo GR, Roulias A, Goulart LR, Ferreira F. How relevant is panallergen sensitization in the development of allergies? *Pediatr Allergy Immunol*. 2016;27(6):560–8.
 104. Barber D, De La Torre F, Lombardero M, Antépara I, Colas C, Dávila I, et al. Component-resolved diagnosis of pollen allergy based on skin testing with profilin, polcalcin and lipid transfer protein pan-allergens. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(11):1764–73.
 105. Ciprandi G, Comite P, Bruzzone M, Fontana V. Can pan-allergens affect the sensitization pattern? *Immunobiology* [Internet]. 2017;222(5):726–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0171298517300153>
 106. Radauer C, Willeroider M, Fuchs H, Hoffmann-Sommergruber K, Thalhamer J, Ferreira F, et al. Cross-reactive and species-specific immunoglobulin E epitopes of plant profilins: An experimental and structure-based analysis. *Clin Exp Allergy*. 2006;36(7):920–9.
 107. Santos A, Van Ree R. Profilins: Mimickers of allergy or relevant allergens? *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;155(3):191–204.

108. Rodríguez del Río P, Díaz-Perales A, Sánchez-García S, Escudero C, Ibáñez M, Méndez-Brea P, et al. Profilin, a change in the paradigm. *J Investig Allergol Clin Immunol* [Internet]. 2018;28(1):1–30. Available from: http://www.jiaci.org/revistas/doi10.18176_jiaci.0193.pdf
109. Valenta R, Duchêne M, Pettenburger K, Sillaber C, Valent P, Bettelheim P, et al. Identification of profilin as a novel pollen allergen; IgE autoreactivity in sensitized individuals. *Science (80-)* [Internet]. 1991;253(5019):557–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1857985>
110. Barber D, De La Torre F, Feo F, Florido F, Guardia P, Moreno C, et al. Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: A molecular epidemiological study. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2008;63(11):1550–8.
111. Alvarado MI, Jimeno L, De La Torre F, Boissy P, Rivas B, Lázaro MJ, et al. Profilin as a severe food allergen in allergic patients overexposed to grass pollen. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2014;69(12):1610–6.
112. Rosace D, Gomez-casado C, Fernandez P, Gordo M, Dominguez C, Vega A, et al. Profilin-mediated food allergic reactions are associated with oral epithelial remodeling. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2018; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.03.013>
113. Breiteneder H. Thaumatin-like proteins - A new family of pollen and fruit allergens. *Allergy*. 2004;59(5):479–81.
114. Palacín A, Rivas LA, Gómez-Casado C, Aguirre J, Tordesillas L, Bartra J, et al. The Involvement of Thaumatin-Like Proteins in Plant Food Cross-Reactivity: A Multicenter Study Using a Specific Protein Microarray. *PLoS One*. 2012;7(9):e44088.
115. Hsieh LS, Moos M, Lin Y. Characterization of apple 18 and 31 kd allergens by microsequencing and evaluation of their content during storage and ripening. *J Allergy Clin Immunol*. 1995;96(6):960–70.
116. Inschlag C, Hoffmann-Sommergruber K, O’Riordain G, Ahorn H, Ebner C, Scheiner O, et al. 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;116(1):22–8.
117. Jensen-Jarolim E, Santner B, Leitner A, Grimm R, Scheiner O, Ebner C, et al. Bell peppers (*Capsicum annuum*) express allergens (profilin, pathogenesis-related protein P23 and Bet v 1) depending on the horticultural strain. *Int Arch Allergy Immunol*. 1998;116(2):103–9.
118. Gavrović-Jankulović M, Ćirković T, Vučković O, Atanasković-Marković M, Petersen A, Gojgić G, et al. Isolation and biochemical characterization of a thaumatin-like kiwi allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(5):805–10.
119. Palacín A, Tordesillas L, Gamboa P, Sanchez-Monge R, Cuesta-Herranz J, Sanz ML, et al. Characterization of peach thaumatin-like proteins and their identification as major peach allergens. *Clin Exp Allergy*. 2010;40(9):1422–30.
120. Muñoz-García E, Luengo-Sánchez O, Haroun-Díaz E, Maroto AS, Palacín A, Díaz - Perales A, et al. Identification of thaumatin-like protein and aspartyl protease as new major allergens in lettuce (*Lactuca sativa*). *Mol Nutr Food Res*. 2013;57(12):2245–52.
121. Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Ortolani C, Fortunato D, Gabriella Giuffrida M, et al. Identification of grape and wine allergens as an endochitinase 4, a lipid-transfer protein, and a thaumatin. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(2):350–9.

122. Gandolfo-Cano M, González-Mancebo E, González-De-Olano D, Mohedano-Vicente E, Muñoz-García E, Bartolomé B, et al. Lipid transfer proteins and thaumatins as relevant allergens in melon peel allergy. *Ann Allergy, Asthma Immunol.* 2012;109(3):224–5.
123. Larramendi CH, López-Matas MÁ, Ferrer Á, Huertas ÁJ, Pagán JA, Navarro LÁ, et al. Prevalence of sensitization to cannabis sativa. Lipid-transfer and thaumatin-like proteins are relevant allergens. *Int Arch Allergy Immunol.* 2013;162(2):115–22.
124. Lehto M, Airaksinen L, Puustinen A, Tillander S, Hannula S, Nyman T, et al. Thaumatin-like protein and baker's respiratory allergy. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2010;104(2):139–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anai.2009.11.062>
125. Palomares O, Alcántara M, Quiralte J, Villalba M, Garzón F, Rodríguez R. Airway disease and thaumatin-like protein in an olive-oil mill worker. *N Engl J Med* [Internet]. 2008;358(12):1306–8. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMc0707778%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18354115>
126. Cortegano I, Civantos E, Aceituno E, Del Moral A, López E, Lombardero M, et al. Cloning and expression of a major allergen from *Cupressus arizonica* pollen, Cup a 3, a PR-5 protein expressed under polluted environment. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2004;59(5):485–90.
127. Fernández-Rivas M, Bolhaar S, González-Mancebo E, Asero R, van Leeuwen A, Bohle B, et al. Apple allergy across Europe: How allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118(2):481–8.
128. Finkina EI, Melnikova DN, Bogdanov IV, Ovchinnikova TV. Plant pathogenesis-related proteins PR-10 and PR-14 as components of innate immunity system and ubiquitous allergens. *Curr Med Chem.* 2017;24(17):1772–87.
129. Werfel T, Asero R, Ballmer-Weber BK, Beyer K, Enrique E, Knulst a. C, et al. Position paper of the EAACI: food allergy due to immunological cross-reactions with common inhalant allergens. *Allergy* [Internet]. 2015;70(9):1079–90. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/all.12666>
130. Kleine-Tebbe J, Wangorsch A, Vogel L, Crowell DN, Hausteiner UF, Vieths S. Severe oral allergy syndrome and anaphylactic reactions caused by a Bet v 1-related PR-10 protein in soybean, SAM22. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;110(5):797–804.
131. Mittag D, Vieths S, Vogel L, Becker WM, Rihs HP, Helbling A, et al. Soybean allergy in patients allergic to birch pollen: Clinical investigation and molecular characterization of allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113(1):148–54.
132. Ballmer-Weber BK, Vieths S. Soy allergy in perspective. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2008;8(3):270–5.
133. Scala E, Abeni D, Cecchi L, Guerra EC, Locanto M, Pirrotta L, et al. Molecular Recognition Profiles and Clinical Patterns of PR-10 Sensitization in a Birch-Free Mediterranean Area. *Int Arch Allergy Immunol.* 2017;173(3):138–46.
134. Scala E, Villalta D, Meneguzzi G, Giani M, Asero R. Storage molecules from tree nuts, seeds and legumes: relationships and amino acid identity among homologue molecules. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2018;Epub ahead.
135. Sirvent S, Cantó B, Cuesta-Herranz J, Gómez F, Blanca N, Canto G, et al. Act d 12 and Act d 13: Two novel, masked, relevant allergens in kiwifruit seeds. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(6):1765–7.e4.

136. Moreno FJ, Clemente A. 2S Albumin Storage Proteins: What Makes them Food Allergens? *Open Biochem J* [Internet]. 2008;2:16–28. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2570561&tool=pmcentrez&endertype=abstract>
137. Kleine-Tebbe J, Hamilton RG. Cashew allergy, 2S albumins, and risk predictions based on IgE antibody levels. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2017;72(4):515–8.
138. Pastorello EA, Varin E, Farioli L, Pravettoni V, Ortolani C, Trambaioli C, et al. The major allergen of sesame seeds (*Sesamum indicum*) is a 2S albumin. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 2001;756(1–2):85–93.
139. Dunwell JM, Culham A, Carter CE, Sosa-Aguirre CR, Goodenough PW. Evolution of functional diversity in the cupin superfamily. *Trends Biochem Sci*. 2001;26(12):740–6.
140. Maleki SJ, Chung SY, Champagne ET, Raufman JP. The effects of roasting on the allergenic properties of peanut proteins. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106(4):763–8.
141. Beyer K, Morrow E, Li XM, Bardina L, Bannon GA, Burks AW, et al. Effects of cooking methods on peanut allergenicity. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107(6):1077–81.
142. López-Torrejón G, Salcedo G, Martín-Esteban M, Díaz-Perales A, Pascual CY, Sánchez-Monge R. Len c 1, a major allergen and vicilin from lentil seeds: Protein isolation and cDNA cloning. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112(6):1208–15.
143. Sanchez-Monge R, Lopez-Torrejón G, Pascual CY, Varela J, Martin-Esteban M, Salcedo G. Vicilin and convicilin are potential major allergens from pea. *Clin Exp Allergy*. 2004;34(11):1747–53.
144. Gonzalez R, Polo F, Zapatero L, Caravaca F, Carreira J. Purification and characterization of major inhalant allergens from soybean hulls. *Clin Exp Allergy*. 1992;22(8):748–55.
145. Teuber S, Jarvis K, Dandekar A, Peterson W, Ansari A. 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(6):1311–20.
146. Wang F, Robotham J, Teuber S, Tawde P, Sathe S, Roux K. Ana o 1, a cashew (*Anacardium occidentale*) allergen of the vicilin seed storage protein family. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(1):160–6.
147. Lauer I, Foetisch K, Kolarich D, Ballmer-Weber BK, Conti A, Altmann F, et al. Hazelnut (*Corylus avellana*) vicilin Cor a 11: molecular characterization of a glycoprotein and its allergenic activity. *Biochem J* [Internet]. 2004;383(Pt 2):327–34. Available from: <http://biochemj.org/lookup/doi/10.1042/BJ20041062>
148. Beyer K, Bardina L, Grishina G, Sampson H. Identification of sesame seed allergens by 2-dimensional proteomics and Edman sequencing: seed storage proteins as common food allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(1):154–9.
149. Helm R, Cockrell G, Connaughton C, Sampson H, Bannon G, Beilinson V, et al. A Soybean G2 Glycinin Allergen. 1. Identification and characterization. *Int Arch Allergy Immunol*. 2000;123(3):205–12.
150. Helm R, Cockrell G, Connaughton C, Sampson H, Bannon G, Beilinson V, et al. A Soybean G2 Glycinin Allergen. 2. Epitope mapping and three-dimensional modeling. *Int Arch Allergy Immunol*. 2000;123(3):213–9.
151. Beyer K, Grishina G, Bardina L, Grishin A, Sampson H. Identification of an 11S

- globulin as a major hazelnut food allergen in hazelnut-induced systemic reactions. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(3):517–23.
152. Rabjohn P, Helm EM, Stanley JS, West CM, Sampson HA, Burks AW, et al. Molecular cloning and epitope analysis of the peanut allergen Ara h 3. *J Clin Invest*. 1999;103(4):535–42.
153. Beyer K, Grishina G, Bardina L, Sampson H. Identification of two new sesame seed allergens: Ses i 6 and Ses i 7. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119(6):1551–4.
154. Palomares O, Cuesta-Herranz J, Vereda A, Sirvent S, Villalba M, Rodríguez R. Isolation and identification of an 11S globulin as a new major allergen in mustard seeds. *Ann Allergy, Asthma Immunol*. 2005;94(5):586–92.
155. 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;115(2):108–12.
156. Kukkonen AK, Pelkonen AS, Mäkinen-Kiljunen S, Voutilainen H, Mäkelä MJ. Ara h 2 and Ara 6 are the best predictors of severe peanut allergy: A double-blind placebo-controlled study. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2015;70(10):1239–45.
157. Krause S, Reese G, Randow S, Zennaro D, Quarantino D, Palazzo P, et al. Lipid transfer protein (Ara h 9) as a new peanut allergen relevant for a Mediterranean allergic population. *J Allergy Clin Immunol [Internet]*. 2009;124(4):771–778.e5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2009.06.008>
158. Lauer I, Dueringer N, Pokoj S, Rehm S, Zoccatelli G, Reese G, et al. The non-specific lipid transfer protein, Ara h 9, is an important allergen in peanut. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(9):1427–37.
159. Ishihara H, Takahashi N, Oguri S TS. Complete structure of the carbohydrate moiety of stem bromelain. An application of the almond glycopeptidase for structural studies of glycopeptides. *J Biol Chem*. 1979;254(21):10715–9.
160. Aalberse RC, Koshte V CJ. Immunoglobulin E antibodies that crossreact with vegetable foods, pollen and Hymenoptera venom. *J Allergy Clin Immunol*. 1981;68(5):356–64.
161. 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;129(4):286–95.
162. Foetisch K, Westphal S, Lauer I, Retzek M, Altmann F, Kolarich D, et al. Biological activity of IgE specific for cross-reactive carbohydrate determinants. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(4):889–96.
163. Hemmer W, Altmann F, Holzweber F, Gruber C, Wantke F, Wöhrl S. ImmunoCAP cellulose displays cross-reactive carbohydrate determinant (CCD) epitopes and can cause false-positive test results in patients with high anti-CCD IgE antibody levels. *J Allergy Clin Immunol [Internet]*. 2018;141(1):372–381.e3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2017.04.028>
164. Lannoo N, Van Damme EJM. Review/N-glycans: The making of a varied toolbox. *Plant Sci [Internet]*. 2015;239:67–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.06.023>
165. Altmann F. The role of protein glycosylation in allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;142(2):99–115.
166. Shahali Y, Sutra JP, Hilger C, Swiontek K, Haddad I, Vinh J, Guilloux L, Charpin D,

- Sénéchal PP. Identification of a polygalacturonase (Cup s 2) as the major CCD-bearing allergen in *Cupressus sempervirens* pollen. *Allergy*. 2017;72(11):1806–10.
167. Fötisch K, Altmann F, Haustein D, Vieths S. Involvement of carbohydrate epitopes in the IgE response of celery-allergic patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 1999;120(1):30–42.
168. Yeats TH, Rose JKC. The biochemistry and biology of extracellular plant lipid-transfer proteins (LTPs). *Protein Sci*. 2008;17(2):191–8.
169. 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(5):326–35.
170. 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* [Internet]. 2014;46(3):211–24. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12016-012-8338-7>
171. Sinha M, Singh RP, Kushwaha GS, Iqbal N, Singh A, Kaushik S, et al. Current overview of allergens of plant pathogenesis related protein families. *ScientificWorldJournal* [Internet]. 2014;2014:543195. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3947804&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
172. Duffort OA, Polo F, Lombardero M, Díaz-Perales A, Sánchez-Monge R, García-Casado G, et al. Immunoassay to quantify the major peach allergen Pru p 3 in foodstuffs. Differential allergen release and stability under physiological conditions. *J Agric Food Chem*. 2002;50(26):7738–41.
173. Bernardi ML, Giangrieco I, Camardella L, Ferrara R, Palazzo P, Panico MR, et al. Allergenic Lipid Transfer Proteins from Plant-Derived Foods Do Not Immunologically and Clinically Behave Homogeneously: The Kiwifruit LTP as a Model. *PLoS One* [Internet]. 2011;6(11):e27856. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0027856>
174. Martín-Pedraza L, González M, Gómez F, Blanca-López N, Garrido-Arandia M, Rodríguez R, et al. Two nonspecific lipid transfer proteins (nsLTPs) from tomato seeds are associated to severe symptoms of tomato-allergic patients. *Mol Nutr Food Res*. 2016;60(5):1172–82.
175. Sancho A, Van Ree R, Van Leeuwen A, Meulenbroek BJ, Van De Weg EW, Gilissen LJWJ, et al. Measurement of Lipid Transfer Protein in 88 Apple Cultivars. *Int Arch Allergy Immunol*. 2008;146(1):19–26.
176. Wang J, Vanga SK, Raghavan V. Effect of pre-harvest and post-harvest conditions on the fruit allergenicity: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2017;11:1–17. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2017.1389691>
177. Brenna O V, Pastorello E a, Farioli L, Pravettoni V, Pompei C. Presence of allergenic proteins in different peach (*Prunus persica*) cultivars and dependence of their content on fruit ripening. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2004;52(26):7997–8000. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15612787>
178. Sancho A, Foxall R, Rigby NM, Browne T, Zuidmeer L, Van Ree R, et al. Maturity and storage influence on the apple (*Malus domestica*) allergen Mal d 3, a nonspecific lipid transfer protein. *J Agric Food Chem*. 2006;54(14):5098–104.
179. López-Matas MÁ, Larramendi CH, Ferrer Á, Huertas ÁJ, Pagán JA, García-Abujeta JL, et al. Identification and quantification of tomato allergens: In vitro characterization of six different varieties. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2011;106(3):230–8.

Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anai.2010.11.022>

180. Tordesillas L, Cubells-Baeza N, Gómez-Casado C, Berin C, Esteban V, Barcik W, et al. Mechanisms underlying induction of allergic sensitization by Pru p 3. *Clin Exp Allergy*. 2017;47(11):1398–408.
181. Kader JC. Lipid-transfer proteins in plants, *Annu. Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 1996;47:627–54.
182. Garino C, Zitelli F, Travaglia F, Colsson JD, Cravotto G, Arlorio M. Evaluation of the impact of sequential microwave/ultrasound processing on the IgE binding properties of Pru p 3 in treated peach juice. *J Agric Food Chem*. 2012;60(35):8755–62.
183. van Ree R. Clinical importance of non-specific lipid transfer proteins as food allergens. *Biochem Soc Trans*. 2002;30(Pt 6):910–3.
184. Toriyama K, Hanaoka K, Okada T, Watanabe M. Molecular cloning of a cDNA encoding a pollen extracellular protein as a potential source of a pollen allergen in *Brassica rapa*. *FEBS Lett*. 1998;424(3):234–8.
185. Pravettoni V, Primavesi L, Farioli L, Brenna O V., Pompei C, Conti A, et al. Tomato allergy: Detection of IgE-binding lipid transfer proteins in tomato derivatives and in fresh tomato peel, pulp, and seeds. *J Agric Food Chem*. 2009;57(22):10749–54.
186. Giangrieco I, Alessandri C, Rafaianni C, Santoro M, Zuzzi S, Tuppo L, et al. Structural features, IgE binding and preliminary clinical findings of the 7 kDa Lipid Transfer Protein from tomato seeds. *Mol Immunol [Internet]*. 2015;66(2):154–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2015.02.025>
187. Vejvar E, Himly M, Briza P, Eichhorn S, Ebner C, Hemmer W, et al. Allergenic relevance of nonspecific lipid transfer proteins 2: Identification and characterization of Api g 6 from celery tuber as representative of a novel IgE-binding protein family. *Mol Nutr Food Res [Internet]*. 2013;57(11):2061–70. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/mnfr.201300085>
188. González-Mancebo E, González-de-Olano D, Trujillo MJ, Santos S, Gandolfo-Cano M, Meléndez A, et al. 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.
189. Cuesta-Herranz J, Barber D, Blanco C, Cistero-Bahíma A, Crespo JF, Fernández-Rivas M, et al. Differences among pollen-allergic patients with and without plant food allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010;153(2):182–92.
190. Flores E, Cervera L, Sanz ML, Diaz-Perales A, Fernández J. Plant food allergy in patients with pollinosis from the mediterranean area. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;159(4):346–54.
191. Asero R, Pravettoni V. Anaphylaxis to plant-foods and pollen allergens in patients with lipid transfer protein syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2013;13(4):379–85.
192. Mothes-Luksch N, Raith M, Stingl G, Focke-Tejkl M, Razzazi-Fazeli E, Zieglmayer R, et al. Pru p 3, a marker allergen for lipid transfer protein sensitization also in Central Europe. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2017;72(9):1415–8.
193. Gamboa PM, Cáceres O, Antepará I, Sánchez-Monge R, Ahrazem O, Salcedo G, et al. Two different profiles of peach allergy in the north of Spain. *Allergy*. 2007;62(4):408–14.
194. Vereda A, Van Hage M, Ahlstedt S, Ibañez MD, Cuesta-Herranz J, Van Odijk J, et al.

- Peanut allergy: Clinical and immunologic differences among patients from 3 different geographic regions. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(3):603–7.
195. 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;69(2):128–30.
196. Pastorello E, Farioli L, Pravettoni V, Ortolani C, Ispano M, Monza M, et al. The major allergen of peach (*Prunus persica*) is a lipid transfer protein. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103(3 Pt 1):520–6.
197. Pastorello EA, Ortolani C, Baroglio C, Pravettoni V, Ispano M, Giuffrida MG, et al. Complete Amino Acid Sequence Determination of the Major Allergen of Peach (*Prunus persica*) Pru p 1. *Biol Chem.* 1999;380(11):1315–20.
198. Sánchez-Monge R, Lombardero M, García-Sellés FJ, Barber D, Salcedo G, Sanchez-Monge R, et al. Lipid-transfer proteins are relevant allergens in fruit allergy. *J Allergy Clin Immunol [Internet].* 1999;103(3 Pt 1):514–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10069888>
199. Hartz C, Lauer I, Del Mar San Miguel Moncin M, Cistero-Bahima A, Foetisch K, Lidholm J, et al. Comparison of IgE-binding capacity, cross-reactivity and biological potency of allergenic non-specific lipid transfer proteins from peach, cherry and hazelnut. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;153(4):335–46.
200. Schulten V, Nagl B, Scala E, Bernardi ML, Mari A, Ciardiello MA, et al. Pru p 3, the nonspecific lipid transfer protein from peach, dominates the immune response to its homolog in hazelnut. *Allergy.* 2011;66(8):1005–13.
201. Schulten V, Radakovics A, Hartz C, Mari A, Vazquez-Cortes S, Fernandez-Rivas M, et al. Characterization of the allergic T-cell response to Pru p 3, the nonspecific lipid transfer protein in peach. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124(1):100–7.
202. Tordesillas L, Cuesta-Herranz J, Gonzalez-Muñoz M, Pacios LF, Compés E, Garcia-Carrasco B, et al. T-cell epitopes of the major peach allergen, Pru p 3: Identification and differential T-cell response of peach-allergic and non-allergic subjects. *Mol Immunol.* 2009;46(4):722–8.
203. Pastorello EA, Monza M, Pravettoni V, Longhi R, Bonara P, Scibilia J, et al. Characterization of the T-cell epitopes of the major peach allergen Pru p 3. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;153(1):1–12.
204. Cubells-Baeza N, Gómez-Casado C, Tordesillas L, Ramírez-Castillejo C, Garrido-Arandia M, González-Melendi P, et al. Identification of the ligand of Pru p 3, a peach LTP. *Plant Mol Biol.* 2017;94(1–2):33–44.
205. Muñoz-García E, Luengo-Sánchez O, Moreno-Pérez N, Cuesta-Herranz J, Pastor-Vargas C, Cardona V. Lettuce allergy is a lipid transfer syndrome-related food allergy with a high risk of severe reactions. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2017;27(2):98–103.
206. Gomez F, Aranda A, Campo P, Diaz-Perales A, Blanca-Lopez N, Perkins J, et al. High prevalence of lipid transfer protein sensitization in apple allergic patients with systemic symptoms. *PLoS One.* 2014;9(9):1–7.
207. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S. Detection of some safe plant-derived foods for LTP-allergic patients. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007;144(1):57–63.
208. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Vries SC De, Ciurana CLF, Verbeek E, et al. Lipid Transfer Protein: A Pan-Allergen in Plant-Derived Foods That Is. *Int Arch Allergy Immunol [Internet].* 2001;122(1):67–9. Available from:

- <http://www.karger.com/Article/Abstract/24355>
209. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, Falagiani P. Analysis of the heat stability of lipid transfer protein from apple. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112(5):1009–11.
 210. Tordesillas L, Gómez-Casado C, Garrido-Arandia M, Murua-García A, Palacín A, Varela J, et al. Transport of Pru p 3 across gastrointestinal epithelium - an essential step towards the induction of food allergy? *Clin Exp Allergy.* 2013;43(12):1374–83.
 211. Bodinier M, Legoux MA, Pineau F, Triballeau S, Segain JP, Brossard C, et al. Intestinal translocation capabilities of wheat allergens using the Caco-2 cell line. *J Agric Food Chem.* 2007;55(11):4576–83.
 212. García BE, Lombardero M, Echechipia S, Olaguibel JM, Díaz-Perales A, Sánchez-Monge R, et al. Respiratory allergy to peach leaves and lipid transfer proteins. *Clin Exp Allergy.* 2004;34(2):291–5.
 213. Palacín A, Quirce S, Armentia A, Fernández-Nieto M, Pacios LF, Asensio T, et al. Wheat lipid transfer protein is a major allergen associated with baker's asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120(5):1132–8.
 214. Borghesan F, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, Plebani M, Asero R. Respiratory allergy to lipid transfer protein. *Int Arch Allergy Immunol.* 2008;147(2):161–5.
 215. Pastorello E, Pravettoni V, Farioli L, Rivolta F, Conti A, Ispano M, et al. 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;110(2):310–7.
 216. Lombardero M, García-Sellés FJ, Polo F, Jimeno L, Chamorro MJ, García-Casado G, et al. 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(9):1415–21.
 217. Fernández-Rivas M, Cuevas M. Peels of Rosaceae fruits have a higher allergenicity than pulps. *Clin Exp Allergy.* 1999;29(9):1239–47.
 218. Larocca M, Martelli G, Grossi G, Padula MC, Riccio P, Rossano R. Peel LTP (Pru p 3) - The major allergen of peach-is methylated. A proteomic study. *Food Chem [Internet].* 2013;141(3):2765–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.082>
 219. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, Caldironi G, Barocci F, et al. Immunological cross-reactivity between lipid transfer proteins from botanically unrelated plant-derived foods: A clinical study. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2002;57(10):900–6.
 220. Salcedo G, Sanchez-Monge R, Diaz-Perales A, Garcia-Casado G, Barber D. Plant non-specific lipid transfer proteins as food and pollen allergens. *Clin Exp Allergy.* 2004;34(9):1336–41.
 221. Scala E, Abeni D, Pomponi D, Paganelli R, Locanto M, Giani M, et al. Ole e 1, Ole e 7, and Ole e 9: Identifying distinct clinical subsets of olive tree-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol [Internet].* 2016;137(2):629–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2015.07.009>
 222. Tordesillas L, Sirvent S, Díaz-Perales A, Villalba M, Cuesta-Herranz J, Rodríguez R, et al. 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.

223. Gadermaier G, Harrer A, Girbl T, Palazzo P, Himly M, Vogel L, et al. Isoform identification and characterization of Art v 3, the lipid-transfer protein of mugwort pollen. *Mol Immunol.* 2009;46(10):1919–24.
224. Sánchez-López J, Tordesillas L, Pascal M, Muñoz-Cano R, Garrido M, Rueda M, et al. Role of Art v 3 in pollinosis of patients allergic to Pru p 3. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(4):1018–25.
225. Diaz-Perales A, Lombardero M, Sanchez-Monge R, Garcia-Selles FJ, Pernas M, Fernandez-Rivas M, et al. 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(10):1403–10.
226. Garcia-Selles FJ, Diaz-Perales A, Sanchez-Monge R, Alcantara M, Lombardero M, Barber D, et al. Patterns of reactivity to lipid transfer proteins of plant foods and Artemisia pollen: an in vivo study. *Int Arch Allergy Immunol [Internet].* 2002;128(2):115–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12065911>
227. Palacín A, Cumplido J, Figueroa J, Ahrazem O, Sánchez-Monge R, Carrillo T, et al. Cabbage lipid transfer protein Bra o 3 is a major allergen responsible for cross-reactivity between plant foods and pollens. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117(6):1423–9.
228. Figueroa J, Blanco C, Dumpiérrez AG, Almeida L, Ortega N, Castillo R, et al. Mustard allergy confirmed by double-blind placebo-controlled food challenges: Clinical features and cross-reactivity with mugwort pollen and plant-derived foods. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2005;60(1):48–55.
229. Enrique E, Cisteró-Bahíma A, Bartolomé B, Alonso R, San Miguel-Moncín MM, Bartra J, et al. *Platanus acerifolia* pollinosis and food allergy. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2002;57(4):351–6.
230. Lauer I, Miguel-Moncin MS, Abel T, Foetisch K, Hartz C, Fortunato D, et al. 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(2):261–9.
231. Wangorsch A, Larsson H, Messmer M, García-Moral A, Lauer I, Wolfheimer S, et al. Molecular cloning of plane pollen allergen Pla a 3 and its utility as diagnostic marker for peach associated plane pollen allergy. *Clin Exp Allergy.* 2016;46(5):764–74.
232. Scala E, Cecchi L, Abeni D, Guerra EC, Pirrotta L, Locanto M, et al. Pla a 2 and Pla a 3 reactivities identify plane tree-allergic patients with respiratory symptoms or food allergy. *Allergy [Internet].* 2017;72(4):671–4. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/all.13121>
233. Pascal M, Muñoz-Cano R, Reina Z, Palacín A, Vilella R, Picado C, et al. Lipid transfer protein syndrome: Clinical pattern, cofactor effect and profile of molecular sensitization to plant-foods and pollens. *Clin Exp Allergy.* 2012;42(10):1529–39.
234. SanMiguel-Moncin M, Cistero-Bahima A, Krail M, Scheurer S, Enrique E, Alonso R, et al. Lettuce anaphylaxis: Identification and characterization of a lipid transfer protein as the major allergen. *Allergy.* 2003;58(6):511–7.
235. Pastorello EA, Pravettoni V, Farioli L, Primavesi L, Scibilia J, Piantanida M, et al. Green bean (*Phaseolus vulgaris*): A new source of IgE-binding lipid transfer protein. *J Agric Food Chem.* 2010;58(7):4513–6.
236. Zoccatelli G, Pokoj S, Foetisch K, Bartra J, Valero A, del Mar San Miguel-Moncin M, et al. Identification and characterization of the major allergen of green bean (*Phaseolus vulgaris*) as a non-specific lipid transfer protein (Pha v 3). *Mol Immunol [Internet].* 2010;47(7–8):1561–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2010.01.009>

237. Gandolfo-Cano M, Bartra J, González-Mancebo E, Feo-Brito F, Gómez E, Bartolomé B, et al. Molecular characterization of contact urticaria in patients with melon allergy. *Br J Dermatol*. 2014;170(3):651–6.
238. Miceli Sopo S, Fantacci C, Sani I. Contact urticaria on eczematous skin by kiwifruit allergy: In vivo component-resolved diagnosis. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 2015;43(5):474–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aller.2014.07.006>
239. Asero R. Peach-induced contact urticaria is associated with lipid transfer protein sensitization. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;154(4):345–8.
240. Romano A, Scala E, Rumi G, Gaeta F, Caruso C, Alonzi C, et al. Lipid transfer proteins: The most frequent sensitizer in Italian subjects with food-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2012;42(11):1643–53.
241. Pastorello EA, Robino A. Clinical role of lipid transfer proteins in food allergy. *Mol Nutr Food Res*. 2004;48(5):356–62.
242. 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.
243. Moreno-Perez N, Luengo O, Labrador-Horrillo M, Sala-Cunill A, Guilarte M, Cardona V. Oral Abstract Session OAS 1. Food allergy: diagnosis. LTP Syndrome...new insights into its characteristics. *Allergy*. 2015;70(Supplement 101):1.
244. Zuidmeer L, van Ree R. Lipid transfer protein allergy: primary food allergy or pollen/food syndrome in some cases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007;7(3):269–73.
245. Scala E, Till SJ, Asero R, Abeni D, Guerra EC, Pirrotta L, et al. Lipid transfer protein sensitization: reactivity profiles and clinical risk assessment in an Italian cohort. *Allergy* [Internet]. 2015;70(8):933–43. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/all.12635>
246. Berroa F, Gastaminza G, Saiz N, Azofra J, Gamboa PM, Vela C, et al. In vivo and in vitro techniques in the diagnosis of lipid transfer protein sensitization. *Ann Allergy, Asthma Immunol*. 2013;111(6):571–3.
247. Goikoetxea M, Berroa F, Cabrera-Freitag P, Ferrer M, Núñez-Córdoba J, Sanz M, et al. Do Skin Prick Test and In Vitro Techniques Diagnose Sensitization to Peach Lipid Transfer Protein and Profilin Equally Well in Allergy to Plant Food and Pollen? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2015;25(4):283–7.
248. Gamboa P, Sanz M, Lombardero M, Barber D, Sánchez-Monje R, Goikoetxea M, et al. Component-resolved in vitro diagnosis in peach-allergic patients. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19(1):13–20.
249. Uasuf CG, Villalta D, Conte ME, Di Sano C, Barrale M, Cantisano V, et al. Different co-sensitizations could determine different risk assessment in peach allergy? Evaluation of an anaphylactic biomarker in Pru p 3 positive patients. *Clin Mol allergy*. 2015;13:30.
250. Pastorello EA, Farioli L, Stafylaraki C, Mascheri A, Scibilia J, Pravettoni V, et al. Anti-rPru p 3 IgE levels are inversely related to the age at onset of peach-induced severe symptoms reported by peach-allergic adults. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;162(1):45–9.
251. Fernández-Rivas M, Garrido Fernández S, Nadal JA, De Durana MDAD, García BE, González-Mancebo E, et al. Randomized double-blind, placebo-controlled trial of sublingual immunotherapy with a Pru p 3 quantified peach extract. *Allergy*.

- 2009;64(6):876–83.
252. 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;24(2):168–72.
253. Gomez F, Bogas G, Gonzalez M, Campo P, Salas M, Diaz-Perales A, et al. The clinical and immunological effects of Pru p 3 sublingual immunotherapy on peach and peanut allergy in patients with systemic reactions. *Clin Exp Allergy*. 2017;47(3):339–50.
254. EAACI website [Internet]. [cited 2018 Feb 18]. Available from: http://www.eaaci.org/attachments/199_Italy.htm
255. Palomares F, Gomez F, Bogas G, Paloma C, Perkins JR, Diaz-Perales A, et al. Immunological Changes Induced in Peach Allergy Patients with Systemic Reactions by Pru p 3 Sublingual Immunotherapy. *Mol Nutr Food Res* [Internet]. 2018;62(3):[Epub ahead of print]. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/mnfr.201700669>
256. García BE, González-Mancebo E, Barber D, Martín S, Tabar A, de Durana ADAD, et al. Sublingual immunotherapy in peach allergy: Monitoring molecular sensitizations and reactivity to apple fruit and *Platanus* pollen. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2010;20(6):514–20.
257. Garrido-Fernández S, García BE, Sanz ML, Echechipía S, Lizaso MT, Tabar AI. Are basophil activation and sulphidoleukotriene determination useful tests for monitoring patients with peach allergy receiving sublingual immunotherapy with a Pru p 3-enriched peach extract? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2014;24(2):106–13.
258. Rodriguez M, Mascaraque A, Ramos-Soriano J, Torres M, Perkins J, Gomez F, et al. Pru p 3-Epitope-based sublingual immunotherapy in a murine model for the treatment of peach allergy. *Mol Nutr Food Res*. 2017;61(10):Epub ahead of print.
259. Cisteró-Bahíma A, Alarcón Gallardo E, Navarro Gracia B, Claver Monzón A, Pascal Capdevila M, Díaz-Perales A. Inducción de tolerancia oral (ITO) con zumo de melocotón en pacientes alérgicos a LTP. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2016;26(Supplement 1):140.
260. Suzuki S, Matsuura T, Kimura T, Tazaki T, Fukuda M, Homma T, et al. A case of severe asthma and peach allergy that improved with omalizumab therapy: a case report. *Arerugi*. 2012;61(2):215–23.
261. Kok Loong U. (2016, October). Omalizumab used as treatment in lipid transfer proteins allergy. Poster discussion session presented at the 4th Food Allergy and Anaphylaxis Meeting, Italy (Rome). Abstract recovered from: [Internet]. Available from: http://www.eaaci.org/meetings/FAAM2016-Abstracts/abstracts/FAAM_2016_PD67.pdf
262. Malling H. Methods of skin testing. Position paper: allergen standardization and skin test. *Allergy*. 1993;48(Suppl. 14):55–6.
263. Brown S. Clinical features and severity grading of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(2):371–6.
264. Treudler R, Franke A, Schmiedeknecht A, Ballmer-Weber B, Worm M, Werfel T, et al. Standardization of double blind placebo controlled food challenge with soy within a multicentre trial. *Clin Transl Allergy* [Internet]. 2016;6(1):39. Available from: <http://ctajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13601-016-0129-4>
265. Basagaña M, Elduque C, Teniente-Serra A, Casas I, Roger A. Clinical Profile of Lipid Transfer Protein Syndrome in a Mediterranean Area. *J Investig Allergol Clin Immunol* [Internet]. 2018;28(1):58–60. Available from: <http://www.jiaci.org/summary/vol28->

issue1-num1577

266. Asero R, Piantanida M, Pravettoni V. Allergy to LTP: to eat or not to eat sensitizing foods? A follow-up study. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2018;50(4):156–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29542889%0Ahttp://www.eurannallergyimm.com/cont/journals-articles/592/volume-allergy-ltp-sensitizing-foods.asp>
267. Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Robino AM, Scibilia J, Fortunato D, et al. Lipid transfer protein and vicilin are important walnut allergens in patients not allergic to pollen. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(4):908–14.
268. Tuppo L, Alessandri C, Pomponi D, Picone D, Tamburrini M, Ferrara R, et al. Peamaclein - A new peach allergenic protein: Similarities, differences and misleading features compared to Pru p 3. *Clin Exp Allergy*. 2013;43(1):128–40.
269. Inomata N, Okazaki F, Moriyama T, Nomura Y, Yamaguchi Y, Honjoh T, et al. Identification of peamaclein as a marker allergen related to systemic reactions in peach allergy. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2014;112(2):175–177.e3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anai.2013.11.003>
270. Inomata N, Miyakawa M, Aihara M. High prevalence of sensitization to gibberellin-regulated protein (peamaclein) in fruit allergies with negative immunoglobulin E reactivity to Bet v 1 homologs and profilin: Clinical pattern, causative fruits and cofactor effect of gibberellin-regulated p. *J Dermatol*. 2017;44(7):735–41.
271. Versluis A, van Os-Medendorp H, Kruizinga AG, Blom WM, Houben GF, Knulst AC. Cofactors in allergic reactions to food: physical exercise and alcohol are the most important. *Immunity, Inflamm Dis* [Internet]. 2016;4(4):392–400. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/iid3.120>
272. Niggemann B, Beyer K. Factors augmenting allergic reactions. *Allergy*. 2014;69(12):1582–7.
273. Brockow K, Kneissl D, Valentini L, Zelger O, Grosber M, Kugler C, et al. Using a gluten oral food challenge protocol to improve diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2015;135(4):977–984.e4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2014.08.024>
274. Pascal M, Muñoz-Cano R, Milà J, Sanz ML, Diaz-Perales A, Sánchez-López J, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs enhance IgE-mediated activation of human basophils in patients with food anaphylaxis dependent on and independent of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clin Exp Allergy*. 2016;46(8):1111–9.
275. Palosuo K, Alenius H, Varjonen E, Koivuluhta M, Mikkola J, Keskinen H, et al. A novel wheat gliadin as a cause of exercise-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;103((5 Pt1)):912–7.
276. Pastorello EA, Farioli L, Stafylaraki C, Scibilia J, Mirone C, Pravettoni V, et al. Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis caused by a lipid transfer protein and not by ω -5 gliadin. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2014;112(4):386–387.e1. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S108112061400026X>
277. Allergologia A, Carlo CS, Mi PD. In patients with LTP syndrome food-specific IgE show a predictable hierarchical order. 2014;(8):142–6.
278. Pascal M, Mensa A, Sanchez-Lopez J, Mila J, Millan L, Juan M, et al. Prevalence and clinical relevance of low levels of Pru p 3 specific IgE in patients with peach sensitization. *Clin Transl Allergy* [Internet]. 2013;3(Suppl 3):109. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed13&NEWS=N&>

AN=71840306

279. Just J, Bourgoïn-Heck M, Amat F. Clinical phenotypes in asthma during childhood. *Clin Exp Allergy*. 2017;47(7):848–55.
280. Horimukai K, Hayashi K, Tsumura Y, Nomura I, Narita M, Ohya Y, et al. Total serum IgE level influences oral food challenge tests for IgE-mediated food allergies. *Allergy*. 2015;70(3):334–7.
281. Lack G. Update on risk factors for food allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012;129(5):1187–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.02.036>
282. Patelis A, Gunnbjörnsdóttir M, Borres MP, Burney P, Gislason T, Torén K, et al. Natural history of perceived food hypersensitivity and IgE sensitisation to food allergens in a cohort of adults. *PLoS One*. 2014;9(1):1–7.
283. Savage J, Johns CB. Food Allergy : Epidemiology and Natural History. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015;35(1):45–59.
284. Bousquet J, Anto JM, Sterk PJ, Adcock IM, Chung KF, Roca J, et al. Systems medicine and integrated care to combat chronic noncommunicable diseases. *Genome Med*. 2011;3(7):1–12.
285. Dudley J, Listgarten J, Stegle O, Brenner S, Parts L. Personalized medicine: from genotypes, molecular phenotypes and the quantified self, towards improved medicine. *Pacific Symp Biocomput*. 2015;342–6.

ANEXOS:

ANEXO I. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio: "Fenotipos de alergia alimentaria por sensibilización a LTP en adultos del área mediterránea"

Yo (nombre y apellidos) _____

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He hablado con: _____ (nombre del investigador/ra).

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera
2. Sin tener que dar explicaciones
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha y firma del participante

Fecha y firma del investigador/ra

ANEXO II. CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

Nº de paciente:

NHC:

Nº suero:

Género: mujer / hombre

Fecha de nacimiento:/...../.....

Fecha ISAC:/...../.....

Atopia:

- Rinoconjuntivitis: no / sí / desconocido
- Asma: no / sí / desconocido
- Dermatitis atópica: no / sí / desconocido

Esofagitis eosinofílica: 0= no, 1 = sí, 9 = desconocido

Prick LTP (tamaño pápula/eritema en mm): _____

Prick melocotón (tamaño pápula/eritema en mm): _____

IgE total (CAP, KU/L): _____

sIgE Pru p 3 (CAP, KU/L): _____

sIgE melocotón (extracto comercial, KU/L): _____

Tolerancia al melocotón: _____

Sensibilización neumalérgenos:

Ácaros: 0=no /1=sí / 9=desconocido

Hongos: 0=no /1=si / 9=desconocido

Epitelios: 0=no /1=sí / 9=desconocido

Olivo: 0=no /1=sí / 9=desconocido

Plátano de sombra: 0=no /1=sí / 9=desconocido

Gramíneas: 0=no / 1=sí /9=desconocido

Parietaria: 0=no /1=sí / 9=desconocido

Ciprés: 0=no /1=sí / 9=desconocido

Artemisia: 0=no / 1=sí /9=desconocido

ALIMENTOS

- **Primera reacción con un alimento vegetal**
 - Clínica:
 - Alimento:
 - Presencia cofactor?
 - Edad:
 - Infancia (menor 12 años)
 - Adolescencia (12 – 17 años)
 - Edad adulta (mayor o igual a 18 años)
 - Desconocido

- **Cuestionario de tolerancia de alimentos vegetales**

ALIMENTO	CLÍNICA (Si/No)	sIgE (KU/L)	CLÍNICA BASAL	CEFA (Si/No)	TIPO COFACTOR	CLÍNICA CON COFACTOR
Melocotón						
Manzana						
Pera						
Fresas						
Cerezas						
Ciruelas						
Frambuesa						
Nectarina						
Paraguay						
Níspero						
Albaricoque						
Mango						
Uva						
Kiwi						
Melón						
Plátano						
Piña						

Higo						
Granada						
Nuez						
Cacahuete						
Avellana						
Almendra						
Castaña						
Pipas						
Lechuga						
Tomate						
Judía verde						
Espárragos						
Espinacas						
Alcachofa						
Calabacín						
Berenjena						
Lentejas						
Guisantes						
Trigo						
Mostaza						
Altramuz						
Apio						
Hinojo						

ANEXO III. PRUEBAS CUTÁNEAS

BATERÍA ESTÁNDAR NEUMOALÉRGENOS		
Extracto	Concentración	Marca comercial
Histamina	10mg/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Control negativo		Laboratorios LETI, Barcelona
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	100HEP/ml	Laboratorios LETI Barcelona
<i>Dermatophagoides farinae</i>	100HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
<i>Glyciphagus domésticus</i>	10.000DPU/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
<i>Alternaria alternata</i>	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
<i>Aspergillus fumigatus</i>	10.000DPU/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Grupo Cucarachas	325µg prot. /ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Gamba	1mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Epitelio de perro	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Epitelio de gato	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Epitelio de caballo	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Látex	90µg prot/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
<i>Pinus sp</i>	10.000DPU/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
<i>Bétula verrucosa</i>	30 000DPU/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
<i>Cupressus sempervirens</i>	10.000DPU/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
<i>Olea europea</i>	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
<i>Platanus acerifolia</i>	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Grupo Gramíneas	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
<i>Parietaria judaica</i>	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
<i>Artemisia vulgaris</i>	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
<i>Plantago lanceolata</i>	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
<i>Chenopodium</i>	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
<i>Cynodon dactylon</i>	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
<i>Phragmites comm</i>	30HEP/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Profilina	50µg prot/ml	ALK-Abelló S.A., Madrid
LTP (melocotón)	0,1 mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao

BATERÍA ESTÁNDAR ALIMENTOS		
Extracto	Concentración	Marca comercial
Almendra	7.000µg prot/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Avellana	3.400µg prot/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Cacahuete	5mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Nuez	5mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Piñón	5mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Pistacho	5mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Castaña	10mg/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Pipa de girasol	1200µg prot/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Melón	275µg prot/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Kiwi	20mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Manzana (pulpa y piel)	26,75mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Melocotón (piel)	35µg prot/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Melocotón (pulpa)	20µg prot/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Plátano	20mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Aguacate	430µg prot/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Lechuga	5mg/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Tomate	20mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Judía verde	75µg prot/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Guisante	10mg/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Lenteja	10mg/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Altramuz	5mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Harina de soja	3,55mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Cereales	3,55mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Gluten	5mg/ml	Laboratorios Diater S.A., Madrid
Gliadina	20mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Huevo (entero)	5mg/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Vaca (leche)	5mg/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Pescado blanco	1mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Pescado azul	1mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Calamar	1mg/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Gamba	1mg/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Mejillón	1mg/ml	Laboratorios LETI, Barcelona
Cerdo	20mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Pollo	20mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Mostaza	20mg/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao
Anisakis simplex	10.000DPU/ml	Bial Aristegui, Zamudio, Bilbao

Abreviaciones: DPU: unidades de diagnóstico no estandarizadas biológicamente; HEP: reacción cutánea similar a la provocada por un prick de histamina (Histamine Equivalent Prick Testing); Prot: proteína.

ANEXO IV. CUESTIONARIO PARA LA VALIDACIÓN DE LA RECETA

Fecha: _____

Nº participante: _____

Nombre: _____

Edad: _____

Profesión: _____

Saboree de izquierda a derecha cada una de las tres muestras que tiene frente a usted. ¿Cuál de las tres muestras le parece diferente?

A.

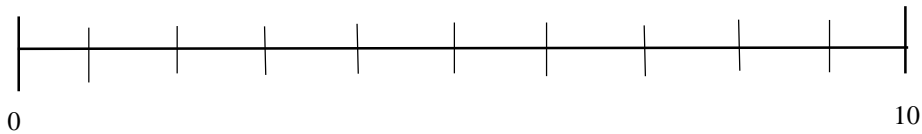
B.

C.

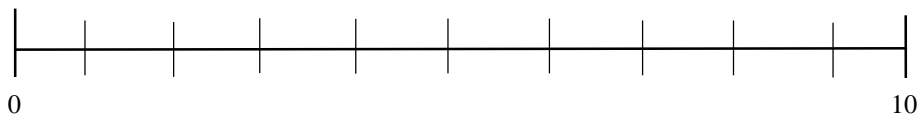
Las tres muestras me parecen iguales. Si es así, por favor indique a continuación la que le parece más diferente: _____.

A continuación, evalúe del 0 (no se diferencia nada) al 10 (se diferencia muchísimo) en qué le parece diferente la muestra escogida respecto a las otras dos valorando de forma separada: olor, textura, sabor y color.

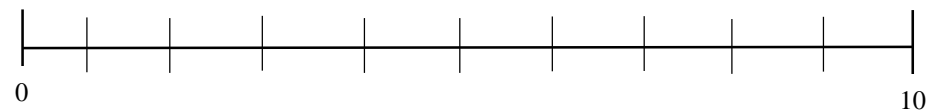
Olor



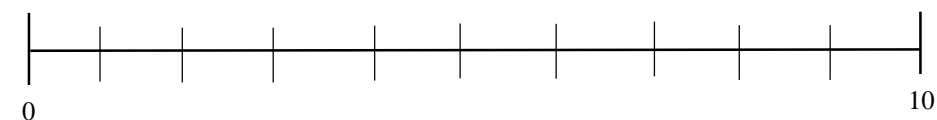
Textura



Sabor



Color



ANEXO V. FORMULARIO PARA LA PRUEBA DE EXPOSICIÓN ORAL

Food challenge day v1.0 www.diagnosing-food-allergy.org

ID/Name: _____ Date of challenge: _____ Blinding key: _____ Dosing schedule: _____
(e.g. study name)

		before challenge		during/after challenge												
				1	2	3	4	5	6	7	8	9				
Blood pressure (mmHg)																
<input type="checkbox"/> PEF	<input type="checkbox"/> FEV ₁	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%		
O ₂ saturation		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%		

Doses

		start time														
				1	2	3	4	5	6	7	8	9				
Food matrix used:	full dose (≥80%)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	partial dose (<80%)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Food matrix used:	full dose (≥80%)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	partial dose (<80%)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		

Discharged If clinically indicated, challenge is stopped
usually an indication to stop the challenge

based on Sampson et al. J Allergy Clin Immunol 2002;109(5):683-94

Delayed reaction? (2-24h after challenge) Has the symptom occurred within 24h before the challenge?

yes no unknown

Time _____ Date _____

Skin

		Time at START of symptoms														
				1	2	3	4	5	6	7	8	9				
Pruritus	1	occasional scratching														
	2	continuous scratching for >2 min at a time														
	3	hard continuous scratching leading to excoriations														
Rash	1	few areas of faint erythema														
	2	areas of erythema (<30%)														
	3	generalized marked erythema (>30%)														
Urticaria	Nives															
	1	<3 number of new hives	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.		
	2	>10 generalized involvement														
Angioedema Lip, Face	1	mild lip edema														
	2	significant lip edema OR face edema														

Respiratory

		Time at START of symptoms														
				1	2	3	4	5	6	7	8	9				
Nose	1	rare bursts, occasional sniffing														
	2	<10 bursts, frequent sniffing OR intermittent rubbing of nose														
	3	long bursts, persistent rhinorrhea OR continuous rubbing														
Eyes	1	intermittent rubbing of eyes														
	2	continuous rubbing, periorcular swelling, redness														
Wheezing	1	expiratory wheezing to auscultation														
	2	inspiratory and expiratory wheezing to auscultation														
	3	use of accessory muscles OR audible wheezing														
Laryngeal	1	persistent throat tightness/pain														
	2	>3 episodes of throat clearing OR cough														
	3	frequent dry cough OR hoarseness														

Gastrointestinal

		Time at START of symptoms														
				1	2	3	4	5	6	7	8	9				
Subjective	1	complaints of nausea OR abdominal pain														
	2	frequent complaints of nausea OR pain with normal activity														
	3	notably distressed due to GI symptoms, with decreased activity														
Oral cavity	1	itchy mouth														
	2	blisters of oral mucosa														
Emesis	number of episodes															
	1	>1	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.		
Diarrhoea	number of episodes															
	1	>1	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.		

Cardio/Neuro

		Time at START of symptoms														
				1	2	3	4	5	6	7	8	9				
Cardio-vascular	1	tachycardia														
	2	>20% drop in blood pressure														
	3	cardiovascular collapse														
Neurologic	1	subjective response (e.g. weak, dizzy)														
	2	significant change in mental status														
	3	loss of consciousness														

Other specify: _____

Treatment

Drug (route)	dose/time	dose/time	Drug (route)	dose/time	dose/time	Drug (route)	dose/time	dose/time
_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____

Challenge day outcome

Negative no or insufficient symptoms, all planned doses given

Inconclusive e.g. stopped on patient's request, symptoms unclear

Positive sufficient symptoms, stopped or symptoms after planned final dose

Challenge stopped? no yes, after dose: _____

Please describe symptom(s) that lead to your conclusion: _____
(to carry on to last dose OR to stop the challenge): _____

Please state severity of the reaction from 0 to 10...
...based on symptoms only: _____
...including e.g. timing, treatment response: _____
...patient's rating: _____

Supervising physician (name/signature): _____

This work is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ANEXO VI. FORMULARIO PARA LA PRUEBA DE FROTAMIENTO O “RUBBING TEST” CON PIEL DE MELOCOTÓN

Nombre: _____

NHC: _____

Nº paciente: _____

Fecha: _____

	Lectura 15'	Lectura 30'	Lectura 45'	Lectura 60'
Hora:				
Piel melocotón				
Piel kiwi				
Guante de nitrilo				

RESULTADO DE LA PRUEBA: _____

ANEXO VII. COMITÉ DE ÉTICA



Vall d'Hebron
Hospital

Pg. Vall d'Hebron, 119-129
08035 Barcelona
Tel. 93 489 38 91
Fax 93 489 41 80
celo@vhlr.org

ID-RTF065

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y COMISIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

Dofia Mireia Navarro Sebastián, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitari Vall d'Hebron,

CERTIFICA

Que el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Vall d'Hebron, en el cual la Comisión de proyectos de investigación está integrada, se reunió en sesión ordinaria nº 235 el pasado 28/09/2015 y evaluó el proyecto de investigación PR(AG)229/2015, con fecha 01/07/2015, titulado "*Patrones de sensibilización a LTP (proteínas íransfendoras de lípidos) y expresión clínica de la alergia alimentaria*" que tiene como investigador principal a la Dra. Victòria Cardona Dahl del Servicio de Alergología de nuestro Centro.

El resultado de la evaluación fue el siguiente:

DICTAMEN FAVORABLE

El Comité tanto en su composición como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el Real Decreto 223/2004, y su composición actual es la siguiente:

Presidenta: Gallego Melcón, Soledad. Médico
Vicepresidente: Segarra Sarries, Joan. Abogado
Secretaria: Navarro Sebastián, Mireia. Química
Vocales: Armadans Gil, Lluís. Médico
Azpiroz Vidaur, Fernando. Médico
Cucurull Folguera, Esther. Médico Farmacóloga
Latorre Arteché, Francisco. Médico
De Torres Ramírez, Inés M. Médico
Femández Liz, Eladio. Farmacéutico de Atención Primaria
Ferreira González, Ignacio. Médico



Fuentelsaz Gallego, Carmen. Diplomada Enfermería
Fuentes Camps, Inmaculada. Médico Farmacóloga
Guardia Massó, Jaume. Médico
Joshi Jubert, Nayana. Médico
Hortal Ibarra, Juan Carlos. Profesor de Universidad de Derecho
Montoro Ronsano, J. Bruno. Farmacéutico Hospital
Rodríguez Gallego, Alexis. Médico Farmacólogo
Sánchez Raya, Judith. Médico
Solé Orsola, Marta. Diplomada Enfermería
Suñé Martín, Pilar. Farmacéutica Hospital
Vargas Blasco, Víctor, Médico
Vilca Yengle, Luz M^ª. Médico

En dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

En el caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, éste se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.

Lo que firmo en Barcelona a 28 de septiembre de 2015

**MIREIA NAVARRO
SEBASTIAN**

Firmado digitalmente por MIREIA NAVARRO SEBASTIAN
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, ou=Serveis Públics de
www.catalonia.cat/webCAT (x509), ou=Serveis Públics de
Certificado: CPDCA-2, cn=MIREIA NAVARRO SEBASTIAN,
givenName=MIREIA, serialNumber=381212262, cn=MIREIA
NAVARRO SEBASTIAN
Fecha: 2015.10.06 13:54:45 +0200

Sra. Mireia Navarro
Secretaria CEIC



Vall d'Hebron
Hospital

Pg. Vall d'Hebron, 119-129
06035 Barcelona
Tel. 93 489 38 91
Fax 93 489 41 80
celo@vhlr.org

ID-RTF067

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y COMISIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

Doña Mireia Navarro, Secretaria del COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA CON MEDICAMENTOS del Hospital Universitari Vall d'Hebron,

CERTIFICA

Que el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Vall d'Hebron , en el cual la Comisión de proyectos de investigación está integrada, se reunió en sesión ordinaria nº 279 el pasado 27/01/2017 y evaluó la Enmienda 1: cambio de título, del proyecto de investigación PR(AG)229/2015 titulado "*Fenotipos de alergia alimentaria por sensibilización a nsLTP en adultos en el área mediterránea*" que tiene como investigador principal a la Dra. Victòria Cardona Dahl del Servicio de Alergia de nuestro Centro.

El resultado de la evaluación fue el siguiente:

DICTAMEN FAVORABLE

El Comité tanto en su composición como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el Real Decreto 1090/2015, y su composición actual es la siguiente:

Presidenta: Gallego Melcón, Soledad. Médico
Vicepresidente: Segarra Sarries, Joan. Abogado
Secretaria: Navarro Sebastián, Mireia. Química
Vocales: Armadans Gil, Lluís. Médico
Azpiroz Vidaur, Fernando. Médico
Balasso, Valentina. Médico
Cucurull Folguera, Esther. Médico Farmacóloga



Institut Català
de la Salut

Hospital Universitari Vall d'Hebron
Universitat Autònoma de Barcelona



De Torres Ramírez, Inés M. Médico
Fernández Liz, Eladio. Farmacéutico de Atención Primaria
Fuentes Camps, Inmaculada. Médico Farmacóloga
Fuentelsaz Gallego, Carme. Enfermera
Guardia Massó, Jaume. Médico
Joshi Jubert, Nayana. Médico
Hortal Ibarra, Juan Carlos. Profesor de Universidad de Derecho
Iavecchia, María Luján. Médico Farmacólogo
Rodríguez Gallego, Alexis. Médico Farmacólogo
Sánchez Raya, Judith. Médico
Solé Orsola, Marta. Diplomada Enfermería
Suñé Martín, Pilar. Farmacéutica Hospital
Vargas Blasco, Víctor, Médico

En dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

En el caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/ colaborador, éste se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.

Lo que firmo en Barcelona a 27 de enero de 2017

**MIREIA NAVARRO
SEBASTIAN**

Firmado digitalmente por MIREIA NAVARRO SEBASTIAN
Número de reconocimiento (ENI): e-ES.0019094186507
www.catalon.cat/verificat/5253, ou=Servicio Público de Certificación
C/NOVA-2, ou=MIREIA NAVARRO SEBASTIAN, postalName=MIREIA,
serialNumber=381212262, cn=MIREIA NAVARRO SEBASTIAN
Fecha: 2017.01.31 13:20:47 +01'00'

Sra. Mireia Navarro
Secretaria CEIm