



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

PATRONES DE REACTIVIDAD CRUZADA EN NIÑOS CON ALERGIA A FRUTAS

CROSS-REACTIVITY PATTERNS IN CHILDREN WITH FRUIT ALLERGY

TRABAJO FIN DE GRADO

FACULTAD DE MEDICINA

GRADO EN MEDICINA

AUTORA: LOURDES SÁNCHEZ MIRANDA

TUTORA: SONIA DE ARRIBA MÉNDEZ

Salamanca, mayo de 2022

Agradecimientos

A todas las personas que creyeron en mí y me acompañaron y apoyaron a lo largo de todo el camino.

A mi tutora, profesores, médicos y pacientes, que me enseñaron a amar aún más la medicina.

“Donde quiera que se ame el arte de la Medicina, se ama también a la Humanidad” - Platón

ÍNDICE

RESUMEN	3
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	5
<i>ALÉRGENOS EN LA ALERGIA A FRUTAS Y REACTIVIDAD CRUZADA</i>	6
<i>CLÍNICA EN LA ALERGIA A FRUTAS</i>	8
<i>DIAGNÓSTICO DE LA ALERGIA A FRUTAS</i>	8
JUSTIFICACIÓN	10
OBJETIVOS DEL ESTUDIO	11
MATERIAL Y MÉTODO	12
<i>CRITERIOS DE INCLUSIÓN</i>	12
<i>VARIABLES A ESTUDIO</i>	12
RESULTADOS	16
<i>ESTUDIO DESCRIPTIVO</i>	16
<i>ANÁLISIS DE LA SENSIBILIZACIÓN A LTP</i>	18
<i>ANÁLISIS DE LA SENSIBILIZACIÓN A PROFILINAS</i>	19
<i>ANÁLISIS DE LA SENSIBILIZACIÓN A PR-10</i>	20
<i>ANÁLISIS DE LA SENSIBILIZACIÓN A CCD</i>	22
<i>ANÁLISIS DE LA SENSIBILIZACIÓN MIXTA</i>	22
<i>OTRAS ASOCIACIONES HALLADAS</i>	22
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIONES	26
BIBLIOGRAFÍA	27



RESUMEN

Las alergias alimentarias son una de las principales causas de consulta en los Servicios de Alergología, suponiendo un 20% de los diagnósticos en primera consulta en los niños. La prevalencia de la alergia a frutas es mayor en la población pediátrica que en la adulta, siendo el melocotón el alimento más frecuentemente implicado en las reacciones alérgicas en los mayores de 7 años. Los principales alérgenos de las frutas son las proteínas PR-10, LTP y profilinas, proteínas que constituyen panalérgenos y que son responsables de la reactividad cruzada entre especies vegetales, responsables de los síndromes pólenes-frutas, o frutas-látex. El diagnóstico molecular puede realizarse con técnicas *in vitro* como el panel ISAC, con el cual estudiamos 112 alérgenos en una única muestra; además, nos permite determinar la cantidad de anticuerpos IgE específicos dirigidos contra esos panalérgenos.

Objetivos: El objetivo principal de este proyecto es analizar la relación entre la gravedad clínica presentada por los pacientes pediátricos en la alergia a frutas y los patrones de reactividad detectados en la técnica molecular diagnóstica de ISAC. Como objetivo secundario, se realizará una descripción etiológica y clínica de la alergia a frutas entre los pacientes de las consultas de Alergología Infantil del Complejo Hospitalario de Salamanca.

Material y método: Se analizaron las historias clínicas de los niños de la consulta con diagnóstico de alergia a frutas en los últimos 6 años, a los cuales se les realizó un diagnóstico molecular mediante el panel ISAC. Para el análisis estadístico se ha utilizado el programa SPSS for Windows, Version 26.0 (IBM Corp, Armonk, New York, USA).

Resultados: Los resultados de las pruebas cutáneas fueron concordantes con el análisis molecular obtenido en el test ISAC. El patrón más prevalente fue el patrón LTP, el cual se asoció a la alergia al melocotón. El 77% de los niños con anafilaxia eran positivos para LTP en el ISAC. La profilina del látex fue la que mayores cifras de IgE alcanzó en la prueba de ISAC entre todos los pacientes sensibilizados a profilinas.

Conclusiones: El estudio molecular, mediante el panel ISAC, en niños alérgicos a frutas, nos permite establecer unos patrones de reactividad que demuestran tener gran valor en el manejo de dichos niños. En nuestro estudio, la profilina de látex tiene mayor rentabilidad diagnóstica que la de Phleum, lo cual, de confirmarse en otras poblaciones, podría cambiar la actitud diagnóstica habitual.

Palabras clave: *alergia a frutas en niños, panalérgenos, reactividad cruzada, prueba molecular ISAC.*



ABSTRACT

Food allergies are one of the main causes of consultation in Allergology Services, accounting for 20% of diagnoses in the first consultation in children. The prevalence of fruit allergy is higher among the paediatric population than in the adults, with peach being the food most frequently involved in allergic reactions in children over 7 years old. The main fruit allergens are PR-10, LTP and profilins, proteins that are pan-allergens and are responsible for cross-reactivity between plant species, responsible for pollen-fruit or fruit-latex syndromes. Molecular diagnosis can be performed within vitro techniques such as the ISAC panel, with which we study 112 allergens in a single sample; furthermore, it does allow determining the amount of specific IgE antibodies directed against these pan-allergens.

Objectives: The main objective of this project is to analyze the relationship between the clinical severity presented by pediatric patients in allergy to fruits and the patterns of reactivity detected in the diagnostic molecular technique of ISAC. As a secondary objective, an etiological and clinical description of fruit allergy among the patients of the Pediatric Allergology consultations of the Salamanca Hospital Complex will be carried out.

Material and method: The medical records of children diagnosed with fruit allergy in the last 6 years, who underwent a molecular diagnosis using the ISAC panel, were analyzed. For the statistical analysis, the SPSS for Windows program, Version 26.0 (IBM Corp, Armonk, New York, USA) was used.

Results: The results of the skin tests were consistent with the molecular analysis obtained in the ISAC test. The most prevalent pattern was the LTP pattern, which was associated with peach allergy. 77% of children with anaphylaxis were positive for LTP at ISAC. Latex profilin was the one with the highest IgE levels in the ISAC test among all patients sensitized to profilins.

Conclusions: The molecular study, through the ISAC panel, in children who are allergic to fruit allows us to establish reactivity patterns that demonstrate great value in the management of these children. In our study, latex profilin has greater diagnostic profitability than Phleum, which, if confirmed in other populations, could change the usual diagnostic attitude.

Keywords: *children's fruit allergy, pan-allergens, cross-reactivity, ISAC molecular test.*



INTRODUCCIÓN

Según la RAE, el término “alergia” proviene del griego y se define como aquella respuesta inmunitaria excesiva provocada en individuos hipersensibles por la acción de determinadas sustancias, especialmente ambientales. ¹

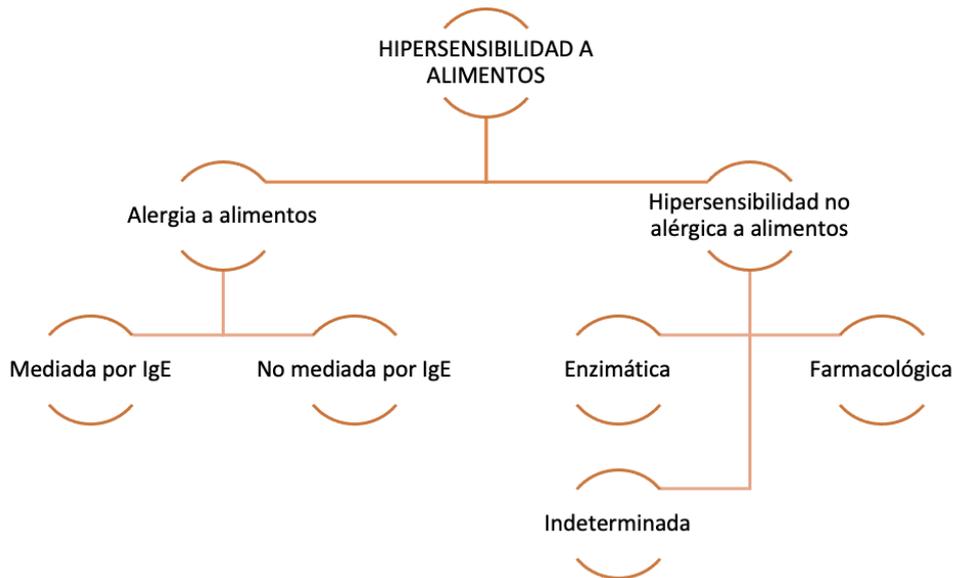


Ilustración 1. Clasificación de las reacciones adversas a alimentos de la Comisión de Nomenclatura de la EAACI refrendada por la WAO.

Las alergias alimentarias son una de las principales causas de consulta en los servicios de Alergología y su prevalencia ha aumentado en las últimas décadas. Son más frecuentes durante la etapa infantil. Se calcula que la relación de la alergia alimentaria adultos-niños es de 1:3,6. En Europa, la prevalencia de la alergia alimentaria en la población infantil es de aproximadamente el 0,3-7,5%. ^{2,3}

Las alergias a frutas suelen ser persistentes, suponiendo hasta el 30% de los casos de alergias alimentarias en la edad adulta. En España, el 57,1% de los niños de entre 6 a 15 años que acudieron a consulta de Alergología, presentaba algún tipo de alergia a frutas. Estas cifras son inferiores en los niños menores de 5 años, siendo entre los 0-2 años del 14,6% y entre los 3-5 años del 22,2%. ⁴



ALÉRGENOS EN LA ALERGIA A FRUTAS Y REACTIVIDAD CRUZADA

En los pacientes alérgicos a frutas es muy frecuente encontrar sensibilizaciones múltiples a otros alimentos vegetales. Además, más del 75% de estos pacientes son alérgicos a pólenes. Esto se explica por la presencia de anticuerpos IgE dirigidos contra panalérgenos, muy extendidos en el reino vegetal, dando lugar a una *reactividad cruzada*. Por reactividad cruzada entendemos aquellos procesos alérgicos producidos por proteínas que el sistema inmune reconoce como “similares”, ya sea por tener una estructura semejante o por estar relacionadas biológicamente.⁵

La mayoría de los alérgenos presentes en la fruta pertenecen a un número limitado de proteínas: PR-10, LTP y profilinas. El desarrollo de alergias a frutas está causado por dichas proteínas.

PR-10

La familia de las proteínas PR forma parte de los mecanismos de defensa de las plantas. Suelen estar conformadas por 154-163 aminoácidos, son ligeramente ácidas, inestables al calor y resistentes a las proteasas.⁶

Estas proteínas comparten epítomos comunes con *Bet v 1*, alérgeno principal del polen del abedul. Se encuentra también en el polen de otras especies de vegetales como las manzanas, apio, zanahorias, nueces, soja... Se calcula que aproximadamente el 70% de los pacientes alérgicos al polen del abedul pueden experimentar síntomas tras el consumo de alguno de esos alimentos⁵⁷. Es lo que se conoce como el síndrome polen-frutas.

Sin embargo, hay pacientes alérgicos al polen que reaccionan a *Bet v 1* en regiones libres de abedul, como es el caso de Salamanca y, en general, del centro y sur de la Península Ibérica. El *quercus*, o encina, es considerado como una de las principales fuentes de PR-10 en el centro de España que, de la misma forma que el abedul, puede dar lugar al síndrome polen-frutas.⁸

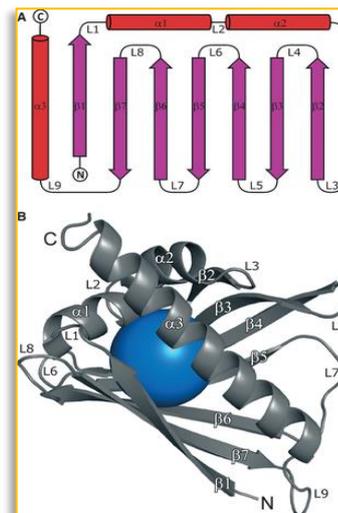


Ilustración 2: Estructura de las proteínas PR.
Fernandes H et al. *Structural and functional aspects of PR-10 proteins.* FEBS J. 2013 Mar; 280(5):1169-99.

PROFILINAS

Las profilinas promueven la polimerización de los filamentos de actina, participando en la generación del citoesqueleto y en el movimiento.⁵

Bet v 2 es la profilina del polen del abedul. Fue la primera profilina alergénica descrita (7). Desde entonces, se han identificado muchas profilinas alergénicas en el polen y en los alimentos vegetales [melón (*Cuc m2*), kiwi (*Act d 9*), avellana (*Cor a 2*), Phleum (*Phl p 12*), látex (*Hev b 8*) y otras muchas].⁹

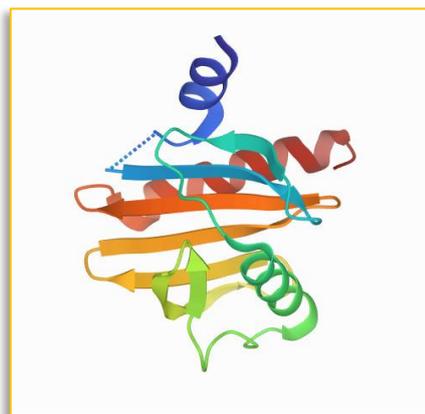


Ilustración 3: Estructura de las proteínas *Bet v 2*. <http://www.rcsb.org>

La alergia a profilinas da lugar al Síndrome de Alergia Oral (SAO), del que hablaremos posteriormente, y es responsable también, en muchas ocasiones, del síndrome látex-frutas, en el cual los alérgicos a látex (30-50%) muestran hipersensibilidad a algunos alimentos de origen vegetal, especialmente a frutas como el aguacate, el plátano, castaña, kiwi y otros, debido a la reactividad cruzada de las profilinas alergénicas.

LTP

También conocidas como proteínas transportadoras de lípidos, las proteínas LTP son los principales alérgenos de la familia de las *rosáceas*. A esta familia pertenecen frutas como el melocotón, la manzana, la pera, la cereza, el albaricoque, la ciruela, la fresa, entre otras. La LTP también está presente en frutos secos y pólenes. Su estructura las hace estables ante el calor y resistentes a la digestión gástrica.¹⁰

Una de las principales diferencias entre las proteínas LTP y las profilinas, es la característica química de estas últimas a ser destruidas, descompuestas o modificadas por acción del calor, es decir, la termolabilidad⁵, siendo las LTP resistentes al calor.

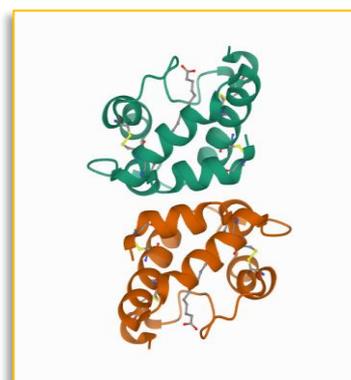


Ilustración 4: Estructura de la LTP. <http://www.rcsb.org>



CLÍNICA EN LA ALERGIA A FRUTAS

Lo más frecuente es que tras la ingesta o el contacto con una fruta, una persona alérgica desarrolle lo que se conoce como el Síndrome Alérgico Oral (SAO), que se caracteriza por una serie de síntomas restringidos a la mucosa oral: prurito, escozor y edema vascular de labios, lengua, paladar y faringe. En ocasiones, también aparece prurito en el oído y sensación de opresión en la garganta ^{11,12}. En menor medida, una alergia a frutas puede manifestarse con síntomas cutáneos (50,3%) o digestivos (8,2%). ⁴

La gravedad de la clínica está determinada por el tipo de proteína alergénica causante de la reacción, de tal forma que las personas alérgicas a las proteínas LTP de la fruta suelen presentar una clínica más grave que los alérgicos a proteínas PR-10 o profilinas. ¹³

DIAGNÓSTICO DE LA ALERGIA A FRUTAS

Una adecuada anamnesis nos da la sospecha, que puede confirmarse con las pruebas cutáneas ¹⁴ y/o medición de la IgE específica, valorando en algunos casos, la realización de una prueba de provocación que confirme o descarte la alergia.

Sin embargo, debido a la reactividad cruzada entre las proteínas alergénicas de las frutas y de otras especies vegetales, puede ser conveniente, la realización de un estudio molecular. Dicho estudio se lleva a cabo mediante la técnica de ImmunoCAP ISAC (ISAC, Thermo Fischer Scientific Uppsaa, Sweden).

La prueba de chip de alérgenos de fase inmune-sólida (ISAC) es un sistema de análisis de microarrays que analiza anticuerpos IgE específicos dirigidos contra alérgenos especie específicos de inhalantes y de alimentos y contra alérgenos responsables de reactividad cruzada (panalérgenos). ¹⁵

Los componentes alergénicos que son inmovilizados en un sustrato sólido en formato de micromatriz, reaccionan con la IgE específica de la muestra del paciente. Después de limpiar la IgE no específica, los anticuerpos antihumanos IgE marcados con fluorescencia se añaden para formar un complejo.



Tras la incubación, los anticuerpos antihumanos IgE marcados con fluorescencia que no se han unido, se eliminan mediante lavado. El procedimiento va seguido de la medición de la fluorescencia mediante un escáner de micromatriz apropiado. Cuánto más elevado sea el valor de respuesta, más IgE específica habrá en la muestra.

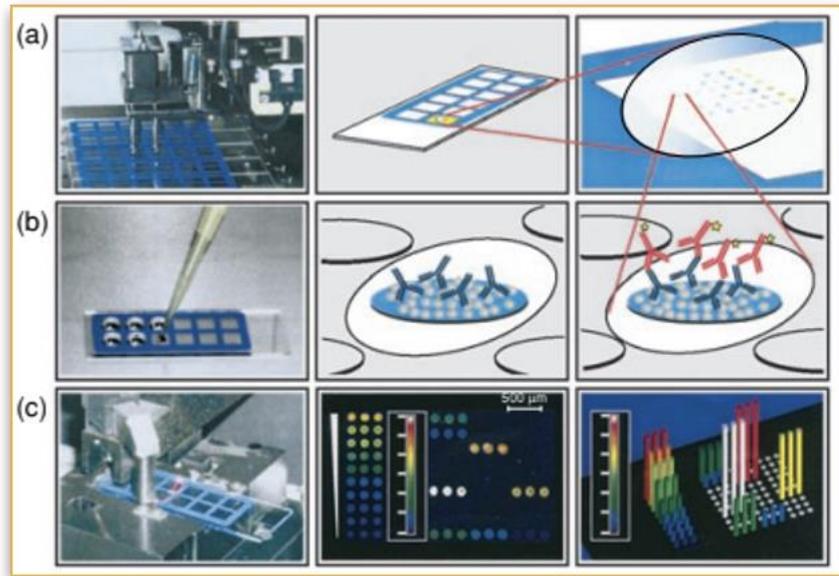


Ilustración 5: Representación esquemática de la técnica de diagnóstico molecular ISAC.
2003 Blackwell Publishing Ltd, "Clinical and Experimental Allergy", 33:7-13

Tras la lectura, el propio sistema informático nos aporta un informe que nos indica las concentraciones de IgE de los pacientes, medidas en unidades ISUE-E (ISAC unidades estandarizadas).

En la actualidad detecta 112 proteínas, que pueden englobarse en diferentes grupos: componentes alimentarios especie-específicos, componentes aeroalérgenos especie-específicos y componentes de reactividad cruzada. Dentro de este último se incluyen las proteínas LTP, PR-10, profilinas, proteína homóloga de la taumatina y CCD.^{15,16}



JUSTIFICACIÓN

Se calcula que, hasta el 57% de los niños que acuden a las consultas de Alergia en España, presentan algún tipo de alergia a frutas. La mayor parte de las proteínas alergénicas en las frutas, como profilinas, LTP o PR-10, son panalérgenos, es decir, que están presentes en otras especies vegetales, ocasionando una reactividad cruzada.

Diversos estudios ponen de manifiesto que las LTP se relacionan con una mayor gravedad en la clínica; en cambio, otros panalérgenos se relacionan con reacciones leves como Síndrome de Alergia Oral (SAO), que es lo más frecuente.

El presente estudio intentará aportar datos sobre los diferentes patrones de sensibilización a las frutas en niños, aportando datos sobre su influencia en la gravedad de las reacciones frente a las frutas y frente a los pólenes, en caso de existir esa sensibilización añadida.



OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El objetivo principal de este proyecto es analizar la existencia de patrones de reactividad cruzada mediante el análisis de la técnica molecular diagnóstica ISAC en los niños alérgicos a frutas.

Como objetivo secundario, se pretende realizar un estudio etiológico y clínico de la alergia a frutas entre los pacientes. Analizaremos si los diferentes patrones de reactividad se relacionan con diferentes manifestaciones clínicas y su gravedad, tanto en la clínica causada por el alimento, como en la clínica respiratoria si presentasen alergia al polen.



MATERIAL Y MÉTODO

Se ha realizado un estudio descriptivo observacional retrospectivo. Los datos se obtuvieron de las historias clínicas de los niños a los que se les había realizado un panel ISAC y que acudieron a la consulta de Alergología infantil del Hospital Universitario de Salamanca, consultando por síntomas tras la ingesta de frutas en los últimos 3 años (desde septiembre de 2018 hasta octubre de 2021).

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Edad menor de 14 años en el momento del estudio alergológico.
2. Diagnóstico de alergia a frutas por concordancia de la clínica con los resultados de las pruebas cutáneas.
3. Estudio molecular mediante el panel ISAC (112 alérgenos).

VARIABLES A ESTUDIO

Se analizaron un total de 128 variables en cada paciente.

1. Variables epidemiológicas y clínicas:

Las variables básicas a estudio fueron: edad, sexo, antecedentes familiares de alergia respiratoria, alergia a frutas o alergia a otros alimentos, antecedentes personales de dermatitis atópica, síntomas de rinitis y conjuntivitis y síntomas de asma, además de la gravedad de cada uno de estos síntomas, la presencia o no de síntomas ante la toma de diferentes tipo de frutas, el tipo de síntomas de cada paciente y presencia o no de factores de riesgo.

Para la clasificación de la rinitis se utilizó la Guía ARIA y sus actualizaciones ¹⁷ y para la clasificación del asma la guía GEMA ¹⁸. En el caso del asma, dado el tamaño muestral, decidimos agrupar las variables en “asma controlada con escalones 1, 2 y 3 de tratamiento” y “asma controlada con escalones 4, 5 y 6”.



2. Variables alergológicas:

Pruebas cutáneas: Las pruebas se realizaron siguiendo las recomendaciones de la Academia Europea de Alergología e Inmunología (EAACI) ¹⁹ con los alérgenos que se consideraron relevantes para un correcto diagnóstico etiológico según el caso.

VARIABLES ESTUDIADAS EN LAS PRUEBAS CUTANÉAS INTRAEPIDÉRMICAS	
PROTEÍNAS	Profilinas, LTP.
PÓLENES	Phleum, artemisa, plantago, cupressus, olivo, platanero, quercus, abedul.
FRUTAS	Albaricoque, aguacate, cereza, ciruela, fresa, higo, kiwi, piel de manzana, pulpa de manzana, piel de melocotón, pulpa de melocotón, sandía, melón, naranja, pera, piña, uva.
FRUTOS SECOS	Almendra, avellana, castaña, nuez, piñón, pistacho, semillas de girasol, cacahuete.
OTROS ALIMENTOS	Trigo, maíz, apio, tomate, zanahoria.
OTROS	Látex.

ISAC: Se estudiaron diferentes alérgenos de reactividad cruzada obtenidos tras la realización de la técnica molecular ISAC o inmunocap (Thermo Fisher Scientific Inc., Phadia AB, Uppsala, Sweden). Esta técnica permite medir un total de 112 alérgenos mediante la realización de un inmunoensayo de fase sólida. Los resultados se analizaron con el software Phadia Microarray Image Analysis (MIA) y se calcularon en unidades estandarizadas ISAC para IgE específica (ISU-E).



VARIABLES ESTUDIADAS EN LA TÉCNICA MOLECULAR DE ISAC

PROTEÍNAS LTP	Prup p 3 (melocotón), Art v 3 (polen artemisa), Ole e 7 (polen olivo), Pla a 3 (polen platanero).
PROFILINAS	Bet v 2 (abedul), Hev b 8 (latex), Mer a 1 (mercurial), Phl p 12 (Phleum).
PROTEÍNAS PR-10	Bet v 1 (polen abedul), Aln g 1 (aliso), Cor a 1.01 (avellano), Mal d 1 (manzano), Pru p 1 (melocotón), Act d 8 (kiwi), Api g 1 (apio).
PROTEÍNAS CCD	nMUXF3

Analizamos en nuestra muestra 5 patrones de respuesta de acuerdo a las proteínas que les sensibilizan:

- Patrón profilina: pacientes sensibilizados únicamente a profilinas.
- Patrón LTP: pacientes sensibilizados únicamente a proteínas LTP.
- Patrón PR-10: pacientes sensibilizados únicamente a proteínas PR-10.
- Patrón CCD: pacientes sensibilizados únicamente a la proteína CCD.
- Patrón mixto: pacientes sensibilizados a varios panalérgenos.

Análisis estadístico

Para obtener los resultados del estudio, se ha utilizado el programa informático IBM SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Versión 26 Armonía, NY: IBM Corp).

Para el estudio descriptivo, en el caso de las variables cuantitativas, se utilizó la determinación de la media, desviación típica, mediana, mínimo y máximo. En el caso de las variables cualitativas, utilizamos tablas de frecuencia y porcentajes.

Las variables cualitativas, además, se compararon mediante la prueba X^2 (Chi-cuadrado), aplicándose la prueba exacta de Fisher. El intervalo de confianza calculado fue del 95% (IC95%). La asociación significativa la establecimos con un p valor menor de 0,05.

Para continuar con el estudio, determinamos la distribución que seguía nuestra muestra.

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Pru p 3 (melocotón)	,289	40	,000	,577	40	,000
Art v 3 (artemisia)	,255	40	,000	,701	40	,000
Ole e 7 (olivo)	,390	40	,000	,286	40	,000
Pla a 3 (platanero)	,283	40	,000	,636	40	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Bet v 1 (abedul)	,382	40	,000	,467	40	,000
Aln g 1 (aliso)	,453	40	,000	,281	40	,000
Cor a 1.01 (avellano)	,433	40	,000	,477	40	,000
Mal d 1 (manzana)	,387	40	,000	,568	40	,000
Pru p 1 (melocotón)	,421	40	,000	,523	40	,000
Act d 8 (kiwi)	,450	40	,000	,364	40	,000
Api g 1 (apio)	,494	40	,000	,167	40	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Bet v 2 (abedul)	,351	40	,000	,587	40	,000
Hev b 8 (látex)	,345	40	,000	,559	40	,000
Mer a 1 (mercurial)	,326	40	,000	,608	40	,000
Phl p 12 (phleum)	,365	40	,000	,555	40	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Ilustración 6: Como el tamaño muestral es <50, utilizamos la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.

Puesto que $p < 0,05$, rechazamos la hipótesis nula y confirmamos que nuestra muestra no seguía una distribución normal, por lo que realizamos pruebas no paramétricas, como la U de Mann-Whitney, para la comparación de variables cualitativas y cuantitativas.



RESULTADOS

ESTUDIO DESCRIPTIVO

Se analizaron un total de 93 historias clínicas, de las cuales, 40 pacientes cumplían con todos los criterios de inclusión. El resto eran niños sensibilizados a frutas pero sin clínica asociada.

De los 40 pacientes, el 55% eran varones. La mediana de edad fue de 7 años.

En consulta, 28 pacientes referían presentar rinoconjuntivitis por pólenes, de los cuales, casi el 90% presentaba una rinoconjuntivitis leve y, tan solo el 10%, una rinoconjuntivitis moderada. Ninguno de los pacientes incluidos en el estudio presentaba rinoconjuntivitis grave.

Del mismo modo, hasta el 57,5% de ellos padecían asma por polen. La mayor parte de ellos (82,6%) presentaba un asma controlada con los escalones 1 y 2 de tratamiento.

El 25% de los niños estudiados, estaban diagnosticados de dermatitis. Por su parte, 11 pacientes tenían antecedentes familiares de rinitis y solamente 8 niños tenían antecedentes familiares de alergia a frutas.

Los síntomas a frutas aparecen representados en la Tabla 1.

TABLA 1: SÍNTOMAS

SÍNTOMAS	n	Porcentaje
PERIORALES SOLO	25	46,3 %
ANGIOEDEMA DE LABIOS, OJOS O ÚVULA	1	1,9 %
RESPIRATORIOS	7	13,0 %
ANAFILAXIA	9	16,7 %
GASTROINTINALES	12	30 %



La fruta más implicada en este grupo poblacional fue el melocotón, produciendo síntomas hasta en el 52,5% de los pacientes (Tabla 2).

TABLA 2: REACCIÓN A FRUTAS

	N	Porcentaje
MELOCOTÓNYSIMILARES	21	52,5%
KIWI	14	35,0%
CEREZA	4	10,0%
MELÓN	15	37,5%
SANDÍA	14	35,0%
PLÁTANO	6	15,0%
NARANJA	3	7,5%
PERA	1	2,5%
PIÑA	5	12,5%
UVAS	1	2,5%
MANZANA	3	7,5%
FRESAS	2	5,0%
TOMATE	3	7,5%

Los niños con anafilaxia tuvieron una mediana de edad de 10 años. El 77% estaban sensibilizados a la LTP, y tuvieron un patrón exclusivo LTP (44%) o mixto (44%). Los dos únicos pacientes con anafilaxia en los que no se observó una sensibilización a LTP fueron un niño con patrón mixto (profilinas + CCD), cuya anafilaxia fue con melón, y el otro paciente tuvo un patrón PR-10 y su clínica había sido con el kiwi.

De los 40 pacientes, el 55% presentaba alergia a otros alimentos además de frutas, siendo los frutos secos los alimentos más asociados (35%).

Analizando los panalérgenos positivos en el ISAC, hallamos una sensibilización a LTP en el 71,1% de los niños estudiados, a la proteína CCD en el 47,4%, a profilinas en el 42,1% y a PR10 en el 31,6% de la muestra. El 47,5% de los niños tenía más de un panalérgeno positivo, siendo la asociación de profilinas y LTP la más frecuente.



ANÁLISIS DE LA SENSIBILIZACIÓN A LTP

Las pruebas cutáneas positivas para LTP se asocian con:

- Sensibilización a LTP en el ISAC ($p < 0,001$).
- Patrón LTP en el ISAC ($p = 0,007$).
- Patrón mixto ($p = 0,030$).
- Positividad de las cutáneas para piel de melocotón ($p < 0,001$).
- Síntomas con melocotón ($p < 0,001$).
- Positividad para kiwi ($p = 0,021$).
- Positividad para las pruebas con avellana ($p = 0,021$), asociación que no fue hallada respecto a otros frutos secos.

Los niños con alergia al melocotón presentaban un patrón LTP ($p = 0,029$) y positividad de las LTP en el ISAC ($p = 0,003$). Ese patrón LTP se asoció a la presencia de otras sensibilizaciones alimentarias ($p = 0,007$), entre las que claramente destacan la sensibilización a frutos secos ($p = 0,024$).

Pruebas cutáneas positivas para piel de melocotón, se relacionan con positividad de LTP en el ISAC ($p = 0,007$), cosa que no sucede con las pruebas para pulpa de melocotón. En cambio, las pruebas cutáneas positivas para sandía y los que tuvieron síntomas con sandía se asociaron a la ausencia de dicho patrón LTP ($p = 0,024$ y $p = 0,027$ respectivamente).

La presencia de rinoconjuntivitis y de asma por alergia al polen fueron más frecuentes en los niños sin patrón LTP ($p = 0,021$ para la rinitis y $p = 0,055$ en el caso del asma). A pesar de ser el asma menos frecuente en los niños con patrón LTP, cuando estos tienen asma, parece ser más grave (escalones 4-6 de tratamiento) ($p = 0,077$).

Pruebas no paramétricas:

Observamos una diferente distribución de la IgE frente a las LTP estudiadas en el ISAC en función del resultado de las pruebas cutáneas para las LTP, hallando mayor IgE frente LTP de melocotón ($p = 0,000$), artemisa ($p = 0,000$) y de platanero ($p = 0,000$), si las pruebas son positivas. De la misma forma se comporta el prick positivo de piel de melocotón y el prick positivo de kiwi respecto a la distribución de la LTP de melocotón ($p = 0,034$), de artemisa ($p = 0,012$) y de platanero ($p = 0,012$).



Análisis de la correlación entre las LTP estudiadas en el ISAC

			Pru p 3 (melocotón)	Art v 3 (artemisia)	Ole e 7 (olivo)	Pla a 3 (platanero)
Rho de Spearman	Pru p 3 (melocotón)	Coefficiente de correlación	1,000	,907**	,334*	,900**
		Sig. (bilateral)	.	,000	,035	,000
		N	40	40	40	40
	Art v 3 (artemisia)	Coefficiente de correlación	,907**	1,000	,355*	,960**
		Sig. (bilateral)	,000	.	,024	,000
		N	40	40	40	40
	Ole e 7 (olivo)	Coefficiente de correlación	,334*	,355*	1,000	,475**
		Sig. (bilateral)	,035	,024	.	,002
		N	40	40	40	40
	Pla a 3 (platanero)	Coefficiente de correlación	,900**	,960**	,475**	1,000
		Sig. (bilateral)	,000	,000	,002	.
		N	40	40	40	40

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

ANÁLISIS DE LA SENSIBILIZACIÓN A PROFILINAS

Existe una relación significativa entre los niños que presentaban pruebas cutáneas positivas para profilinas y la presencia del patrón profilinas ($p=0,009$).

Se observa una asociación entre la rinoconjuntivitis y la positividad de las pruebas cutáneas para profilinas ($p=0,05$).

Se observa mayor frecuencia de positividad a las profilinas en los casos de antecedentes familiares de rinitis, sin que las diferencias alcancen significación estadística.

Los pacientes con pruebas cutáneas positivas para profilinas tenían positivas las profilinas en el ISAC ($p=0,000$).

Pruebas no paramétricas

Observamos una diferente distribución de la IgE frente a las profilinas estudiadas en el ISAC en función del resultado de las pruebas cutáneas para las profilinas, hallando mayor IgE frente a *Bet v 2* (abedul), *Hev b 8* (látex), *Mer a 1* (mercurial), *Phl p 12* (polen de phleum) ($p=0,000$ en todos los casos), si las pruebas son positivas.



Curiosamente, es la IgE frente a la profilina de látex la que aparece positiva en mayor cantidad en todos los pacientes alérgicos a profilinas, a pesar de que ninguno de ellos tuvo síntomas por látex.

Análisis de la correlación entre las profilinas estudiadas en el ISAC

			Bet v 2 (abedul)	Hev b 8 (látex)	Mer a 1 (mercurial)	Phl p 12 (phleum)
Rho de Spearman	Bet v 2 (abedul)	Coefficiente de correlación	1,000	,996**	,993**	,868**
		Sig. (bilateral)	.	,000	,000	,000
		N	40	40	40	40
	Hev b 8 (látex)	Coefficiente de correlación	,996**	1,000	,998**	,857**
		Sig. (bilateral)	,000	.	,000	,000
		N	40	40	40	40
	Mer a 1 (mercurial)	Coefficiente de correlación	,993**	,998**	1,000	,842**
		Sig. (bilateral)	,000	,000	.	,000
		N	40	40	40	40
	Phl p 12 (phleum)	Coefficiente de correlación	,868**	,857**	,842**	1,000
		Sig. (bilateral)	,000	,000	,000	.
		N	40	40	40	40

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

ANÁLISIS DE LA SENSIBILIZACIÓN A PR-10

Las pruebas cutáneas positivas para pulpa de melocotón se asociaron a la presencia de PR-10 en el ISAC. No se encontró ninguna otra relación significativa entre las pruebas cutáneas y patrones PR-10, aunque sí se observó que el prick positivo de artemisa y quercus fue más frecuente en el patrón PR-10 ($p=0,087$ y $p=0,083$ respectivamente).

Los pacientes con prick de almendras y piñón positivas, presentaban proteínas PR-10 en el ISAC ($p=0,045$ y $p=0,011$ respectivamente).

Los síntomas con plátano fueron más frecuentes con presencia de PR-10 en el ISAC ($p=0,055$).



Pruebas no paramétricas:

Por su parte, las cutáneas de pulpa de melocotón influyen en la diferente distribución de la IgE de las PR-10 halladas en el ISAC, teniendo esta valores más altos si dichas pruebas cutáneas son positivas (PR-10 del melocotón (p=0,018), PR-10 de manzana (p=0,016), PR-10 de aliso (p=0,017) y la PR-10 del avellano (p=0,031).

Análisis de la correlación entre las PR-10 estudiadas:

			Correlaciones						
			Bet v 1	Aln g 1	Mal d 1	Pru p 1	Act d 8	Api g 1	Cor a 1.01
Rho de Spearman	Bet v 1	Coeficiente de correlación	1,000	,506**	,910**	,791**	,528**	,102	,729**
		Sig. (bilateral)	.	,001	,000	,000	,000	,532	,000
		N	40	40	40	40	40	40	40
	Aln g 1	Coeficiente de correlación	,506**	1,000	,623**	,706**	,762**	,193	,820**
		Sig. (bilateral)	,001	.	,000	,000	,000	,232	,000
		N	40	40	40	40	40	40	40
	Mal d 1	Coeficiente de correlación	,910**	,623**	1,000	,898**	,635**	,057	,802**
		Sig. (bilateral)	,000	,000	.	,000	,000	,727	,000
		N	40	40	40	40	40	40	40
	Pru p 1	Coeficiente de correlación	,791**	,706**	,898**	1,000	,692**	,105	,653**
		Sig. (bilateral)	,000	,000	,000	.	,000	,521	,000
		N	40	40	40	40	40	40	40
	Act d 8	Coeficiente de correlación	,528**	,762**	,635**	,692**	1,000	,169	,723**
		Sig. (bilateral)	,000	,000	,000	,000	.	,296	,000
		N	40	40	40	40	40	40	40
	Api g 1	Coeficiente de correlación	,102	,193	,057	,105	,169	1,000	,132
		Sig. (bilateral)	,532	,232	,727	,521	,296	.	,419
		N	40	40	40	40	40	40	40
	Cor a 1.01	Coeficiente de correlación	,729**	,820**	,802**	,653**	,723**	,132	1,000
		Sig. (bilateral)	,000	,000	,000	,000	,000	,419	.
		N	40	40	40	40	40	40	40

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).



ANÁLISIS DE LA SENSIBILIZACIÓN A CCD

Los niños que únicamente tenían pruebas cutáneas positivas para profilinas y no para LTP, tenían, además de profilinas en el ISAC, positivas las proteínas CCD ($p=0,002$).

No se encontró ninguna relación significativa entre las pruebas cutáneas y patrones CCD.

Los niños con rinoconjuntivitis tuvieron las CCD positivas en el ISAC ($p=0,02$).

Los niños alérgicos a piña tuvieron un patrón CCD ($p=0,029$).

Las prick de avellanas positivo, así como el de semilla de girasol, se relacionan con la ausencia de CCD en el ISAC ($p=0,027$ y $p=0,033$).

ANÁLISIS DE LA SENSIBILIZACIÓN MIXTA

El ser varón se asoció a la presencia de patrones mixtos de sensibilización ($p=0,030$).

OTRAS ASOCIACIONES HALLADAS

Existe una relación significativa entre antecedentes familiares de alergia a frutas y alergia al melón ($p=0,041$).

Se observa una asociación entre la rinoconjuntivitis y la positividad de las pruebas cutáneas para polen de Phleum ($p<0,001$), polen de plantago ($p=0,004$), polen de cupresáceas ($p=0,003$), polen de olivo ($p=0,039$). No se encuentra asociación de la rinoconjuntivitis con los pólenes de quercus y abedul.

Los síntomas por alergia al melón se asociaron a la positividad cutánea para el polen de plantago ($p=0,013$), mientras que la alergia a sandía se asoció con la positividad para el polen de artemisa ($p=0,013$).



DISCUSIÓN

La alergia a frutas es más frecuente en varones que en mujeres, y adquiere una gran incidencia de los 7 años en adelante ²⁰. Como en nuestro estudio partimos de los pacientes con diagnóstico molecular, no podemos establecer conclusiones epidemiológicas, aunque de forma coincidente, nuestros niños eran principalmente varones.

La sintomatología más frecuente causada por la alergia a frutas en nuestra muestra, es la presencia de síntomas periorales, aunque hemos observado cómo la anafilaxia también tiene una alta frecuencia de presentación. Estudios previos coinciden con los resultados obtenidos ²⁰, indicando que la anafilaxia es mucho más prevalente en torno a los 10 años de edad ²¹. Por otra parte, el 90% de los niños incluidos en el estudio presentaban rinoconjuntivitis alérgica, que, según otros estudios, es una de las principales causas de consulta en los Servicios de Alergología en Europa. ²²

La fruta que con mayor frecuencia produjo alergia en nuestra población fue el melocotón, coincidiendo con la fruta más prevalente en los resultados obtenidos en estudios epidemiológicos realizados con anterioridad. ⁵

En nuestra muestra, el panalérgeno más frecuentemente hallado es la LTP, a pesar de que en estudios previos señalen las profilinas como el más frecuente ⁵. Esto podría deberse a que realizamos con mayor frecuencia estudio molecular a los casos con mayor gravedad o mayor complejidad, lo cual podemos ver reflejado en que este panalérgeno fue el más implicado en las anafilaxias (77%) y el que se asoció a otras sensibilizaciones alimentarias.

La co-sensibilización más frecuente en nuestra muestra fue con las LTP y las profilinas, como ya apuntaban estudios previos realizados en Europa sobre la distribución de los principales grupos alérgicos ⁵. Por localización geográfica, esta asociación es más frecuente en nuestro entorno, mientras que en el norte de Europa, la co-sensibilización predominante es de PR-10 y profilinas. ⁵

Analizando el estudio molecular realizado, la piel del melocotón es más alergénica que la pulpa, lo que podría explicar por qué niños alérgicos al melocotón pueden comerlo cuando retiran la piel. Estudios previos señalan que la piel de todas las frutas *rosáceas* es más alergénica que la pulpa por su mayor presencia de alérgenos ²³. La PR-10 de melocotón (*Prup 1*) se puede encontrar en piel y también en pulpa (*Ballmer-Weber B, Hoffmann-Sommergruber K. B15. ALLERGY TO FRUITS AND VEGETABLES. In: Matricardi P. M. K-TJ, Hoffmann H. J., et al., editor. MOLECULAR ALLERGOLOGY USER'S GUIDE. Switerland: EAACI; 2016*²⁴). En nuestro estudio se encuentran relaciones significativas entre las pruebas cutáneas positivas de pulpa de melocotón con la presencia de PR-10 en el ISAC.

Curiosamente, en el estudio hemos observado, además, que el kiwi se comporta molecularmente de la misma forma que la piel del melocotón, esto podría deberse a las similitudes clínicas existentes entre el grupo de las frutas *rosáceas*, especialmente entre el kiwi y el melocotón. ²⁵

La LTP de olivo tiene muy poca correlación con el resto de LTP estudiadas en el ISAC, debido posiblemente a su baja homología secuencial. ²⁶

La profilina del látex fue la que mayores cifras de IgE alcanzó en la prueba de ISAC entre todos los pacientes sensibilizados a profilinas. Sin embargo, ninguno notificó síntomas ante el látex. Esto podría implicar que el extracto frente al látex tenga mayor sensibilidad que el resto de extractos con los que medimos las profilinas. Algunos estudios sobre la utilización de ISAC para el diagnóstico de alergia a látex, ya informaban de que el propio software categorizaba las señales en tres grupos atendiendo a la intensidad: 1 (baja intensidad), 2 (intensidad media) o 3 (alta intensidad). La mayor parte de la muestras eran clasificadas en el grupo 3 ²⁷. Además, este estudio confirma que la utilización del extracto *Hev b 8-k82 amplificado* aumentaba la cantidad de IgE específica en el 16% de los sueros sensibilizados a látex. Por otra parte, se vio que la utilización del extracto *k82 convencional* podría pasar por alto alguna sensibilización, aumentando los falsos negativos. Es decir, la utilización de *Hev b 8-k82 amplificado*, en lugar del *convencional*, aumenta la sensibilidad de la prueba (sensibilidad *k82 convencional*=62,5% y sensibilidad *k82 amplificado*=70%) ²⁷. Estos resultados nos plantean la posibilidad de que sea más rentable el análisis de la IgE frente a la profilina del látex, que frente a la profilina de Phleum, la cual es mayoritariamente utilizada en



nuestras consultas a la hora de valorar la sensibilización a profilinas, dado que vistos estos resultados, es probable que cuando no realizamos ISAC y estudiamos las IgE específicas aisladas estemos obteniendo falsos negativos.

Por otra parte, en el estudio de correlación se ha visto que, concretamente, la profilina del látex guarda una menor relación con la profilina de Phleum que con el resto de profilinas. Estudios previos indican que el dímero *Phl p 12k* tiene una geometría e interfaz completamente diferente en comparación con el dímero de la profilina del látex (*Hev b 8*), cuya estructura cristalina está determinada²⁸, aunque en general las profilinas son los panalérgenos con mejor correlación entre ellas.

Respecto a las PR-10, la de melocotón se correlaciona más con la de manzana que con la de kiwi, y es la de apio la que menor correlación guarda con el resto de las estudiadas. Estas asociaciones ya se han observado en estudios previos, donde se habla de la relación existente entre las proteínas que tienen mayores secuencias idénticas, como es el caso de la PR-10 del abedul y del avellano o la PR-10 del melocotón y la manzana (*Scala E 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):138-146*²⁹). El resto de proteínas PR-10 presentan un menor número de secuencias idénticas entre sí, en especial, la PR-10 de apio.

Observamos también que los niños de nuestra muestra con profilinas positivas en el ISAC, tenían con más frecuencia rinoconjuntivitis. *Ruiz-Hornillos et al*³⁰ publicaron recientemente un estudio retrospectivo de casos y controles en el que concluyen que todos aquellos pacientes sensibilizados a profilinas presentan más síntomas oculares y nasales que los pacientes no sensibilizados. Además, a mayor sensibilización, mayor gravedad de síntomas. Por tanto, además de guardar relación, la sensibilización a profilina parece ser un marcador de gravedad en pacientes con rinoconjuntivitis, aspecto que no ha sido concordante con nuestros datos.

El componente *MUXF3* CCD del ISAC es un carbohidrato obtenido de la bromelina de la piña y aunque el papel de los carbohidratos o glicoproteínas en la clínica es debatido (*van Ree R. Carbohydrate epitopes and their relevance for the diagnosis and treatment of allergic diseases. Int Arch Allergy Immunol 2002;129:189-97*³¹), en nuestra muestra los niños alérgicos a piña tuvieron un patrón CCD.



CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos fijados, tras el análisis de los resultados, podemos concluir:

1. Gracias al estudio molecular, hallamos los siguientes patrones en base a los panalérgenos positivos: patrón LTP, patrón profilinas, patrón PR-10 y patrón mixto.
2. La clínica alergológica presentada y los resultados de las pruebas cutáneas no se relacionan con la cantidad total de IgE, pero sí con la cantidad de IgE específica a panalérgenos responsables de los diferentes patrones de reactividad cruzada.
3. El panalérgeno hallado con mayor prevalencia en el ISAC es la LTP, y la co-sensibilización más frecuente, la de LTP y profilinas.
4. La sensibilización a LTP parece estar relacionada con una mayor gravedad clínica, pues el 77% de los pacientes que tuvieron anafilaxia, eran alérgicos a dicho panalérgeno.
5. Los niños con perfil CCD son alérgicos a piña y, los niños con perfil LTP, a melocotón.
6. Los niños con perfil LTP presentan alergia a otros alimentos, siendo los frutos secos los más asociados.
7. La profilina de látex fue la que mayores cifras de IgE alcanzó en el ISAC, probablemente por su mayor sensibilidad diagnóstica. Se abre la posibilidad de poder utilizarla como indicador diagnóstico de alergia a profilinas, en lugar de la profilina de Phleum, utilizada mayoritariamente hasta ahora en nuestro medio.



BIBLIOGRAFÍA

1. Real Academia Española [Internet]. [citado el 30 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://dle.rae.es/alergia>
2. Macías Iglesias EM. *Pediatría Integral* 2018. 2nd ed. Vol. XXII. 218AD. 87–93.
3. Loh W, Tang MLK. *The epidemiology of food allergy in the global context. Int J Environ Res Public Health.* 2018;15(9).
4. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. *Alergologica* 2015. Draft Grupo de Comunicación Healthcare; 2017.
5. Andersen M-BS, Hall S, Dragsted LO. *Identification of European Allergy Patterns to the Allergen Families PR-10, LTP, and Profilin from Rosaceae Fruits. Clin Rev Allergy Immunol.* 2011;41(1):4–19.
6. Fernandes H, Michalska K, Sikorski M, Jaskolski M. *Structural and functional aspects of PR-10 proteins. FEBS J.* 2013; 280(5):1169–99.
7. Fernández Rivas M. *Reactividad cruzada en frutas y vegetales [Cross-reactivity between fruit and vegetables]. Allergol Immunopathol.* 2003;31(3):141–6.
8. Subiza J JMAJJ et al. *Clinical aspects of allergic disease Allergenic pollen and pollinosis in Madrid. Allergy Clin Immunol.* 1995;(96):15–23.
9. del Río PR, Díaz-Perales A, Sánchez-García S, Escudero C, Ibáñez MD, Méndez-Brea P, et al. *Profilin, a change in the paradigm. J Investig Allergol Clin Immunol. ESMON Publicidad S.A.;* 2018; 28(1):1–12.
10. Aruanno A, Urbani S, Frati F, Nucera E. *LTP allergy/sensitization in a pediatric population. Allergol Immunopathol. Elsevier Doyma (Madr);* 2020;48(6):763–70.
11. Kondo Y, Urisu A. *Oral Allergy Syndrome. Allergology International [Internet].* 2009 [citado 3 oct 2021];Vol (58). Disponible en: www.jsaweb.jp.
12. Inomata N. *Gibberellin-regulated protein allergy: Clinical features and cross-reactivity. Allergol Int.* 2020;69(1):11–8.
13. Pedrosa M, Guerrero-Sanchez VM, Canales-Bueno N, Loli-Ausejo D, Castillejo MÁ, Quirce S, et al. *Quercus ilex pollen allergen, Que i 1, responsible for pollen food allergy syndrome caused by fruits in Spanish allergic patients. Clin Exp Allergy.* 2020;50(7):815–23.



14. Yu W, Freeland DMH, Nadeau KC. Food allergy: Immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. Nature Publishing Group; 2016;16(12):751–65.
15. Allergy L, Immunology Centre. ISAC Test, ISAC testing & ISAC testing in London [Internet]. London Allergy and Immunology Centre @ Harley Street Medical Centre UK (Private Allergy and Skin specialists). [citado el 30 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://www.allergycliniclondon.co.uk/allergy-tests/isac-test/>
16. Ferrer M, Sanz ML, Sastre J, Bartra J, Cuvillo D, Montoro J, et al. Molecular diagnosis in Allergology: application of the microarray technique. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19(1):19-24.
17. Brożek JL, Bousquet J, Agache I, Agarwal A, Bachert C, Bosnic-Anticevich S, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines—2016 revision. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140(4):950–8.
18. GUÍA ESPAÑOLA PARA EL MANEJO DEL ASMA [Internet]. Gemasma.com. [citado el 22 de enero de 2022]. Disponible en: www.gemasma.com
19. European Academy of Allergy and Clinical Immunology [Internet]. [citado el 22 enero 2022]. Disponible en: <https://www.eaaci.org/>
20. Garde JM. Allergy in Patients Under Fourteen Years of Age in *Alergológica* 2005. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19(2):61-8.
21. Tejedor Alonso MA, Moro Moro M, Múgica García M v. Epidemiology of anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. Blackwell Publishing Ltd; 2015;45(6): 1027–39.
22. Lyons S, Burney P, Ballmer-Weber BK, Fernandez- M, Barreales L, Clausen M, et al. Food allergy in adults: substantial variation in prevalence and causative foods across Europe. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7(6):1920-1928.
23. FernándezRrivas M, Cuevas M. Peels of Rosaceae fruits have a higher allergenicity than pulps. *Clin Exp Allergy*. 1999;29(9):1239-47.
24. 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.
25. Lipp T, Acar Şahin A, Aggelidis X, Arasi S, Barbalace A, Bourgoin A, et al. Heterogeneity of pollen food allergy syndrome in seven Southern European countries: The @IT.2020 multicenter study. *Allergy*. 2021;76(10):3041–52.
26. 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*. 2015;70(8):933–43.



27. Seyfarth F, Schliemann S, Wiegand C, Hipler UC, Elsner P. Diagnostic value of the ISAC® allergy chip in detecting latex sensitizations. *Int Arch Occup Environ Health*. 2014;87(7):775–81.
28. O'Malley A, Kapingidza AB, Hyduke N, Dolamore C, Kowal K, Chruszcz M. Crystal structure of timothy grass allergen Phl p 12.0101 reveals an unusual profilin dimer. *Acta Biochim Pol*. 2021;68(1):15–22.
29. 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.
30. Ruiz-Hornillos J, López-Matas MA, Berges Jimeno P, Henríquez A, Blanco S, Seoane-Rodríguez M, et al. Profilin is a marker of severity in allergic respiratory diseases. *Allergy*. 2020;75(4):853–61.
31. van Ree R. Carbohydrate epitopes and their relevance for the diagnosis and treatment of allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002;129(3):189–97.

