



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Nuevos abordajes en el diagnóstico de la alergia a melocotón por sensibilización a Pru p 3 dependiente y no dependiente de antiinflamatorio no esteroideo

Cynthia Giovanna Araujo Sánchez

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

TESIS DOCTORAL



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

CLÍNIC
BARCELONA
Hospital Universitari

IDIBAPS
Institut
D'Investigacions
Biomèdiques
August Pi i Sunyer

SCAIC
Societat Catalana d'Al·lèrgia i
Immunologia Clínica

“Nuevos abordajes en el diagnóstico de la alergia a melocotón por sensibilización a Pru p 3 dependiente y no dependiente de antiinflamatorio no esteroideo”

Memoria de tesis doctoral presentada por Cynthia Giovanna Araujo Sánchez para optar el grado de doctora por la Universidad de Barcelona

Dirigida por:

Joan Bartra Tomàs

Servicio de Alergología. Institut Clínic Respiratori (ICR); Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS -Inmunoalergia Respiratoria, Clínica y Experimental (IRCE).

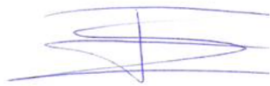
Rosa M Muñoz Cano

Servicio de Alergología. Institut Clínic Respiratori (ICR); Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS-Inmunoalergia Respiratoria, Clínica y Experimental (IRCE).

Programa de Doctorado de Medicina e Investigación Translacional.
Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud. Universidad de Barcelona.

Barcelona. Mayo 2022

El Dr. Joan Bartra Tomàs y la Dra. Rosa M Muñoz Cano aprueban la presentación de la tesis doctoral de la doctoranda Cynthia Giovanna Araujo Sánchez.



Dr. Joan Bartra Tomàs



Dra. Rosa M Muñoz Cano



Cynthia Giovanna Araujo Sánchez

***La perseverancia es el trabajo duro que
haces después de cansarte del trabajo
duro que ya hiciste.***

Newt Gingrich

Gracias FAMILIA (mamá, papá y hermano), por siempre estar presentes.

Agradecimientos

En primer lugar, a ti **GIOVANNA ARAUJO-SÁNCHEZ** por la capacidad de *PERSEVERANCIA Y MOTIVACIÓN* ante todo este tiempo de mucha enseñanza con momentos de todo tipo, empezando de cero en el ámbito de la investigación, e incluso vino una PANDEMIA MUNDIAL y con COVID y no te impidió a seguir, llegado este momento, ¡disfrútalo!, te lo mereces, ¡LO LOGRASTE!, siéntete ORGULLOSA pero no solo ahora sino SIEMPRE.

En segundo lugar, a todos **MIS PACIENTES**, los que forman parte de este gran proyecto, algunos de ellos compañeros de trabajo, gracias por confiar en mí y por apoyar a nuestro equipo de forma voluntaria para emprender este trabajo, sabiendo que el tiempo que no era solo un momento; por contarme sus historias, el fútbol, la comida mexicana, la fotografía, la abogacía, el trabajo de fin de curso, clases de historia y que además algunos de ustedes se desplazaron desde km de distancia para apoyar a la CIENCIA, por un beneficio a futuras personas y a la comunidad alergológica en el ámbito de alergia a alimentos.

A **mi familia**, mi **hermano mayor** (manito) URIEL ARAUJO SÁNCHEZ, mi **mamá** TERESA DE JESÚS SÁNCHEZ ARREDONDO y **papá** J. CRUZ ARAUJO LÓZANO, por SIEMPRE estar ahí, por darme esas palabras que necesitaba en cada momento de esta etapa para no desistir (que hubo momentos), por enseñarme a seguir mis sueños, pero ante todo por no darme por vencida y buscar lo mejor de mí y para mí y ese APOYO INCONDICIONAL, por enseñarme día a día que sin pensar en el resultado; esta sería una

experiencia en mi vida, que me haría crecer como persona y como profesional, así que gracias, gracias, gracias.

A mis compañeros del **ZULO**, compañeros de trabajo (Hospital Clínic y Hospital de Mataró), equipo de estadística, equipo de inmunología, MARÍA PÉREZ, JORDI ROCA, por ayudarme a reclutar pacientes, a preparar el reactivo, por los cafés, las conversaciones, los ánimos, por enseñarme a realizar la PROVOCACIÓN nasal que fueron unos cuantos meses de entrenamiento e incluso algunos de ustedes fueron mis “**CONEJILLOS DE INDIAS y PRESTARME SUS NARICES**” para llevar a cabo este proyecto, gracias por regalarme un TIEMPO de su día a día para apoyar a la CIENCIA, pero lo más IMPORTANTE por apoyarme a mí.

Gracias a mis directores de tesis doctoral **ROSA M MUÑOZ y JOAN BARTRA** que fueron momentos muy difíciles, algunos de ellos, pero aquí estamos, ya TERMINADA, ¡¡¡¡¡así que GRACIAS!!! por acompañarme en este camino, por las reuniones, los cafés, las “lluvias de ideas” y por enseñarme las herramientas necesarias, especialmente en el ámbito de la investigación. Mucho he aprendido, y este aprendizaje se quedará por siempre.

A **CÉSAR PICADO**, por que unas PALABRAS DE APOYO, pudieron ser suficientes para seguir adelante, pero lo más importante; por ser un ejemplo para seguir, en muchos aspectos, no solo el profesional, gracias, gracias.

A mis **AMISTADES**, amigos/a de México, compañeras de despacho, amigas en donde una profesión nos unió, amigos/a de la residencia, porque en

muchas ocasiones de vida social uno de mis temas monótonos era la tesis doctoral!, pero eso no importaba, siempre encontraron la palabra de aliento necesaria para que siguiera adelante, relativizar y lo más importante: **creer en mí.**

Y a ti, **Tía Mariela...**, mi ángel en el cielo, por SIEMPRE estar PRESENTE, tú enseñanza y fortaleza, han sido parte de cada etapa de este proyecto, en especial la última de ellas.

¡A todos ustedes, gracias!

“Apunta a la luna. Incluso si fallas, aterrizarás en las estrellas.”

Les Brown

Financiación

La investigación presentada en esta Tesis doctoral se ha realizado en el Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS) e Inmunoalergia Respiratoria, Clínica y Experimental (IRCE) del Hospital Clínic de Barcelona. Además, dentro del contexto de la Red de Asma, ReaccionesADversas y Alergia (ARADyAL) del Instituto de Salud Carlos III, a la que este grupo pertenece, se han establecido colaboraciones con el grupo de la Dra. María José Torres y Dra. Immaculada Doña, del grupo de investigación en Alergología del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga-IBIMA y Dra. Victoria Cardona, del Instituto de Investigación de Vall d'Hebron, Barcelona.

El apoyo financiero principal para la realización de esta Tesis Doctoral ha sido proporcionado por una beca de investigación otorgada por la Sociedad Catalana de Alergia e Inmunología Clínica (SCAIC) en 2017; Ministerio de Economía y Competitividad. Instituto Carlos III, número de convocatoria premiada: FIS-PI11/01326 y FIS-PI16/00696 y contrato de investigación de RETICS (Redes temáticas de investigación en salud) y ARADyAL (Red nacional de alergia: Asma, reacciones adversas y alérgicas). Cód of: RD16/0006/0007 con referencia de la convocatoria: FU-03/17, adscrita al Instituto Carlos III.



Índice

Abreviaturas y acrónimos.....	9
Índice de tablas y figuras.....	11
Enumeración de los artículos que componen la tesis.....	14
1. Resumen de la tesis.....	15
1. Subproyecto 1.....	16
2. Subproyecto 2.....	18
2. Introducción.....	20
1. Alergia a alimentos.....	21
2. Alergia a alimentos por LTP.....	23
3. Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).....	34
4. Pruebas de provocación en mucosas en alergia	38
3. Hipótesis y objetivos.....	49
3.1 Hipótesis.....	50
3.2 Objetivos.....	51
1. Objetivo principal 1.....	51
1.1. Objetivos secundarios.....	51
2.1. Objetivo principal 2.....	51
2.1.1. Objetivos secundarios.....	51
4. Material y métodos.....	53
4.1. Objetivo 1.....	54
4.2. Objetivo 2.....	57
5. Resultados.....	73
5.1. Objetivo 1.....	74
5.2. Objetivo 2.....	85
6. Discusión.....	127
7. Conclusiones.....	140
8. Bibliografía.....	142
9. Anexos.....	157

Abreviaturas y acrónimos

AA: alergia a alimentos

AINE: antiinflamatorio no esteroideo

COX: ciclooxigenasa

dpVNM2-6: disminución en % del volumen nasal medio en la cavidad nasal donde se localiza la cabeza del cornete inferior (VOL 2-6cm)

EAACI: Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica

ENDA: corresponde al acrónimo en inglés de un grupo de trabajo de la EAACI para el estudio de alergia a fármacos: European Network for Drug Allergy

EVA: escala visual analógica

FDEIAn: anafilaxia por alergia a alimentos inducida por ejercicio en sus siglas en inglés (Food-dependent exercise-induced anaphylaxis)

FDNIAn: anafilaxia por alergia a alimentos inducida por AINE en sus siglas en inglés (Food-dependent NSAID-induced anaphylaxis). NSAID (non-steroidal antiinflammatory drug): AINE.

FDNIH: alergia a alimentos inducida por AINE en sus siglas en inglés (Food-dependent NSAID-induced hypersensitivity)

FDNIH-LTP: alergia a alimentos por sensibilización a LTP inducida por AINE en sus siglas en inglés (Food-dependent NSAID-induced hypersensitivity associated to LTP)

LTP: proteína transportadora de lípidos en sus siglas en inglés (Lipid Transfer Protein)

NECD: enfermedad cutánea exacerbada por AINE en sus siglas en inglés (NSAID-exacerbated cutaneous disease)

NERD: enfermedad respiratoria exacerbada por AINE en sus siglas en inglés (NSAID-exacerbated respiratory disease)

NIDHR: reacción de hipersensibilidad no inmediata inducida por AINE en sus siglas en inglés (NSAID-induced delayed hypersensitivity reactions)

NIUA: urticaria/angioedema inducido por AINE en sus siglas en inglés (NSAID-induced urticaria/angioedema)

PCM: prueba cutánea a medicamentos

PGE₂: prostaglandina E2

PIE: prueba cutánea intraepidérmica

PPC: prueba de provocación conjuntival

PPN: prueba de provocación nasal

PPNp: prueba de provocación nasal con Pru p 3

PPO: prueba de provocación oral

PPODCCP: prueba de provocación oral a doble ciego controlada con placebo

Pru p 3: LTP del melocotón

RAc: rinometría acústica

SAO: síndrome de alergia oral

SSF: suero salino fisiológico (NaCl 0.9%)

TAB: test de activación de basófilos

SNIUAA: urticaria/angioedema/anafilaxia inducida por un AINE en sus siglas en inglés (single NSAID-induced urticaria/angioedema/anaphylaxis)

TNSS/T4NSS: puntuación total de síntomas nasales en sus siglas en inglés (Total nasal symptom score)

T3OSS: puntuación total de síntomas oculares en sus siglas en inglés (Total ocular symptom score)

Índice de tablas y figuras

TABLAS

Tabla 1. Distribución de las LTPs alergénicas en el reino vegetal.....	24
Tabla 2. Clasificación de las reacciones de hipersensibilidad por antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).	36
Tabla 3. Criterios de positividad de la provocación nasal con alérgeno según el documento de posicionamiento de la EAACI.....	41
Tabla 4. Pruebas de provocación con alimento en mucosa nasal y conjuntival en alergia a alimentos mediada por IgE.....	47
Tabla 5. Características demográficas de los pacientes FDNIH	74
Tabla 6. Características clínicas de los pacientes FDNIH: AINEs y alimentos implicados, síntomas y sensibilización IgE específica.....	75
Tabla 7. AINEs implicados en las reacciones FDNIH.....	80
Tabla 8. Intervalos de tiempo de entre la toma del AINE, ingesta de algún alimento y el inicio de la reacción en pacientes FDNIH.....	81
Tabla 9. Análisis de regresión logística univariante (A) y multivariante (B) para el diagnóstico de FDNIH cuando se sospecha de una reacción de hipersensibilidad aguda a los AINEs	83
Tabla 10. Características de la población y criterios de inclusión en el estudio.....	84
Tabla 11. Características clínicas y perfil de sensibilización individuales de los pacientes.....	86
Tabla 12. Perfil de sensibilización a LTP	92
Tabla 13. Cambios en el VNM2-6 medido mediante RAC.....	93
Tabla 14. Diferencias en el VNM2-6 inducidas por la concentración de Pru p 3 de 25 µg/mL entre los grupos de estudio.....	94
Tabla 15. Cambios en el VNM2-6 medido mediante RAc de los grupos de estudio en la PPNp....	94
Tabla 16. Incremento de los síntomas medidos mediante la EVA nasal al usar la máxima concentración (25 µg/mL) de Pru p 3.....	96
Tabla 17. Diferencias en la EVA nasal inducida por la concentración de Pru p 3 de 25 µg/mL entre los grupos de estudio.....	96
Tabla 18. Diferencias en la EVA nasal de los grupos de estudio en la PPNp.....	97
Tabla 19. Incremento de los síntomas usando el T4NSS nasal con la máxima concentración (25 µg/mL) de Pru p 3.....	99

Tabla 20. Incremento de los síntomas usando el T4NSS nasal con la máxima concentración (25 µg/mL) de Pru p 3 entre los grupos de estudio.....	100
Tabla 21. Incremento de los síntomas usando el T4NSS nasal en los grupos de estudio.....	100
Tabla 22. Incremento de los síntomas medidos mediante la EVA ocular al usar la máxima concentración (25 µg/mL) de Pru p 3.....	103
Tabla 23. Diferencias en la EVA ocular inducida por la concentración de Pru p 3 de 25 µg/mL entre los grupos de estudio.....	103
Tabla 24. Diferencias en la EVA ocular de los grupos de estudio.....	104
Tabla 25. Incremento de los síntomas usando el T3OSS con la máxima concentración (25 µg/mL) de Pru p 3.....	106
Tabla 26. Diferencias en el T3OSS inducidas por la concentración de Pru p 3 de 25 µg/mL entre los grupos de estudio.....	106
Tabla 27. Diferencias en el T3OSS de los grupos de estudio.....	107
Tabla 28. Diámetro de las pruebas cutáneas intraepidérmicas con Pru p 3.....	110
Tabla 29. Análisis de los 6 criterios de positividad en la prueba de provocación nasal con Pru p 3 25 µg/mL aplicados en alergia respiratoria de los grupos de estudio	112
Tabla 30. Resultados individuales de la PPNp del grupo control (Pru p 3 25 µg/mL).....	114
Tabla 31. Resultados individuales de la PPNp del grupo A	115
Tabla 32. Resultados individuales de la PPNp del grupo B.....	116
Tabla 33. Resultados individuales de la PPNp del grupo X.....	118
Tabla 34. Puntos de corte para diferenciar una PPNp en los individuos a la concentración máxima de 25 µg/mL	120
Tabla 35. Sensibilidad y especificidad de los puntos de corte con diferencias estadísticamente significativas que diferencian los diferentes grupos clínicos.....	121

FIGURAS

Figura 1. Clasificación de reacciones adversas a alimentos.....	22
Figura 2. Reactividades cruzadas descritas hasta el momento actual entre diferentes LTPs.....	26
Figura 3. Identidad de secuencia entre las diferentes LTPs.....	27
Figura 4. Metabolismo del ácido araquidónico.....	35
Figura 5. Esquema de la realización de la prueba de provocación nasal con Pru p 3 (PPNp).....	62
Figura 6. Preparación de nPru p 3 para las provocaciones nasales.....	71
Figura 7. Porcentaje de sensibilización a aeroalérgenos.....	90

Figura 8. Porcentaje de sensibilización a alimentos vegetales.....	91
Figura 9. Disminución del volumen nasal entre los centímetros 2-6 (dpVNM2-6)	95
Figura 10. Incremento de los síntomas medidos mediante EVA nasal modificada	98
Figura 11. Evaluación del incremento de los síntomas mediante T4NSS.....	101
Figura 12. Incremento de los síntomas medidos mediante EVA ocular modificada.....	104
Figura 13. Evaluación del incremento de los síntomas mediante T3OSS.....	108
Figura 14. Correlación entre la EVA nasal y el T4NSS	109
Figura 15. Curvas ROC para la dpVNM2-6, EVA nasal, T4NSS y PIE de los grupos con significación estadística	122
Figura 15A. Grupo C: dpVNM2-6.....	122
Figura 15B. Grupo C: EVA nasal.....	122
Figura 15C. Grupo C: T4NSS.....	122
Figura 15D. Grupo C: PIE 25 µg/mL.....	122
Figura 15E. Grupo B: dpVNM2-6.....	123
Figura 15F. Grupo B: EVA nasal.....	123
Figura 15G. Grupo B: T4NSS.....	123
Figura 15H. Grupo B: PIE 25 µg/mL.....	123
Figura 15I. Grupo A+B: dpVNM2-6.....	124
Figura 15J. Grupo A+B: EVA nasal.....	124
Figura 15K. Grupo A+B: T4NSS.....	124
Figura 15L. Grupo A+B: PIE 25 µg/mL.....	124
Figura 16. Algoritmo diagnóstico propuesto para el fenotipo FDNIH-LTP: reacciones de hipersensibilidad inducidas por AINEs, dependientes de alimentos.....	132

Enumeración de los artículos que componen la tesis

La tesis se ha realizado en formato clásico con un artículo anexo, y consta de 6 objetivos (2 principales y 4 secundarios). Los resultados de la tesis han dado lugar a la publicación de un artículo. Actualmente en fase de preparación de un segundo artículo.

Autores: Jaime Sánchez-López MD, PhD, **Giovanna Araujo MD**, Victoria Cardona MD, PhD, Alba García-Moral MD, PhD, Rocío Casas-Saucedo MD, Mar Guilarte MD, PhD, María José Torres MD, PhD, Inmaculada Doña MD, PhD, César Picado MD, PhD, Mariona Pascal MD, PhD, Rosa Muñoz-Cano MD, PhD, Joan Bartra MD, PhD.

Título: Food-dependent NSAID-induced hypersensitivity reactions (FDNIH): unraveling the clinical features and risk factors.

Revista: Allergy.

Factor de impacto según el JCR (2021): 13.15 que corresponde al primer cuartil del área de conocimiento: Alergología e Inmunología

1. Resumen de la tesis

Esta tesis está dividida en dos subproyectos.

1.Subproyecto 1:

Título: “Alergia a alimentos inducida por AINE (FDNIH): desvelando sus características clínicas y los factores de riesgo”.

Food-dependent NSAID-induced hypersensitivity reactions (FDNIH): unraveling the clinical features and risk factors.

Introducción: Hasta en un 70-80% de pacientes con una sospecha de hipersensibilidad a los AINEs, las pruebas de exposición oral con el AINE implicado en la reacción tienen un resultado negativo, es decir, el paciente tolera el AINE. Por otro lado, puede existir un sobrediagnóstico de hipersensibilidad a los AINEs cuando la anafilaxia es la manifestación clínica principal, dado que se suele evitar la realización de pruebas de exposición. Nuestra hipótesis principal es que algunos de los pacientes con historia de reacciones de hipersensibilidad a AINEs y pruebas de exposición negativas, y algunos de los pacientes con historia de anafilaxia por un AINE, presentan en realidad una alergia alimentaria inducida por AINE (FDNIH).

Métodos: Reclutamos 328 pacientes con una sospecha de haber presentado una reacción de hipersensibilidad inmediata a uno o más AINEs. Todos los pacientes fueron sometidos a un estudio alergológico que consistió en la realización de pruebas cutáneas a los alérgenos alimentarios más prevalentes de nuestra área, incluyendo la LTP del melocotón (Pru p 3) (100 µg/mL) y gliadina (5mg/mL) y alérgenos respiratorios. Sí, el alimento alergénico involucrado en la reacción no se encontraba disponible con el extracto comercial se realizó prick-prick. Determinación de IgE específica a rPru p 3 y a la omega-5 gliadina (rTri a 19). En aquellos pacientes con pruebas positivas a alimentos, se realizó el estudio de hipersensibilidad a AINEs con pruebas cutáneas (si disponibles según guía ENDA) y posteriormente una prueba de exposición oral al AINE y/o AINEs implicados. Se diagnóstico de FDNIH en aquellos pacientes con los siguientes criterios: (1) prueba de exposición oral negativa con el AINE y/o AINEs implicado(s) en la reacción, (2) síntomas cutáneos o respiratorios o anafilaxia relacionada con la toma de un AINE, con un intervalo máximo de 8 horas entre la toma del AINE e inicio de síntomas, (3) pruebas cutáneas intraepidérmicas y/o IgE específicas positivas a los alimentos implicados en la reacción a los alérgenos alimentarios (Pru p 3, Tri a 19) y (4) tolerancia al alimento(s) ingerido(s) justo antes de la reacción, con un intervalo máximo de 6 horas entre la toma del alimento implicado y el inicio de síntomas.

Resultados: 199 pacientes (60%) fueron diagnosticados de hipersensibilidad a los AINEs y 52 (16%) de FDNIH. De estos, estaban sensibilizados a proteínas transportadoras de lípidos (LTP) (Pru p 3 como marcador) en 44 casos (84.6%) y a la omega-5-gliadina (Tri a 19) en 6 casos (11%). Los pacientes con FDNIH eran más jóvenes que el resto ($P<0.001$), con una alta prevalencia de rinitis ($P<0.001$) y sensibilización a pólenes ($P<0.001$), y presentaban más frecuentemente una alergia a alimentos (AA) previa ($P<0.001$). Finalmente, cuatro variables (sensibilización a Pru p 3 o Tri a 19, anafilaxia y cualquier AINE no perteneciente a la familia de las pirazolonas), permiten clasificar correctamente el 95.3% de los casos de FDNIH, con una sensibilidad del 92% y especificidad del 96%.

Conclusión: La evaluación de la alergia alimentaria inducida por AINE debería incluirse en el algoritmo diagnóstico de la hipersensibilidad inmediata a los AINEs. Pese a que podría variar en función de la zona geográfica, en nuestra área la alergia a LTP junto a la omega 5-gliadina, son los alérgenos que deberían estudiarse de forma sistemática.

2. Subproyecto 2

Título: “Utilidad de la provocación nasal con Pru p 3 en el diagnóstico de los diferentes fenotipos de alergia a melocotón en contexto de sensibilización a LTP”.

Introducción: La prueba de provocación oral a doble-ciego controlada con placebo (PPODCCP) se considera el *gold standard* para el diagnóstico de alergia a alimentos (AA). Sin embargo, su uso en la práctica clínica habitual está poco extendido por las dificultades logísticas que conllevan (ej., el consumo de tiempo y la necesidad de infraestructura y equipo médico cualificado), el riesgo de reacciones, el uso de altas cantidades de alérgeno y una limitada reproducibilidad, especialmente con la presencia de cofactores. Por estos motivos, el desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas precisas, sencillas y seguras para el diagnóstico de AA son fundamentales. Las pruebas de provocación con alérgenos en mucosas tienen la ventaja de ser pruebas sencillas, seguras y requerir de pequeñas cantidades de alérgeno.

Métodos: Se reclutaron 39 pacientes adultos que se dividieron en 4 grupos; 10 controles sanos (grupo C), 10 pacientes con anafilaxia o urticaria generalizada inducida por la toma de AINE y la ingesta de melocotón (grupo A), 10 pacientes con anafilaxia o urticaria generalizada con la ingesta de melocotón sin ningún cofactor asociado (grupo B) y 9 pacientes con sensibilización subclínica a Pru p 3 (grupo X). La selección de los pacientes se realizó en base a la historia clínica y a la demostración de una sensibilización a Pru p 3, o bien mediante un prick test positivo con extracto de melocotón enriquecido con Pru p 3 con un diámetro de pápula >3 mm y/o niveles de IgE Pru p 3 ≥ 0.1 kU/L. Todos los individuos de estudio se sometieron a una prueba de provocación nasal con un extracto nativo de Pru p 3 (PPNp) a diferentes concentraciones (0.25, 2.5, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$). La respuesta clínica se valoró de forma objetiva mediante la evaluación de la disminución en porcentaje del volumen nasal medio en la cavidad nasal (VOL 2-6cm) (dpVNM2-6) por rinometría acústica (RAC). La valoración subjetiva se realizó mediante el uso de una escala visual analógica (EVA) nasal/ocular y la puntuación total de síntomas nasales (T4NSS) /oculares (T3OSS). La PPNp se consideró positiva en base a los criterios de la *Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica* (EAACI) (1) y punto de corte establecido por *Eguiluz-Gracia et al* (2). En base a cuatro parámetros (dpVNM2-6 en RAC, EVA nasal, T4NSS a concentración máxima de Pru p 3, y pruebas cutáneas) se creó una “puntuación combinada”, con el objetivo de definir el comportamiento de cada individuo en la PPNp, mediante la identificación de puntos de corte y con esto distinguir los diferentes fenotipos de pacientes.

Resultados: La PPNp a concentración de 25 µg/mL produce una dpVNM2-6 de 22.55%, 26.97%, 24.52% y 12.79%, un aumento de síntomas en EVA nasal de 31.2 mm, 59.68 mm, 43.86 mm y 17.02 mm y del T4NSS de 4.70, 8.38, 6.33 y 1.89 en el grupo-A, B, A+B y X respectivamente. De acuerdo, con los criterios de positividad según EAACI y Eguiluz-Gracia aplicados en alergia respiratoria, un T4NSS claramente positivo, presenta una sensibilidad del 92% y especificidad del 57% ($P=0.007$) para diferenciar los grupos A, B y X entre ellos, con el resto de los criterios no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Si 3 o 4 puntos de corte concuerdan en la “puntuación combinada” a la concentración de 25 µg/mL, la PPNp es capaz de diferenciar pacientes sensibilizados (grupo-A, B, X) del grupo-C ($P=0.000$). Además, diferencia grupo A+B de grupo X ($P=0.000$) con una sensibilidad del 69% y especificidad del 100%. Ninguno de los individuos del estudio presentó ninguna reacción sistémica tras la realización de la PPNp.

Conclusiones: La provocación nasal con Pru p 3 es una prueba segura y útil capaz de diferenciar los diferentes fenotipos de pacientes con alergia alimentaria por Pru p 3.

2. Introducción

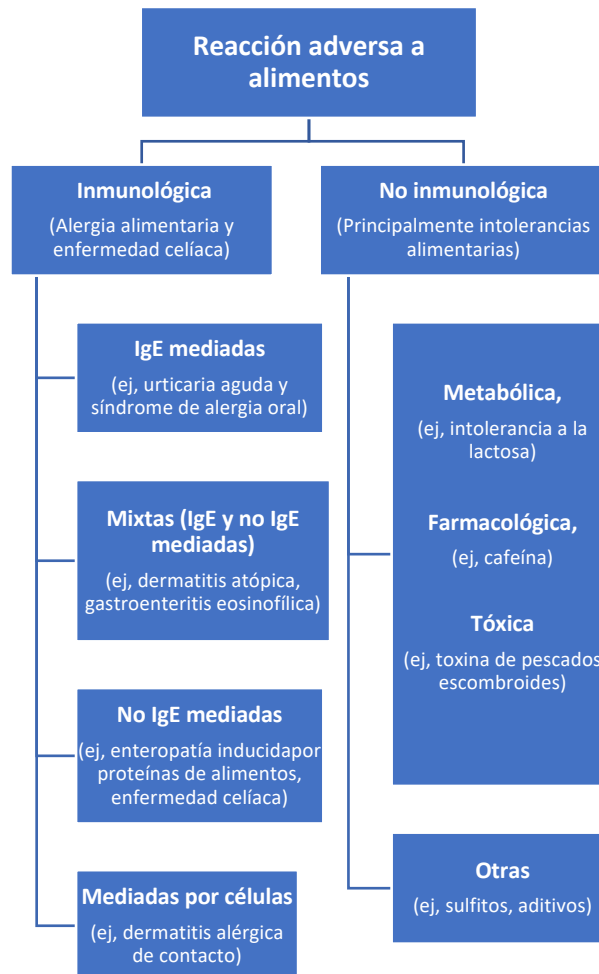
1. ALERGIA A ALIMENTOS

1.1. Definición

A lo largo de las últimas décadas ha habido grandes avances en el conocimiento de la AA. Sin embargo, la terminología relacionada con las reacciones adversas a alimentos es compleja, particularmente el uso del término “*hipersensibilidad*”, que se ha ido utilizando en la literatura de forma poco precisa y heterogénea, creando gran confusión. En 2003, la Organización Mundial de Alergia (WAO) (3), basándose en la recomendaciones de la EAACI (4), propuso que cualquier reacción adversa a un alimento se defina como *hipersensibilidad*; en el caso de existir un mecanismo inmunológico demostrado, el término apropiado sería “**alergia a alimentos**” y cuando esta reacción esté relacionada con un mecanismo dependiente de IgE, se debería adoptar el término de *AA mediada por IgE*. El resto de las reacciones, denominadas previamente como “*intolerancia alimentaria*”, deberían ser referidas como ***hipersensibilidad a alimentos no alérgica***.

La guía del Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas (NIAID) del National Institutes of Health en los EEUU publicada en 2010 (5) define la AA como “***un efecto adverso sobre la salud derivado de una respuesta inmune específica que ocurre de forma reproducible tras la exposición a un alimento determinado***”. Esta definición incluye las respuestas inmunológicas mediadas por IgE, las respuestas inmunológicas no mediadas por IgE y la combinación de ambas, denominadas como “*mixtas*” (Figura 1) (6). Las reacciones inmunológicas mediadas por IgE tienen como característica típica un inicio rápido, con síntomas que suelen aparecer a los pocos minutos u horas tras la ingesta del alimento.

Figura 1. Clasificación de reacciones adversas a alimentos



Adaptado de Sampson et al.

1.2. Epidemiología

Aunque existe un claro aumento de la prevalencia de la AA en las últimas décadas, los datos exactos son difíciles de calcular. Mientras que algunos estudios apuntan que la prevalencia auto-notificada de AA en adultos se acerca al 15%, otros trabajos, utilizando criterios más estrictos, estiman unos valores alrededor del 4% en niños y del 1% de los adultos (7–9). La dificultad para establecer unos datos de prevalencia más preciso obedece a diversas razones:

- Pese a que se han documentado más de 170 alimentos como responsables de reacciones IgE mediadas, la mayoría de los estudios de prevalencia se centran en los alimentos más comunes, como leche, huevo, cacahuete, pescado y marisco.
- La incidencia y prevalencia de la AA ha podido cambiar en el tiempo. Varios estudios sugieren un incremento de la prevalencia en los últimos 10-20 años (10–12).

- Los estudios de prevalencia, incidencia e historia natural de la AA son difíciles de comparar debido a inconsistencias y deficiencias en el diseño de los estudios, así como a la heterogeneidad en la definición de AA (13,14).

En España, Alergológica 2015 puso de manifiesto un incremento en la frecuencia de la AA. En comparación con los datos de Alergológica 1992 y 2005, se observó un incremento en la prevalencia siendo del 3,6% en 1992 al 7,4% en 2005 y al 11,4% en 2015. (12,15).

2. ALERGIA A ALIMENTOS POR LTP

La AA de origen vegetal a expensas de LTP representa una de las más frecuentes, ocurre principalmente en adolescentes y adultos, y se ha descrito clásicamente en la cuenca del mar Mediterráneo (16–18). El consumo de frutos secos, frutas, hortalizas, cereales, legumbres y especias, fuente de LTP, constituye la dieta básica habitual en la mayoría de estos países, hecho que explicaría la frecuencia de la alergia a la LTP en el área. A pesar de que la mayor incidencia se da en el Mediterráneo, en países como España, Italia o Portugal (12,15,17,19,20), se ha descrito su presencia en diferentes partes del mundo, incluyendo China (21,22), Australia (23) y Europa central (24,25). Las causas de las diferencias en los patrones geográficos están todavía por esclarecer. LTP es el acrónimo de lipid transfer protein, que describe a la perfección la función de esta proteína, consistente en unir lípidos y transferirlos entre distintos sistemas de membranas. Las LTPs pertenecen al grupo de proteínas de defensa PR-14 y se encuentran muy distribuidas en el reino vegetal (26). Debido a su función, se encuentra en mayor proporción en los tejidos epidérmicos externos de las partes aéreas de la planta (hojas, frutas). Este hecho explicaría la mayor capacidad alergénica de la piel respecto a la pulpa en los frutos de las rosáceas (27). Son proteínas de bajo peso molecular (aproximadamente 9 kDa) y son resistentes a la temperatura y la digestión, lo que hace que mantengan su potencial alergénico incluso en alimentos y bebidas procesadas, como los zumos, mermeladas, el vino y la cerveza (28–30). Estas propiedades fisicoquímicas la convierten en potenciales alérgenos alimentarios complejos, es decir, con capacidad de inducir sensibilización directamente por vía digestiva (20,26,31). La reactividad cruzada entre LTPs de diferentes fuentes alergénicas, tanto de alimentos vegetales como pólenes, ha sido demostrada *in vivo* e *in vitro* (30,32–35) (Figura 2). Esta reactividad cruzada tan extensa, incluso entre vegetales no relacionados taxonómicamente, como pueden ser el melocotón y lechuga, es probablemente debida a la distribución ubicua de las LTP en todo el reino vegetal. De hecho, el alto grado de similitud secuencial de las diferentes LTPs, indica que la reactividad cruzada podría ser muy superior a lo descrito en la actualidad (Figura 3). Esto hace

que los pacientes alérgicos a LTP puedan estar sensibilizados y presentar síntomas con múltiples alimentos, patrón clínico que se ha denominado “síndrome LTP” (36).

Desde la primera descripción de la LTP de melocotón (Pru p 3) y manzana (Mal d 3) en el año 1999, muchas son las LTPs descritas en muchas otras fuentes alergénicas alimentarias (33,37). (ver Tabla 1 para lista completa), en el látex (Hev b 12) y en algunos pólenes (38).

Tabla 1. Distribución de las LTPs alergénicas en el reino vegetal

(<http://www.allergome.org>)

Orden botánico	Alérgeno	Especie
Ingeribles		
Frutas		
Cucurbitales	Cuc m LTP	Cucumis melo (melón)
Caryophyllales	Hyl un LTP	Hylocereus undatus (fruta de dragón)
Ericales	Act c 10 Act d 10 Vac m 3	Actidinia chinensis (kiwi dorado) Actidinia deliciosa (kiwi verde) Vaccinium myrtillus (arándano)
Myrtales	Pun g 3	Punica granatum (granada)
Rosales	Fra a 3 Fra v 3 Mal d 3 Mor a 3 Mor n 3 Pru ar 3 Pru av 3 Pru d 3 Pru da 3 Pru ka 3 Pru mi 3 Pru p 3 Pru sa 3 Pyr c 3	Fragaria ananassa (fresa) Fragaria vesca (fresa salvaje) Malus domestica (manzana) Morus alba (mora blanca) Morus nigra (mora negra) Prunus armeniaca (albaricoque) Prunus avium (cereza) Prunus domestica (ciruela) Prunus davidiana (melocotón chino) Prunus kansuensis (melocotón chino) Prunus mira (melocotón tibetano) Prunus pérsica (melocotón) Prunus sargentii (ciruelo japonés) Pyrus communi (pera)
Tabla 2 (continuación).		
Orden Botánico	Alérgeno	Especie
	Ros r 3 Rub l 3	Rosa rugosa (rosa) Rubus idaeus (frambuesa)
Sapindales	Cit cl 3 Cit l 3 Cit r 3 Cit s 3	Citrus clementina (mandarina clementina) Citrus limon (limón) Citrus reticulata (mandarina) Citrus sinensis (naranja)
Saxifragales	Rib r 3	Ribes rubrum (grosella)
Solanales	Lyc ba 3 Sola l 3	Lycium barbarum (baya de Goji) Solanum lycopersicum (tomate)
Vitales	Vit ae 1 Vit ps 1	Vitis aestivalis (uva) Vitis pseudoreticulata (uva china)

	Vit v 1	Vitis vinifera (uva)
Zingiberales	Mus a 3	Musa acuminata (plátano)
Vegetales		
Apiales	Api g 2 Api g 6 Dau c 3 Foe v 3 Pet c 3	Apium graveolens (apio) Apium graveolens (apio) Daucus carota (zanahoria) Foeniculum vulgare (hinojo) Petroselinum crispum (perejil)
Asparagales	All a 3 All c 3 Aspa o 1	Allium ascalonicum (chalota) Allium cepa (cebolla) Asparagus officinalis (espárrago)
Asterales	Lac s 1	Lactuca sativa (lechuga)
Brassicales	Bra o 3 Bra r 3	Brassica oleracea (coliflor) Brassica rapa (nabo)
Rosales	Ros r 3	Rosa rugosa (rosa japonesa)
Semillas		
Asparagales	Cro s 3	Crocus sativus (Azafrán)
Asterales	Hel a 3	Helianthus annuus (pipa de girasol)
Brassicales	Sin a 3	Sinapis alba (mostaza)
Fabales	Ara h 9 Len c 3 Pha v 3	Arachis hipogea (cacahuete) Lens culinaris (lenteja) Phaseolus vulgaris (judía verde)
Fagales	Cas s 8 Cor a 8 Jug r 3	Castanea sativa (castaña) Corylus avellana (avellana) Juglans regia (nuez)
Lamiales	Ses i LTP	Sesamum indicum (sésamo)
Poales	Hor v 14 Ory s 14 Tri a 14 Tri s 14 Tri td 14 Zea m 14	Hordeum vulgare (cebada) Oryza sativa (arroz) Triticum aestivum (trigo) Triticum spelta (espelta) Triticum turgidum (trigo duro) Zea mays (maíz)
Rosales	Pru du 3	Prunus dulcis (almendra)
Inhalantes		
Pólenes		
Orden Botánico	Alérgeno	Especie
Asterales	Amb a 6 Art v 3	Ambrosia artemisiifolia (ambrosia) Artemisia vulgaris (artemisa)
Brassicales	Ara t 3	Arabidopsis thaliana (arabidopsis)
Lamiales	Ole e 7	Olea europea (olivo)
Pinales	Cry j LTP	Cryptomeria japónica (criptomeria japonesa)
Proteales	Pla a 3 Pla or 3	Platanus acerifolia (plátano de sombra) Platanus orientalis (plátano de sombra oriental)
Rosales	Par j 1 Par j 2 Par m 1 Par o 1	Parietaria judaica (parietaria) Parietaria judaica (parietaria) Parietaria mauritanica (parietaria) Parietaria officinalis (parietaria)

Hojas		
Urticales	Can s 3	Cannabis sativa (cáñamo)
Contactantes		
Malpighiales	Hev b 12	Hevea brasiliensis (látex)

Figura 2. Reactividades cruzadas descritas hasta el momento actual entre diferentes LTPs (fuente: <http://www.allergome.org>).

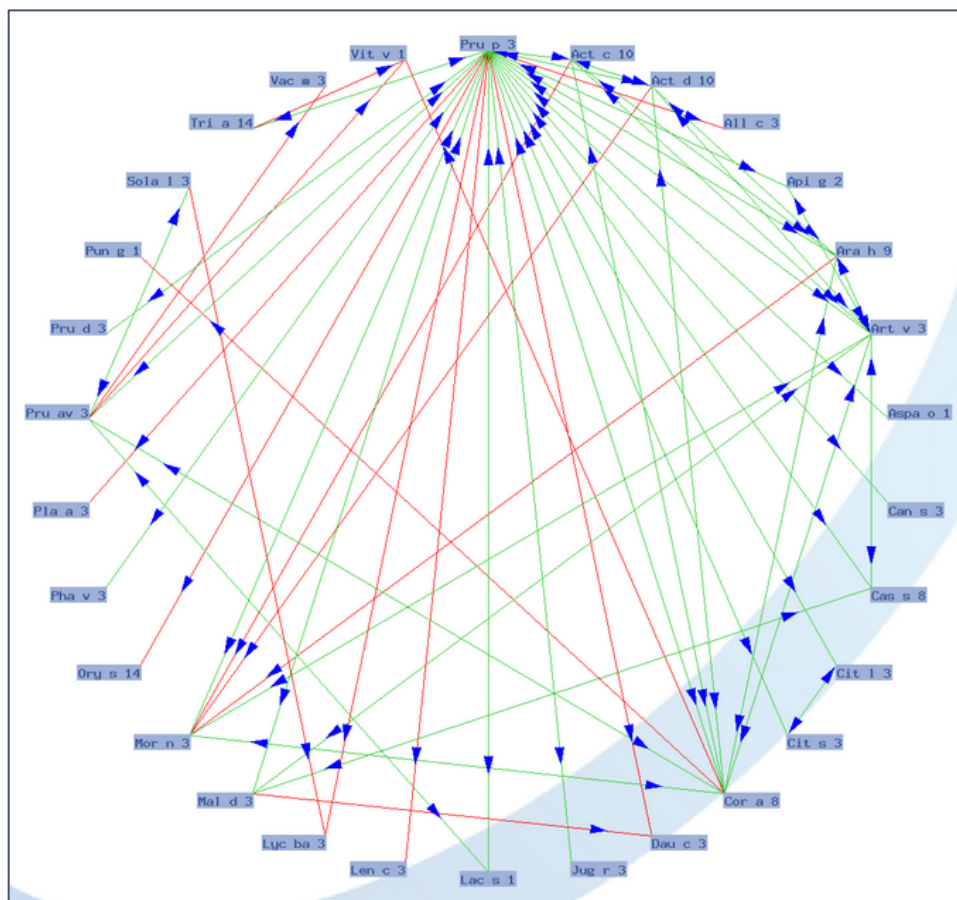
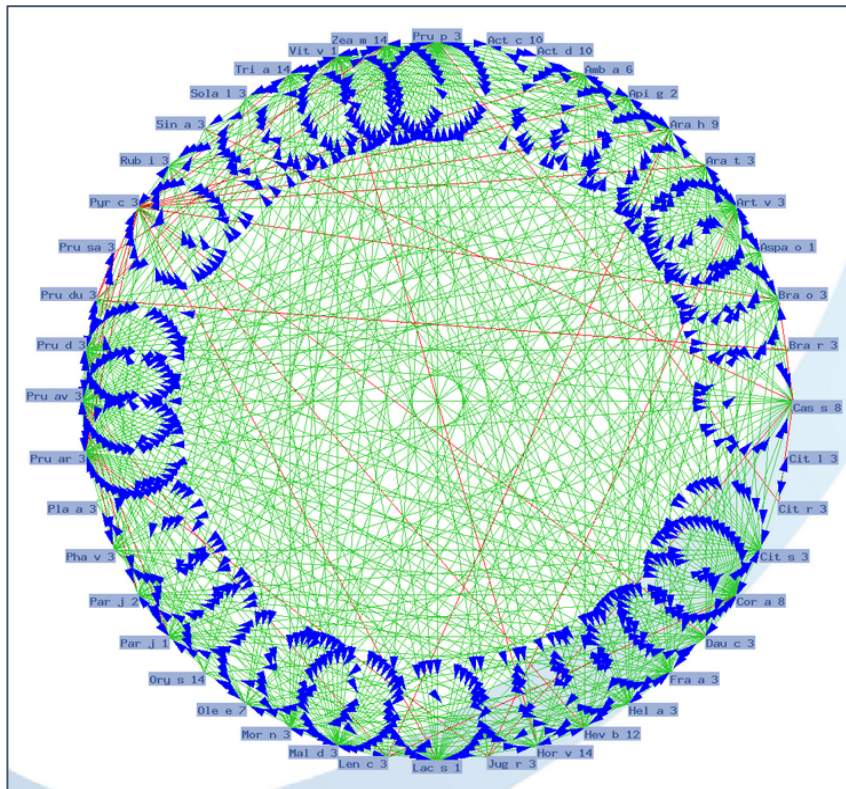


Figura 3. Identidad de secuencia entre las diferentes LTPs

(fuente: <http://www.allergome.org>).



2.1. Distribución geográfica

El melocotón es la causa más frecuente de AA por LTP y la sensibilización a Pru p 3 parece desempeñar un papel precursor en la sensibilización a otras LTPs. Un gran número de estudios han demostrado que la sensibilización a Pru p 3 domina la respuesta inmune a LTPs en otros alimentos que también la contienen, estructuralmente similares y que el melocotón es casi siempre el alimento que inicia el síndrome de alergia a LTP (12,15,17,39).

2.2. Manifestaciones clínicas

La AA mediada por LTP puede presentarse con una clínica muy variada, desde la urticaria de contacto, síntomas locales orofaríngeos como el síndrome de alergia oral (SAO) o sintomatología aislada en el tracto digestivo (náuseas, vómitos, diarrea), hasta manifestaciones más graves como la anafilaxia, pasando por reacciones sistémicas como la urticaria, algunas de ellos en contexto de cofactores (18,36,40), incluso presentar una sensibilización asintomática o ser parte del diagnóstico diferencial de la urticaria crónica (41).

Es importante destacar la existencia de pacientes sensibilizados a Pru p 3 y con frecuencia a otras LTPs, que no presentan síntomas tras la ingesta ni de melocotón, ni de ningún otro alimento de origen vegetal con LTP. Sin embargo, pese que *a priori* la sensibilización podría

carecer de relevancia clínica, podría ser un factor de riesgo para desarrollar una AA por LTP (40,42,43). Un estudio reciente realizado en niños y adultos con rinitis alérgica por polen de parietaria y sensibilizados a Pru p 3 encontró que un cuarto de los pacientes presentaban una sensibilización asintomática a Pru p 3, mientras que el resto tenían síntomas leves como SAO o graves como anafilaxia (44). Otros artículos refieren que los rangos de sensibilización asintomática pueden ir del 33% al 62% (24,45,46). Sin embargo, el riesgo real de reacción es desconocido y es una incógnita si una estrategia de evitación de todos los alimentos vegetales ricos en LTP o aquellos que se han relacionado con mayor sintomatología en el área geográfica del paciente es beneficiosa o, si por el contrario, es mejor no limitar la dieta y permitir una exposición persistente para mantener la tolerancia a estos alimentos (42).

Además de este fenotipo de pacientes sensibilizados asintomáticos, se ha observado la existencia de un fenotipo que presenta únicamente reacciones leves locales, como la urticaria de contacto o el SAO, sin llegar a presentar síntomas sistémicos con la ingesta de los alimentos (20,39). En un estudio realizado en España, la urticaria de contacto por piel del melocotón fue el único signo clínico en más del 50% de los pacientes (43). De hecho, la piel aterciopelada del melocotón tiene grandes cantidades de LTP, de modo que es capaz de causar una liberación de histamina simplemente por contacto. Curiosamente, ese fenómeno no se observa con la piel de nectarina, una fruta que es genéticamente idéntica al melocotón pero que en su superficie no posee esa característica aterciopelada (40).

Un estudio español publicado en 2020 estudió el perfil de sensibilización a LTP y el riesgo de presentar una reacción anafiláctica en 2100 pacientes. Se observó que Pru p 3 era el alérgeno más prevalente, le seguían Jug r 3 (LTP de nuez), Ara h 9 (LTP de cacahuete) y Cor a 8 (LTP de avellana) y, en cambio, los menos frecuentes fueron Ole e 7 (LTP del polen del olivo), Tri a 14 (LTP del trigo), y Par j 2 (LTP del polen de parietaria). Estos autores observaron una asociación significativa entre la sensibilización a Ara h 9 o Pla a 3 (LTP del polen del platanero) y el desarrollo de anafilaxia. Además, aquellos pacientes que presentaban una sensibilización a >5 LTPs presentaban un riesgo mayor de reacciones graves. Finalmente, se observó que Pru p 1 (PR-10 del melocotón), Pru p 4 (profilina del melocotón) o Phl p 12 (profilina del polen de gramíneas) se asociaba con una menor probabilidad de anafilaxia, similar a lo observado en otros trabajos (47–49). Una limitación de este estudio era que no se llegaron a confirmar las reacciones con los alimentos mediante una prueba de exposición oral, sino que se basaron en la información de la historia clínica (50).

A modo de resumen, en la práctica clínica habitual nos podemos encontrar, a grandes rasgos, con diversos fenotipos clínicos en contexto de alergia LTP, algunos de ellos no mutuamente

excluyentes; (i) individuos sensibilizados a Pru p 3 sin presencia de sintomatología ni por ingesta ni contacto con el alimento vegetal; (ii) sintomatología leve con la ingesta y/o contacto con el alimento vegetal como urticaria de contacto y/o SAO; (iii) sintomatología grave con compromiso vital, como anafilaxia; (iv) sintomatología grave únicamente en contexto de cofactor y con tolerancia al alimentos en ausencia del cofactor. El motivo de esta heterogeneidad de fenotipos clínicos es desconocido, aunque podría estar relacionada con las diferentes rutas de sensibilización (digestivas vs respiratoria), características de la fuente alérgica (p.ej., condiciones en el cultivo), respuesta específica a IgG4 y/o afinidad de los anticuerpos IgE específicos con el alérgeno, la presencia de co-sensibilización con otros alérgenos del reino vegetal, como profilina o PR-10, así como la presencia de cofactores, el tipo y el número de ellos (51).

2.3. Diagnóstico de la alergia a LTP

2.3.1. Estudio alergológico “*in vivo*” e “*in vitro*”

El diagnóstico etiológico de alergia alimentos en general, que también aplica a la alergia a LTP, se realiza generalmente en base a la respuesta específica del paciente frente a un alimento concreto (fuente biológica), por lo que se emplean extractos alérgicos, extraídos de las materias originales que existen en la naturaleza. La calidad de estos extractos determinará la sensibilidad de las pruebas diagnósticas. La determinación de sensibilización al alérgeno alimentario sospechoso incluye la evaluación de co-sensibilización y/o reactividad cruzada con alimentos relacionados y/o alérgenos respiratorios (52).

2.3.1.1. Pruebas intraepidérmicas:

Un resultado positivo indica una sensibilización mediada por IgE a dicho alimento, pero por sí sola no indica relevancia clínica (53). Es una técnica sencilla, barata, segura, reproducible y permite una evaluación rápida para explorar la existencia de sensibilización a diversos alimentos (54). Una prueba positiva es solo sugestiva de una alergia mediada por IgE frente a ese alimento y su interpretación debe guiarse por la historia clínica y/o por el resultado de la prueba de exposición oral. Sin embargo, la sensibilidad de la prueba cutánea viene determinado por la calidad del extracto alérgico. Existe la posibilidad de obtener resultados falsos negativos debido a la inestabilidad de las proteínas alérgicas o a la ausencia de alérgenos menores o relevantes para un paciente en particular. En el caso de estos supuestos y con una historia sugestiva, se recomienda la realización de las pruebas cutáneas intraepidérmicas con el alimento fresco, también conocidas como “prick-by-prick”.

Los extractos alergénicos utilizados habitualmente provienen de fuentes alergénicas completas (p.ej. manzana), aunque existen algunos extractos alergénicos altamente purificados que se emplean para diagnósticos específicos frente a una única molécula alergénica. Este es el caso de Pru p 3, extracto completo de melocotón enriquecido con LTP, o el extracto enriquecido de profilina. Estos extractos diagnósticos nos permiten realizar una aproximación diagnóstica a nivel molecular (55).

2.3.1.2. IgE específicas de los alimentos

La determinación de IgE específica, debe ser valorada en el contexto de la historia clínica. Al igual que las pruebas intraepidérmicas, un resultado positivo de IgE específica de forma aislada no es diagnóstica de alergia a los alimentos (6,7). En la práctica clínica habitual, las pruebas intraepidérmicas y la determinación de IgE específica son pruebas que se utilizan de forma conjunta, sin embargo, no son capaces de diferenciar entre una alergia clínicamente relevante y sensibilización asintomática, siendo necesario la realización de la prueba de exposición oral controlada (56). Así como en las pruebas cutáneas intraepidérmicas, la sensibilidad en general de la IgE específica a alimentos es superior al 90%, mientras que la especificidad disminuye al 50%, variando en función de los alimentos y los perfiles de sensibilización de los pacientes. La existencia de fenómenos de reactividad cruzada impediría diferenciar estas sensibilizaciones de las genuinas, hecho que es especialmente difícil en aquellos pacientes sensibilizados a panalérgenos. De modo que estas sensibilizaciones deberían interpretarse con precaución cuando la historia clínica no es compatible, dada la probabilidad de elevados falsos positivos, ocasionando un diagnóstico erróneo, finalizando con dietas muy restrictivas (6,57–59). Sin embargo, en el caso de panalérgenos como la LTP, es difícil establecer la relevancia clínica, sobre todo futura, de las múltiples sensibilizaciones que pueden atribuirse a un fenómeno de reactividad cruzada.

2.3.1.3. Diagnóstico molecular o por componentes

En general, la historia clínica debería de proporcionar la evidencia suficiente de los alimentos vegetales más frecuentemente involucrados en las reacciones alérgicas relacionadas con LTP. Estos alimentos son muy diversos y se incluyen, en el grupo de las frutas, el melocotón, la manzana y otras frutas de la familia de las Rosáceas. Otros alimentos que se relacionan con frecuencia son la nuez, avellana, cacahuete, maíz, trigo, arroz y semillas. El diagnóstico por componentes es una herramienta valiosa para realizar un diagnóstico preciso del síndrome LTP,

ya que estos pacientes presentan un patrón clínico complejo y con múltiples sensibilizaciones a alimentos vegetales y pólenes.

El diagnóstico molecular o por componentes se fundamenta en la identificación de las proteínas alergénicas concretas, no de fuentes alergénicas completas. La creación de extractos alergénicos para dichas proteínas se realiza mediante la purificación a partir de una fuente natural o bien a través de la síntesis de proteínas recombinantes (60). Su aplicación mejora la especificidad en el diagnóstico de alergia para algunos alimentos, permitiendo distinguir entre sensibilizaciones genuinas o por fenómeno de reactividad cruzada. Sin embargo, no necesariamente permite siempre determinar la relevancia clínica de esa sensibilización.

2.3.1.4. Test de activación de basófilos

El test de activación de basófilos (TAB) se ha utilizado en la alergia a diversos alimentos, demostrando su utilidad para diferenciar entre sensibilización y alergia para algunos alimentos como el cacahuete, leche o huevo (61–63). Sin embargo, estudios previos de nuestro grupo en pacientes alérgicos a LTP han demostrado que el TAB no es capaz de identificar a los pacientes alérgicos y diferenciarlos de los sensibilizados. Pero, por otro lado, mediante la utilización del TAB, hemos podido demostrar varios aspectos. Primero, que los pacientes con anafilaxia NO asociada a cofactor tienen unos basófilos más sensibles, es decir, se activan a menor concentración de alérgeno. Y por otro, que el fenómeno cofactor es universal, es decir, que los AINEs son capaces de incrementar la activación de los basófilos *in vitro*, independientemente de la implicación del cofactor en la reacción del paciente (64).

El TAB también se ha utilizado para comparar poblaciones alérgicas a LTP geográficamente distantes, como son Antwerp (Bélgica) y Barcelona. A parte de la distancia geográfica, se trata de dos zonas con una presión polínica distinta. Mientras que en Bélgica los pacientes están sometidos a una alta presión polínica por abedul, los de Barcelona simplemente no están expuestos a este polen. Los resultados del estudio demostraron que los pacientes de Barcelona son más sensibles, de modo que se consiguieron activaciones similares a los pacientes belgas, pero a concentraciones menores del alérgeno (51).

2.3.1.5. Prueba de exposición oral con alimentos

La prueba de exposición oral usualmente se requiere para confirmar el diagnóstico de AA, monitorizar o confirmar tolerancia oral a un alimento en concreto, siendo considerada el *gold standard*. En reacciones alérgicas sistémicas graves como anafilaxia, están generalmente contraindicadas debido al riesgo potencial de estas reacciones.

La guía más actual es el consenso PRACTALL, que describe con detalle los procedimientos de la prueba de exposición oral, tomando en cuenta diferentes variables como: la selección de pacientes, criterios de seguridad, cantidad y características del alérgeno alimentario a provocar, tiempo entre las dosis, criterios para dar el alta, períodos de observación y recetas que se pueden utilizar (56). Las pruebas de exposición se pueden realizar de forma abierta, simple ciego controlada con placebo o doble ciego controlada con placebo. En muchas ocasiones con una prueba de exposición oral abierta que presenta síntomas objetivos inequívocos, es suficiente para el diagnóstico de AA. Sin embargo, la PPODCCP hasta el día de hoy sigue siendo el *gold standard* en el diagnóstico confirmatorio de la AA (53,56). A pesar de ello, en la práctica clínica habitual no suele realizarse, ya que requiere de mucho tiempo y recursos para llevarse a cabo. Otra limitación importante es la imposibilidad de reproducir la reacción descrita por el paciente, hecho que se ha atribuido a diferentes causas. La administración progresiva de dosis crecientes se ha sugerido que puede estar induciendo un fenómeno de tolerancia transitorio (65). Finalmente, se añade la dificultad para reproducir en el hospital la situación de la vida real, que va desde la identificación de cofactores difícilmente controlables y reproducibles como el estrés, infecciones respiratorias, intensidad del ejercicio físico, temperatura ambiental, o las cantidades exactas de alérgeno consumido (puntualmente o de forma acumulada) (65,66). Además, se suman a estas limitaciones, el coste (personal, infraestructura, tiempo perdido de trabajo/escuela para el paciente) y el riesgo de inducir reacciones alérgicas sistémicas graves principalmente en pacientes con historia de anafilaxia (67,68).

2.4. Papel de los cofactores en la alergia a alimentos por LTP

Se define a la anafilaxia como una reacción sistémica grave y potencialmente fatal que ocurre de forma súbita tras el contacto con una sustancia alérgica, en la que existe una liberación masiva de mediadores derivados de las células mastocitarias y basófilos (69). Estas reacciones no son infrecuentes en la alergia a los alimentos. Los alérgenos alimentarios son la principal causa de anafilaxia en niños y adolescentes (70). En adultos existe una gran variabilidad, ya que depende de las series estudiadas y del área geográfica, pero los alimentos, junto con los fármacos y las picaduras de insectos se consideran los principales desencadenantes (71,72). El número de alérgenos alimentarios involucrados en las reacciones anafilácticas son extremadamente variables y dependen de los rangos del estudio que van de un 0.4% hasta un 40% de las anafilaxias registradas en los servicios de urgencias (73,74). Además, se estima que los alimentos son la causa de al menos un tercio de los episodios de shock anafiláctico (7,75).

Con frecuencia, el alimento desencadenante es fácilmente identificable por el paciente y/o por el personal sanitario. No obstante, en un porcentaje no despreciable de casos la identificación no es tan evidente, lo que dificulta el proceso del diagnóstico. Diversas circunstancias se han relacionado con esta dificultad, como son; 1) la ingesta de una comida con múltiples ingredientes, 2) que el alérgeno alimentario no sea evidente porque forma parte de los ingredientes de la comida (trazas de frutos secos,...) y 3) la aparición de reacciones exclusivamente cuando el alérgeno alimentario se consume en circunstancias específicas, denominadas *cofactor*, como por ejemplo la toma de un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) en un tiempo cercano, simultáneo a la realización de ejercicio físico, junto con la ingesta de bebidas alcohólicas, en situaciones de estrés, de privación de sueño, o durante el período menstrual, entre otros (18,20,64,76–82). Este último fenotipo, en el que la presencia de un cofactor es necesaria para que se desencadenen los síntomas, se ha denominado ***alergia a alimentos inducida por cofactor***. En estos casos, el paciente puede tolerar el alimento implicado en la reacción en ausencia de cofactor, o presentar síntomas leves, hecho que dificulta la identificación del alimento responsable (70).

Los cofactores se definen, según la EAACI, como “aquellas circunstancias externas o relacionadas con el paciente, que se asocian a una reacción alérgica más grave” e incluyen el ejercicio, alcohol y los AINEs, entre otros (68). La identificación de las reacciones asociadas a cofactor es de suma importancia, ya que permite establecer estrategias de evitación específicas, para el cofactor, el alimento o ambos, dirigidas a disminuir el riesgo de presentar una nueva reacción. Los cofactores más frecuentemente descritos son el ejercicio, definido en inglés como “*Food-dependent exercise-induced anaphylaxis*” (FDEIAn), y los AINEs, en inglés “*Food-dependent NSAID-induced anaphylaxis*” (FDNIAn) (18,64,65,76,77,80,83). Sin embargo, pese a su impacto en la expresión de la enfermedad, sigue siendo desconocido el mecanismo exacto por el cual el cofactor induce una reacción más grave, o disminuye el dintel de reacción, que puede reducirse hasta 6 veces (68,75). Diversos mecanismos se han especulado, como el efecto de los cofactores sobre la absorción gastrointestinal o la alteración del metabolismo de los eicosanoides (77,84).

El cofactor puede estar involucrado hasta en un 20-30% de las anafilaxias, y hasta en el 32.4% en las anafilaxias asociadas a LTP (18,77,79–81). En Italia, la LTP es el sensibilizador más frecuente en individuos con anafilaxia por AA inducida por ejercicio (85).

2.4.1. El AINE como cofactor en la alergia a alimentos por LTP

Un aspecto interesante es la frecuente asociación entre AA por LTP y reacciones adversas con AINEs (18,79). En un trabajo recientemente publicado por un grupo español se observó, en pacientes con sospecha de AA exacerbada por cofactor, que un 85.1% presentaban anafilaxia, y de ellos, el 99% presentaban reacciones con alimentos del reino vegetal, principalmente vegetales y cereales. Los AINEs estaban involucrados en el 58% de los pacientes, el ejercicio en el 52.7%, y alcohol en el 12.2%. Las LTPs fueron los alérgenos más involucrados, 91.7% estaban sensibilizados a Pru p 3 (79). Una limitación de este estudio es que el diagnóstico se basó en la historia clínica, ya que no se realizaron pruebas de exposición oral por la gravedad de las reacciones.

Esta frecuente asociación puede propiciar un diagnóstico erróneo de alergia o hipersensibilidad cruzada a AINE (77,79,86).

3. ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINEs)

3.1. Mecanismo de las reacciones de hipersensibilidad a los AINEs

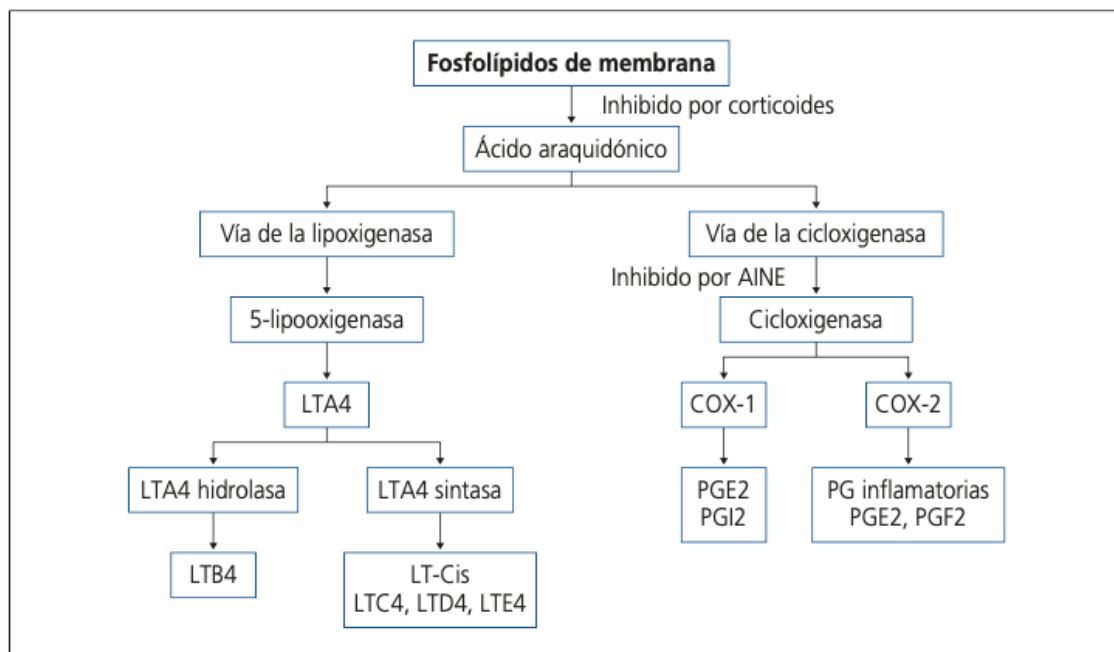
Las reacciones de hipersensibilidad a los AINEs se producen por diferentes mecanismos patogénicos; las más frecuentes se relacionan con un mecanismo no inmunológico, dependiente del metabolismo del ácido araquidónico, debido a la inhibición de la ciclooxigenasa (COX). En otras ocasiones, la reacción de hipersensibilidad se debe a un mecanismo inmunológico mediado por IgE específica o por linfocitos T, produciéndose la clínica tras la administración de un solo fármaco o fármacos de un único grupo o familia química (87).

Las reacciones de hipersensibilidad no inmunológicas son las más frecuentes, especialmente en pacientes con asma y urticaria/angioedema. El bloqueo de la COX en los individuos susceptibles y, más concretamente, de su isoforma constitutiva COX-1, parece ser la clave en la patogénesis de estas reacciones (88). La isoforma constitutiva COX-1, expresada en muchos tejidos y órganos, tiene funciones fisiológicas y de homeostasis, mientras que la isoforma inducible COX-2, es generada por numerosos estímulos pro-inflamatorios (Figura 4) (89). La capacidad para inducir una reacción de hipersensibilidad a un determinado AINE podría ser predicha por la capacidad de inhibición *in vitro* de la COX, siendo más elevada en aquellos AINEs con mayor potencia de inhibición (90). Ambas isoformas están igualmente expresadas en la mucosa bronquial de pacientes asmáticos, independientemente de si son o no son intolerantes a los AINEs (91). No obstante, Roca-Ferrer y colaboradores encuentran una disminución significativa de la expresión de ambas en los pólipos nasales de pacientes con hipersensibilidad a AINE, con respecto a la mucosa nasal de individuos sanos, tras un estímulo inflamatorio (92). En la

enfermedad respiratoria exacerbada por AINE, la inhibición de la COX se asocia con un incremento en la síntesis y liberación de leucotrienos cisteinílicos (LT-cis), y una reducción brusca en la síntesis de prostaglandina E2 (PGE₂), siendo estos fenómenos responsables de la exacerbación asmática (92–95).

Por otro lado, las reacciones de hipersensibilidad selectiva a un AINE o a una familia química de AINEs se producen por un mecanismo inmunológico mediado por IgE, por tanto independiente de la inhibición de la COX-1. Por este motivo, existe una buena tolerancia a otros grupos químicos, independientemente de su capacidad para inhibir la COX. Los síntomas aparecen de forma inmediata, como en cualquier otra reacción mediada por IgE. Este mecanismo se ha demostrado principalmente con las pirazonas (96) y en algunos casos, con paracetamol (97). En las reacciones tardías, la sensibilización a fármacos está mediada por linfocitos T CD4+ y T CD8+ (98), y se han documentado casos aislados con pirazonas, arilacéticos y propiónicos (98,99).

Figura 4. Metabolismo del ácido araquidónico



AINE: antiinflamatorio no esteroideo; *LTA4*: leucotrieno A4; *COX-1*: ciclooxigenasa-1; *COX-2*: ciclooxigenasa-2; *PGE2*: prostaglandina E2; *PGI2*: prostaglandina I2; *PG*: prostaglandina; *PGF2*: prostaglandina F2; *LTB4*: leucotrieno B4; *LT-Cis*: leucotrienos cisteinílicos; *LTC4*: leucotrieno C4; *LTD4*: leucotrieno D4; *LTE4*: leucotrieno E4.

3.2. Manifestaciones clínicas y diagnóstico

Los AINEs son la segunda causa más común de reacciones de hipersensibilidad por fármacos, con una prevalencia global entre el 0.6%-5.7% en población en general (100).

De acuerdo con el grupo de trabajo alergia a fármacos (ENDA) de la EAACI, las reacciones de hipersensibilidad a los AINEs se clasifican de la siguiente manera (87,101):

1) Mecanismo no inmunológico (por fenómeno de reactividad cruzada):

- Enfermedades respiratorias exacerbadas por AINEs (NERD)
- Enfermedades cutáneas exacerbadas por AINEs (NECD)
- Urticaria/angioedema inducido por AINE (NIUA)

2) Mecanismo inmunológico (no reactividad cruzada):

- Urticaria/angioedema o anafilaxia inducida por un solo AINE (SNIUAA)
- Reacciones de hipersensibilidad tardía inducidas por un solo AINE (SNIRD)

En la Tabla 2, se muestra un resumen de la clasificación con sus características clínicas más importantes.

Tabla 2. Clasificación de las reacciones de hipersensibilidad por antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Modificada según las referencias bibliográficas (87,102,103)

Tipo de reacción	Manifestaciones clínicas	Cronología de la reacción	Enfermedad subyacente	Patrón de reactividad	Mecanismo implicado
Enfermedad respiratoria exacerbada por AINE (NERD)	Broncoespasmo, disnea y/o congestión nasal/rinorrea hialina	Agudo (generalmente inmediata, aunque pueden transcurrir varias horas tras la administración)	Asma/rinosinusitis	Reactividad cruzada (múltiple)	Inhibidor de la COX-1
Enfermedad cutánea exacerbada por AINE (NECD)	Habones y/o angioedema		Urticaria crónica		Inhibidor de la COX-1
Urticaria/Angioedema inducida por AINE (NIUA)	Habones y/o angioedema		No patología crónica		Desconocido; probablemente inhibidor de la COX-1
Urticaria/Angioedema o anafilaxia inducida por un AINE (SNIUAA)	Habones/angioedema /anafilaxia		No patología crónica	No reactividad cruzada (selectivo)	Mediado por IgE
Reacción de hipersensibilidad no inmediata inducida por AINE (NIDHR)	Varios síntomas y órganos afectados (ej., exantema fijo medicamentoso, SSJ/NET, nefritis)		Tardía (generalmente >24 horas tras la toma del AINE)	No patología crónica	

COX; ciclooxigenasa; SSJ: síndrome de Steven-Johnson; NET: necrólisis epidérmica tóxica.

El diagnóstico de las reacciones de hipersensibilidad a los AINEs se basa en la historia clínica que debe recoger una descripción clara de los síntomas, tiempo de la reacción, episodios previos potencialmente relacionados con la toma de AINEs y la presencia de comorbilidades (rinosinusitis, poliposis nasosinusal, asma y urticaria). Sin embargo, al igual que en la alergia a alimentos, la prueba de exposición con el AINE implicado en la reacción se considera el *gold standard* para el diagnóstico de hipersensibilidad a AINEs. Las pruebas de exposición no se recomiendan en caso de reacciones anafilácticas graves (87,101).

Estudios previos han demostrado que la aplicación del algoritmo diagnóstico de hipersensibilidad a los AINEs sugerido por el grupo de trabajo en alergia medicamentosa de la EAACI (ENDA), descarta la implicación de un AINE en una sospecha de reacción de hipersensibilidad hasta en un 80% de los pacientes (104–107). La historia clínica tiene un valor predictivo bajo, puede no llegar a incluir factores que puedan contribuir a la reacción. Esto puede ser el caso de los pacientes con FDNIA, un fenotipo a tomar en cuenta en pacientes con sospecha de hipersensibilidad a los AINEs y un reto en la actualidad para el correcto diagnóstico de estos pacientes en la práctica clínica habitual.

3.3. Anafilaxia por alergia a alimentos inducida por AINE (FDNIA)

Los AINEs están presentes hasta en el 22% de los shock anafilácticos inducidos por alimentos como cofactor, representando un factor de riesgo con una *odds ratio* de más de 11 (108). En algunas de estas reacciones, el AINE es el único cofactor requerido para desencadenar o exacerbar los síntomas (18,41,65,79,109). El espectro de alimentos involucrados en FDNIA es muy amplio, incluyendo el trigo, los frutos secos, las semillas, los vegetales, el marisco y el cacahuete (18,79,106,110,111), aunque los ampliamente estudiados son el trigo y los alimentos vegetales. Los alimentos que se relacionan con FDNIA presentan un patrón geográfico, de modo que la gliadina del trigo es el alimento más involucrado en Japón (84,110), y las LTPs en el área Mediterránea (18,41,79).

Hasta ahora han sido dos los mecanismos patogénicos propuestos para explicar la FDNIA. Uno de ellos está relacionado con el aumento de la permeabilidad gastrointestinal causado por los AINEs y el consecuente incremento de la absorción de alérgeno (84). Este efecto es más evidente con los AINEs que inhiben de forma no selectiva la COX en comparación con los inhibidores selectivos de la COX-2 (111).

Otra hipótesis sugiere que los AINEs ejercen un efecto amplificador de la respuesta de mastocitos y basófilos inducida por la activación de la vía IgE (64,110). Pascal M et al. documentó el efecto potenciador del acetilsalicilato de lisina sobre la activación de basófilos inducida por Pru p 3 *in vitro* en pacientes con FDNIA. Sin embargo, demostraron que este efecto también se

observaba en pacientes con historia de anafilaxia por melocotón no inducida por cofactor. Esta observación sugeriría que el efecto del AINE sobre la respuesta alérgica es universal, y que potencialmente el efecto cofactor podría darse en cualquier individuo con AA. En cambio, los inhibidores selectivos de COX-2 no fueron capaces de incrementar la activación inducida por el alérgeno (64).

En esta misma línea, recientemente Muñoz-Cano R et al. demostraron *in vitro* como PGE₂ era capaz de inhibir tanto el efecto cofactor de los AINEs como la propia activación de basófilos mediada a través de la vía, sugiriendo el papel de los eicosanoides no tan solo en el efecto cofactor, si no en la respuesta alérgica en general. Además, los basófilos de los pacientes con anafilaxia asociada o no a cofactor, presentaban una mayor expresión de EP3 y menor de EP4, ambos receptores de PGE₂ con efectos antagónicos (pro-inflamatorio y anti-inflamatorio respectivamente). De este modo, los pacientes con anafilaxia presentarían un perfil de expresión de receptores para PGE₂ que favorecerían la inflamación tras su unión al ligando y que podrían ser uno de los mecanismos subyacentes de la anafilaxia (112).

En conclusión, es evidente la complejidad de los fenotipos clínicos de hipersensibilidad a AINEs y la necesidad de un diagnóstico preciso. Mientras que un falso diagnóstico de hipersensibilidad cruzada a AINE va a suponer una limitación terapéutica evidente, la falta de identificación de un FDNIAn puede conllevar que el paciente siga presentando reacciones aparentemente relacionadas con alimentos, con el consiguiente riesgo para su vida y potencial limitación dietética.

4. PRUEBAS DE PROVOCACIÓN EN MUCOSAS EN ALERGIA

4.1. Provocación nasal en alergia respiratoria

En el año de 1873 se describió por primera vez el uso de la prueba de provocación nasal (PPN) por Backley, quien puso las bases al poner granos de polen directamente en la mucosa nasal. Aunque no fue hasta 1958 que Aschan y Drettner (113) utilizaron la rinomanometría posterior para estudiar el efecto de los antihistamínicos en respuesta a la PPN con alérgeno y demostrar las posibilidades de esta técnica.

La PPN actualmente es una herramienta útil en el diagnóstico etiológico de la rinitis alérgica, y se utiliza en la práctica clínica habitual, así como en investigación. Las PPN reproducen una reacción alérgica en la nariz bajo condiciones estandarizadas y controladas (114) de forma simple, segura y a bajo coste (1,115,116). Los síntomas que se observan tras una PPN son los 4 síntomas cardinales de la rinitis, como son el prurito nasal, estornudos, rinorrea acuosa,

congestión nasal, que pueden asociarse de forma habitual con síntomas oculares, mientras que las reacciones sistémicas (extranasales) son raras (117).

Diferentes recomendaciones metodológicas se han establecido a lo largo de estos años, la última de ellas en el 2017 por la EAACI. Así, se recomienda la administración bilateral del alérgeno y utilizar extractos estandarizados, preferiblemente en aerosol para la aplicación de 0.1 mL de producto en cada fosa nasal. Los cambios clínicos durante la prueba se pueden evaluar de forma subjetiva mediante la utilización de una puntuación de síntomas o, de forma objetiva, con sistemas como el rinómetro acústico o el rinomanómetro que permiten valorar el volumen y el flujo nasal respectivamente. Los parámetros objetivos y subjetivos evalúan diferentes aspectos de la obstrucción nasal, de modo que es recomendable valorar los resultados de las PPN mediante la combinación de al menos un parámetro de cada. Sin embargo, la evaluación de los síntomas subjetivos deberían ser los resultados más relevantes en las pruebas de provocación alérgeno-específicas (118). Finalmente, se recomienda que el espacio físico de realización de la PPN debe tener una temperatura y humedad óptima que respectivamente son: 20°C y 40%-60%, así como un personal sanitario cualificado (1).

4.1.1. Valoración subjetiva y objetiva de la prueba de provocación nasal

4.1.1.1. Valoración subjetiva: puntuación de síntomas

Existen diversas medidas semicuantitativas para valorar los síntomas nasales, por ejemplo, la escala de Likert (0 = ninguno, 1 = leve, 2 = moderado, 3 = grave) o la EVA (119,120). Esta última evalúa la severidad de los síntomas por medio de una línea horizontal que va de 0 a 100 mm (leve: 0-30 mm, moderado: 31-70mm, grave: 71-100 mm). Otra medida es la puntuación total de síntomas nasales (TNSS), escala de 12 puntos en las que se suman los valores de la escala de Likert de los 4 síntomas presentes en la rinitis (estornudos, rinorrea, obstrucción y prurito nasal), siendo la puntuación máxima de 12 puntos (1).

4.1.1.2. Valoración objetiva de la permeabilidad nasal

En el momento actual existen diferentes técnicas que se han desarrollado para evaluar el flujo de aire nasal y ventilación. Muchas de ellas son laboriosas o de coste elevado y en algunas ocasiones no representan los síntomas subjetivos del paciente.

La resistencia del flujo de aire nasal se relaciona con la cuarta potencia del área transversa de la cavidad nasal, de modo que, según la ley de Hagen-Poiseuille, cambios mínimos en el diámetro causan grandes cambios en la resistencia. Ni la observación directa mediante endoscopia puede estimar el grado de deterioro en la permeabilidad nasal, ni las mediciones del diámetro de la

nariz son suficientes para identificar de forma exacta la resistencia del flujo de aire por la cavidad nasal (121).

La permeabilidad nasal, se define como el paso del aire sin presencia de ninguna resistencia. La modificación de las resistencias nasales se debe, principalmente, a la variación de la congestión vascular de la mucosa nasal (121). Existen diferentes técnicas capaces de medir dichas resistencias con métodos distintos, de modo que podrían ser complementarias. Dicho esto, la permeabilidad nasal se puede evaluar de forma objetiva mediante los siguientes métodos:

1. Pico de flujo nasal inspiratorio (PNIF): es el método más fácil y menos costoso para medir el flujo de aire nasal, aunque es altamente dependiente de la colaboración del paciente y de la función pulmonar del paciente. Por tanto las variaciones entre las mediciones pueden ser significativas, ya que una medida representa solo una inspiración momentánea (115,122).
2. RAC: es una técnica rápida y fácil de realizar, sin la necesidad de colaboración activa del paciente. Esta prueba se estandarizó en el 2005 por la Sociedad Europea de Rinología para la evaluación objetiva del volumen de las fosas nasales (114,116).
3. Rinometría anterior activa (AAR) o rinomanometría: es un método sensible y altamente específico y actualmente aceptado como un método estándar para la medición de forma objetiva del flujo y resistencia nasal (123).
4. Rinomanometría de 4 fases (4PR): actualmente se considera la técnica más fiable para valorar la ventilación y permeabilidad nasal, añadiendo información gráfica de la función alterada de la válvula nasal (124).

4.1.1.3. Criterios de positividad en la prueba de provocación nasal en alergia respiratoria

El documento de posicionamiento de la EACCI sobre la metodología de la provocación nasal con alérgeno, publicado en 2017, aceptó los cuatro métodos descritos anteriormente para valorar de forma objetiva la permeabilidad nasal y estableció criterios para considerar una PPN alérgeno-específico positiva. Así, una PPN se considera positiva si existe una alteración muy significativa de las mediciones mediante técnicas objetivas, o un fuerte incremento en síntomas, o un incremento/alteración moderados de una combinación de medidas objetivas y subjetivas. Los criterios detallados están en la Tabla 3 (1).

Es importante destacar que existen otras sociedades que se han pronunciado con respecto a la PPN alérgeno-específica. En el año 2011, la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) recomendó el uso combinado de la puntuación de síntomas y una medida

objetiva de obstrucción nasal. El rango de las técnicas de mayor a menor recomendación es: 1) *RAc*, 2) *rinomanometría anterior activa*, 3) *flujo inspiratorio nasal pico* (116). Los criterios de positividad según SEAIC son:

1. Puntuación de síntomas: incremento de ≥ 5 puntos
2. Evaluación de la obstrucción nasal:
 1. *RAc*: disminución del 25% en el área transversa mínima de la cavidad nasal o en el volumen 2-6 cm³ de cada cavidad fosa nasal
 2. *Rinomanometría anterior activa*: incremento del 100% en la resistencia del flujo de aire total/ flujo de aire a 15 Pa
 3. *Pico flujo inspiratorio nasal pico*: reducción de $\geq 40\%$ en el flujo de aire

En un trabajo realizado en el 2020 por *Eguiluz-Gracia et al.* (2) para establecer los puntos de corte de la provocación nasal, se analizaron 1895 pacientes con rinitis sometidos a una PPN alérgeno-específica. Concluyeron que, por si sola, la disminución del %Volumen 2-6 cm³ en la *RAc*, permite diferenciar entre pruebas positivas y negativas, siendo la disminución de $\geq 24.48\%$ el punto de corte óptimo.

Tabla 3. Criterios de positividad de la provocación nasal con alérgeno según el documento de posicionamiento de la EAACI (1)

Método	Claramente positivo	Moderadamente positivo
<i>Mediciones subjetivas</i>		
Escala visual analógica (EVA)	Síntomas ≥ 55 mm	Síntomas ≥ 23 mm
Puntuación Lebel	Incremento de ≥ 5 puntos	Incremento de ≥ 3 puntos
Puntuación Linder	Incremento de ≥ 5 puntos	Incremento de ≥ 3 puntos
Puntuación total de síntomas nasales (TNSS)	Incremento de ≥ 5 puntos	Incremento de ≥ 3 puntos
<i>Mediciones objetivas</i>		
Pico de flujo nasal inspiratorio (PNIF)	Disminución del flujo de $\geq 40\%$	Disminución del flujo de $\geq 20\%$
Rinometría acústica (RAc)	Disminución de $\geq 40\%$ en volumen 2-6cm ³ bilateral	Disminución de $\geq 27\%$ en volumen 2-6cm ³ bilateral

Rinomanometría activa anterior (ARR)	Disminución del flujo de $\geq 40\%$ en 150 Pa	Disminución del flujo de $\geq 20\%$ en 150 Pa
Rinomanometría de 4 fases (4PR)	$\geq 40\%$ de incremento en la resistencia efectiva logarítmica	$\geq 20\%$ de incremento en la resistencia efectiva logarítmica

Pa; pascales

4.2. Prueba de provocación nasal en alergia a alimentos

Desafortunadamente en la literatura existen muy pocos artículos publicados que describen el papel de las mucosas como una nueva herramienta para el diagnóstico confirmatorio de la AA mediada por IgE. En la mayoría de ellos la falta de las pruebas de exposición oral es una de las mayores limitaciones.

Las pruebas de provocación con alérgenos en mucosa nasal están ampliamente estudiadas en alergia respiratoria, tal y como ya hemos revisado, principalmente en la rinitis alérgica, pero poco hay descrito en AA mediada por IgE (1,116,125).

En 1985 Amlot et al. (126) publicaron el primer artículo en el que se confirmaba la sensibilidad de la mucosa nasal, oral y gástrica para diagnosticar una alergia alimentaria en pacientes sensibilizados a la leche y huevo. Estos autores encontraron una buena correlación entre las pruebas de provocación nasal y una prueba intraepidérmica positiva ($p < 0.001$). Concluyeron que, por orden de sensibilidad, las mejores pruebas para diagnosticar AA fueron la prueba intraepidérmica, seguida de la provocación nasal, la provocación oral y, finalmente, la provocación intragástrica.

En 2005 F. Marcucci et al. (127), estudiaron pacientes con SAO con el objetivo de determinar la utilidad de la PPN para determinar la reactividad cruzada entre pólenes y alimentos. Para ello, realizaron “pruebas de provocación cruzadas”, lo que significa, pruebas de provocación en mucosa oral con pólenes y pruebas de provocación nasal con alérgenos alimentarios. Los autores concluyeron que la reactividad cruzada entre alimento y polen cuando era evaluado el alérgeno respiratorio en la mucosa oral y el alérgeno alimentario en la mucosa nasal no era clínicamente relevante y el comportamiento distinto entre cada prueba de provocación, sugiere mecanismos inmunológicos diferentes que pueden actuar tanto en la mucosa nasal como en la mucosa oral.

En 2012, un estudio muy interesante de A. Clark et al. (128), se combinó la termografía nasal con la PPN con cacahuete (100 μg de proteína de cacahuete) para el diagnóstico de la alergia a cacahuete. Se observó que todos los niños con una PPODCCP positiva con cacahuete incluidos en el estudio, también presentaron síntomas de rinitis (estornudos, congestión nasal y rinorrea)

a los 5 minutos de la aplicación del alérgeno en la mucosa nasal, sin observarse síntomas en otros órganos. Concluyeron que la provocación nasal puede ser útil en el diagnóstico de la alergia al cacahuete, ya que se correlaciona perfectamente con la provocación oral, y es segura, ya que utilizando una pequeña cantidad de alérgeno con una dosis 100 000 veces menor a la utilizada en una prueba de exposición oral se consiguen resultados positivos sin que los pacientes presenten síntomas sistémicos.

El último estudio publicado en esta línea fue en 2014 por J Sánchez-López et al. (34). Este trabajo investigó la capacidad de la LTP de la artemisia (Art v 3) y Pru p 3 de producir síntomas propios de una rinitis alérgica y una inflamación de predominio T-helper 2 (Th 2). Para ello se seleccionaron 15 pacientes con antecedente de anafilaxia por melocotón sensibilizados a Pru p 3, sin polinosis por artemisia, y se utilizó un grupo control de individuos sanos. La PPN se evaluó de forma objetiva con la RAc y de forma subjetiva con una EVA y el TNSS. Los autores observaron que tanto Pru p 3 como Art v 3 fueron capaces de inducir síntomas nasales en los pacientes, sin producir ninguna reacción sistémica. De modo que este es el primer estudio *“in vivo”* que comprueba la reactividad cruzada entre Pru p 3 y Art v 3, y sugieren que la sensibilización primaria a Pru p 3 puede desencadenar alergia respiratoria a través de esta reactividad cruzada. En definitiva, la PPN con alimentos es una técnica de fácil realización gracias a la accesibilidad de la mucosa nasal. La nariz es un órgano altamente vascularizado y con una gran superficie de mucosa repleta de mastocitos y otras células efectoras, convirtiéndolo en un órgano diana en la AA mediada por IgE (129).

4.3. Otros modelos de exposición en provocación en mucosas en alergia a alimentos

4.3.1. Prueba de provocación conjuntival con alimento

La mucosa conjuntival, al igual que la nasal, es una superficie de fácil acceso. En el año 2000 J Sastre et al. (130), publicaron un estudio en el que se realizaron pruebas de provocación conjuntival (PPC) en un grupo de pacientes sensibilizados a *Anisakis simplex*, así como PPODCCP con extracto líquido y liofilizado de la larva *Anisakis simplex*. La PPC fue positiva en 11 (90.9%) de los 12 pacientes estudiados, y en ninguno de los pacientes control. Concluyeron que la prueba de PPC es una herramienta útil para identificar pacientes con una historia clínica sugestiva de hipersensibilidad a *Anisakis simplex*.

En el 2010 B. Krane et al (131). publicaron otro estudio con PPC en pacientes pediátricos. Se incluyeron 145 pacientes atópicos con 174 diagnósticos diferentes de AA basadas en su historia clínica. Tras la PPC todas las reacciones que se presentaron fueron leves. Concluyeron que una PPC notablemente positiva se correlaciona claramente con una verdadera AA. De modo que

recomiendan realizar pruebas de exposición oral, de forma cuidadosa, en caso de una PPC negativa. Un aspecto interesante de este estudio fue que los pacientes con AA no mediada por IgE presentaron una PPC negativa.

En 2017 H. Lindvik et al (132), realizaron un estudio transversal caso-control en el que incluyeron 102 pacientes con sospecha de alergia a cacahuete. Realizaron PPC doble ciego y con extracto de cacahuete y PPODCCP. Los 81 pacientes con una PPODCCP positiva también tuvieron una PPC positiva. 1 paciente control (4%) tuvo una PPC positiva. Ningún paciente con una PPC negativa presentó una PPODCCP positiva. Un aspecto importante por destacar es que 12 pacientes tuvieron una PPC positiva con una prueba de exposición oral negativa. Es destacable que todos estos pacientes estaban sensibilizados al polen del abedul, por lo que la PPC puede ser menos precisa en niños sensibilizados al polen del abedul, requiriendo una prueba de exposición oral. La seguridad de la PPC frente a la prueba de exposición oral demostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$), con reacciones graves que se observaron solamente en las pruebas de exposición oral (23 pacientes presentaron reacciones anafilácticas). La sensibilidad y especificidad de la PPC fue de 0.96 y 0.83, respectivamente. La concentración de alérgeno que indujo un resultado positivo en la PPC se correlacionó con la severidad de la sintomatología alérgica presentada en la PPODCCP. Esta observación sugiere que la PPC puede ser una herramienta potencial para prever la severidad de los síntomas en las pruebas de exposición oral con cacahuete. En conclusión, los autores sugieren que la PPC es una prueba precisa y segura en el diagnóstico de pacientes pediátricos con sospecha de alergia a cacahuete.

4.3.2. Prueba de provocación en mucosa oral, labial y del tracto gastrointestinal con alimento

Existen dos artículos en el que realizan pruebas de provocación en mucosa oral/labial. Uno de ellos por Ruëff F et al. (133), en este estudio recogieron retrospectivamente 38 pacientes con historia clínica de SAO y reacciones sistémicas con la ingesta de alimentos. Se les somete a una provocación en mucosa oral con 44 alimentos frescos, masticando el alimento sin ingerirlo y midiendo en diferentes tiempos la triptasa salival, 3 pacientes masticaron goma de mascar como grupo control. De los 38 pacientes estudiados, la mayoría de ellos a los 4 minutos presentaron un aumento en la concentración de la triptasa en saliva, el 75% de los pacientes presentaron SAO, 5 pacientes presentaron síntomas sistémicos con incremento de la triptasa en saliva y 1 paciente presentó una anafilaxia sin presentar previamente SAO ni aumento en la triptasa en saliva. En conclusión, los autores sugieren que la medición de la triptasa salival a los 4 minutos, puede ser una herramienta diagnóstica de rutina que puede evitar la PPODCCP en pacientes con

reacción sistémica, sin embargo, debido a las dificultades en la medición de la triptasa salival, una triptasa en saliva normal no excluye una AA.

En el segundo artículo publicado en 2019 por Vázquez-Ortiz et al. (134), se valoró la utilidad de la aplicación del alimento en la parte interna del labio, realizada antes de la provocación oral con el alimento para el diagnóstico de AA, se estableció como positiva cuando se presentaba un síntoma objetivo en la prueba de provocación en mucosa labial. Obtuvieron 147 respuestas, por medio de una base electrónica, en la cual, el 80% de los que respondieron incluyeron la prueba de provocación en mucosa labial como el primer paso antes de las pruebas de provocación oral, 1/3 de ellos no procedieron a la prueba de provocación oral (PPO), si previamente en la provocación en mucosa labial presentaron síntomas subjetivos. Los autores concluyeron que no existe evidencia suficiente para utilizarse como diagnóstico en práctica clínica habitual, debido a la gran variación presentada en la interpretación de los síntomas y en la realización de esta.

Las pruebas de provocación intragástrica e intestinal se realizan mediante la aplicación del alérgeno alimentario guiado por endoscopia. Estos procedimientos tienen como característica común que son invasivos y requieren de personal especializado (endoscopista, anestesista, gastroenterólogo) e infraestructura específica. En la mayoría de ellos, con realización de biopsias en la mucosa gástrica o intestinal y llegando a utilizar dosis altas de alérgeno de hasta 1000 mg del alérgeno alimentario. Estableciendo como prueba de provocación positiva, si se observan cambios en la mucosa gastrointestinal como, presencia de eritema o sangrados petequiales y/o cambios endoscópicos como engrosamiento de la mucosa. La mayoría de los estudios publicados concluyen que las pruebas de provocación en mucosa intestinal, proporcionan una nueva herramienta diagnóstica en pacientes con AA, especialmente en aquellos en los que predomina la sintomatología gastrointestinal (135–138). Todos estos aspectos hacen difícil su implementación en la práctica clínica habitual.

En síntesis, la provocación en mucosas (principalmente la nasal y conjuntival) tienen la característica común de ser no invasivas y sencillas por su fácil acceso a las mucosas correspondientes, además de haberse demostrado su seguridad. Este último punto es de particular interés, por su evidente ventaja respecto a las pruebas de exposición oral. Ningún efecto adverso grave se ha presentado en ninguno de los estudios publicados, y en la mayoría se utilizan dosis de alérgeno que son 1000 veces menor que las utilizadas en las pruebas de exposición oral.

Sin embargo, una limitación de estos estudios es que la mayoría no incluyen a pacientes sensibilizados, es decir, sin síntomas. De este modo, es difícil valorar si las pruebas de exposición a mucosas simplemente están confirmando una sensibilización y no una alergia. Por consiguiente, se requiere del desarrollo de nuevos estudios en los que se incluyan pacientes sensibilizados sin sintomatología con la ingesta de alimentos, utilizando las recomendaciones metodológicas actualizadas que sugieren la combinación de herramientas objetivas y subjetivas con el fin mejorar el diagnóstico de una de las patologías más prevalentes, como es la AA mediada por IgE.

En la Tabla 4 se muestran las características principales de los siete estudios actualmente publicados en los que se utilizan pruebas de provocación con alimento en mucosa conjuntival y nasal.

Tabla 4. Pruebas de provocación con alimento en mucosa nasal y conjuntival en alergia a alimentos mediada por IgE (34,126–128,130–132)

Estudio	Amlot 1985	Sastre 2000	Marcucci 2005	Krane 2010	Clark 2012	Sánchez- López 2014	Lindvik 2017
Objetivo	Diagnóstico AA a huevo y leche, comparando sensibilidad PIE vs provocación nasal vs oral vs gástrica	Diagnóstico AA con <i>Anisakis simplex</i>	Identificación de la reactividad cruzada del polen vs alimento con una prueba cruzada nariz-boca	Diagnóstico AA en pacientes pediátricos	Diagnóstico AA cacahuete con PPN cacahuete y termografía	Reactividad cruzada LTPs: polen de la artemisia Art v 3 y AA por Pru p 3	Diagnóstico AA cacahuete
Pacientes seleccionados	39 niños con sospecha de AA	12 adultos con Alergia anisakis	9 adultos con rinitis alérgica y SAO concomitante	145 niños 174 diagnósticos de AA	16 niños PPODCCP + cacahuete	15 adultos Anafilaxia por melocotón	102 niños AA cacahuete
Controles seleccionados	12 individuos 6 atópicos 6 no atópicos	5 con urticaria crónica en PPC con <i>sensibilización Anisakis simplex</i> , 5 individuos sanos en PPODCCP	12 individuos sanos	50 individuos sanos	No seleccionados	9 individuos 5 no atópicos 4 atópicos	28 individuos sanos
Prueba de provocación en mucosa realizada	Nasal, oral y gástrica abierta	PPC con extracto liofilizado de <i>Anisakis simplex</i> abierta	PPN con polen-alimento abierta	PPC con alimento abierta	PPN 10 ug proteína cacahuete abierta	PPNs abiertas con nArt v 3, polen artemisia y nPru p 3	PPC doble-ciego con extracto de cacahuete
Medición de mediadores celulares	No realizado	Proteína catiónica de eosinófilo y triptasa séricas	Triptasa nasal Proteína catiónica de eosinófilo nasal	No realizado	No realizado	Triptasa y cisteinil-leucotrienos en el lavado nasal	No realizado
Prueba de exposición oral abierta o PPODCCP	PPO	PPODCCP	Provocación oral con alimento y oral con polen abierta	PPODCCP	PPODCCP	No realizada	PPODCCP en pacientes PPO abierta en individuos sanos

Resultados	PPN más sensible que PPO	PPC muy sensible (positiva en 90.9% pacientes) No diferencias en los niveles séricos: Triptasa ECP	La prueba cruzada no tuvo ningún efecto clínico	PPC altamente específica Correlación entre síntomas en PPC y PPO	Termografía es una técnica útil para control objetivo de la PPN	PPN Art v 3 y Pru p 3 son altamente específicas, indujeron síntomas nasales y dpVNM 2-5 cm en RAc Triptasa nasal se incrementó en PPNs con Pru p 3	PPC sensibilidad: 0.96 y especificidad: 0.83
-------------------	--------------------------	---	---	---	---	---	--

AA: alergia alimentos; Art v 3: LTP de la artemisia; dpVNM: disminución del porcentaje del volumen nasal medio; ECP: *proteína catiónica eosinofílica*; PIE: prueba cutánea intraepidérmica; PPC: prueba de provocación conjuntival; PPODCCP: prueba de provocación oral a doble-ciego controlada con placebo; Pru p 3: LTP del melocotón; RAc: rinometría acústica; SAO: síndrome de alergia oral; PPO: prueba de provocación oral; PPN: prueba de provocación nasal; “+”: positiva.

El propósito de esta tesis doctoral es trabajar dos aspectos actualmente no resueltos en el diagnóstico de la AA mediada por LTP. El primero es la identificación adecuada de los pacientes con AA por sensibilización a LTP inducida por AINE. El segundo, validar nuevas herramientas diagnósticas “*in vivo*” en la AA por sensibilización a LTP, como es la PPN con alimentos.

3. Hipótesis y objetivos

3.1 HIPÓTESIS

1. Un porcentaje no definido de pacientes con sospecha de reacciones de hipersensibilidad aguda inmunológica y no inmunológica por AINEs, presentan en realidad una alergia alimentaria inducida por AINEs (FDNIH). El estudio sistemático de la alergia alimentaria, particularmente de la sensibilización a LTP, en pacientes con sospecha de hipersensibilidad aguda por AINEs evitaría su sobrediagnóstico. Identificar las características de la FDNIH en un contexto de sensibilización a LTP así como sus factores de riesgo, sería de vital importancia para su correcto diagnóstico.

2. La PPO con alimentos es considerada el *gold standard* en el diagnóstico de la AA. Sin embargo, su implementación en la práctica clínica diaria es compleja por: (1) el riesgo de reacción, (2) la baja reproducibilidad y (3) la complicada logística que precisa su realización; dicha complejidad es aún mayor en el diagnóstico de la alergia a LTP inducida por AINE (FDNIH-LTP). Buscar herramientas diagnósticas en la AA por sensibilización a LTP, dependiente y no dependiente de AINE, que permitan o bien substituir a la provocación oral o bien estratificar su riesgo, es un reto diagnóstico. La prueba de provocación nasal con Pru p 3 (PPNp) sería esta herramienta que permitiría identificar a los pacientes con alergia a melocotón sensibilizados a LTP que presentan reacciones sistémicas, dependientes y no dependientes de AINE, y a los pacientes sensibilizados a LTP asintomáticos o con síntomas locales.

3.2 OBJETIVOS

De acuerdo con las hipótesis anteriormente formuladas, se identifican los diferentes objetivos principales .

1. Objetivo principal 1

Identificar la prevalencia de la alergia a alimentos por sensibilización a LTP inducida por antiinflamatorios no esteroideos (FDNIH-LTP) en pacientes con sospecha de una reacción de hipersensibilidad aguda por antiinflamatorios no esteroideos.

1.1. Objetivos secundarios

- 1.1.1. Fenotipado de la alergia a alimentos por sensibilización a LTP inducida por antiinflamatorios no esteroideos.
- 1.1.2. Establecer factores de riesgo involucrados en la alergia a alimentos por sensibilización a LTP inducida por antiinflamatorios no esteroideos.

2. Objetivo principal 2

Evaluar la utilidad de la prueba de provocación nasal con Pru p 3 en el diagnóstico de alergia a melocotón por sensibilización a LTP (Pru p 3), dependiente y no dependiente de antiinflamatorio no esteroideo, de acuerdo con los criterios establecidos en alergia respiratoria (EAACI y *Eguiluz-Gracia*).

2.1. Objetivos secundarios:

- 2.1.1. Evaluar la utilidad de la prueba de provocación nasal con Pru p 3 en el diagnóstico de alergia a melocotón por sensibilización a LTP (Pru p 3), de acuerdo con los criterios de EAACI y *Eguiluz-Gracia*, para diferenciar al grupo de pacientes alérgicos a melocotón con el fenotipo de alergia a alimentos por sensibilización a LTP inducida por antiinflamatorios no esteroideos del grupo de pacientes con alergia a melocotón por sensibilización a LTP no dependiente de antiinflamatorio no esteroideo.

- 2.1.2.** Identificar puntos de corte de (1) los parámetros evaluados en la prueba de provocación nasal con Pru p 3 (disminución del porcentaje del volumen nasal medio 2-6cm, escala visual analógica de síntomas nasales y puntuación total de síntomas nasales) y (2) del tamaño de la prueba intraepidérmica a Pru p 3, que permitan diagnosticar a los pacientes con alergia a melocotón dependiente de antiinflamatorio no esteroideo, a los pacientes con alergia a melocotón no dependiente de antiinflamatorio no esteroideo y a los pacientes con sensibilización subclínica a Pru p 3 o síntomas locales, de acuerdo a su fenotipo.

4. Material y métodos

4.1. Objetivo 1

Para la consecución del objetivo 1 se llevó a cabo un estudio prospectivo multicéntrico, realizado en el Hospital Clínic y Hospital de Vall d'Hebron de Barcelona, España.

4.1.1. Selección de pacientes

Se seleccionaron pacientes con sospecha de hipersensibilidad inmediata a los AINEs en base a la clasificación propuesta por el grupo de interés de Alergia a Medicamentos de la EAACI (ENDA), en el período de Junio 2012 a Julio 2015 (87,101).

Para identificar los pacientes con reacciones de hipersensibilidad a los AINEs dependiente de alimento (FDNIH), se realizó de forma sistemática en todos los pacientes una evaluación exhaustiva de AA mediada por IgE. Los pacientes con anafilaxia por toma de AINE y con alta sospecha de FDNIH fueron sometidos a una prueba de exposición oral con el AINE implicado en la reacción, en contra a las recomendaciones de las guías de práctica clínica. La sospecha de FDNIH se basó en la detección de una sensibilización, mediante la determinación de IgE específica en suero y/o prueba intraepidérmica, a cualquier alimento ingerido antes de la reacción.

Los pacientes fueron diagnosticados de FDNIH cuando cumplían con todos los criterios siguientes:

1. En la ausencia de AINE, **tolerancia** a los alimentos involucrados en la reacción posteriormente al episodio que motiva la consulta, o presencia de **síntomas leves** como síndrome de alergia oral o urticaria de contacto.
2. **Reacción alérgica sistémica:** urticaria, angioedema, broncoespasmo o anafilaxia, ésta última de acuerdo a la definición de la guía de anafilaxia de la EAACI (87), en el contexto de la ingesta concomitante o cercana en el tiempo del alimento y AINE. Se consideró cercano/concomitante un intervalo de máximo de 6 horas entre la última ingesta de alimento y el inicio de la reacción y 8 horas entre la toma del AINE y el inicio de la reacción.
3. **Pruebas cutáneas intraepidérmicas y/o IgE específicas** positivas para cualquiera de los alimentos ingeridos previamente a la reacción y/o gliadina (Tri a 19), LTP melocotón (Pru p 3) (79,110,139).
4. **Prueba de exposición oral negativa al AINE/AINEs** implicado(s) en la reacción.

En los casos identificados como FDNIH se comprobó si tenían una tolerancia completa al alimento involucrado en la reacción en ausencia de la toma del AINE. Estos casos se

consideraron como “efecto ON/OFF”, lo que significa que, con la presencia de un cofactor aparece una reacción sistémica, mientras que con la ausencia de éste el paciente tiene una tolerancia completa al alimento.

Se consideró como grupo control a todos los pacientes que no cumplieron con los criterios FDNIH.

4.1.2. Recogida de datos

Se recolectaron los datos demográficos, historia clínica completa con especial atención en los antecedentes de AA, reacciones de hipersensibilidad a los AINEs, AINEs involucrados, síntomas presentados con la toma del AINE/AINEs y presencia de comorbilidades (rinosinusitis crónica, asma, urticaria).

Los síntomas presentados con la toma del AINE se clasificaron como: urticaria y/o angioedema, rinitis y/o asma y anafilaxia, y se agruparon en tres categorías: cutáneo, respiratorio y anafilaxia, para facilitar la interpretación de los datos.

En la evaluación clínica de cualquier sospecha de reacción con AINE se le preguntó al paciente por diferentes intervalos de tiempo durante la reacción:

- a) Tiempo entre la toma del AINE y el inicio de la reacción
- b) Tiempo entre la última ingesta de alimento y el inicio de la reacción
- c) Tiempo entre la toma del AINE y la última ingesta de alimento

En el caso de episodios múltiples, todos los datos disponibles fueron considerados en la evaluación de frecuencia y medias de intervalos de tiempo. No se tomaron en cuenta los casos donde el paciente no recuerda datos de la reacción.

4.1.3. Pruebas intraepidérmicas

Las pruebas intraepidérmicas se realizaron con la batería comercial de extractos alérgicos (Laboratorios LETI, Madrid, España) de los alérgenos alimentarios más prevalentes en adultos en nuestra área (melocotón, manzana, melón, kiwi, nuez, avellana, cacahuete, maíz, trigo, soja, garbanzo, lenteja, mostaza, lechuga, tomate, judía verde, bacalao, gamba, anisakis), Gliadina (5mg/mL) y Pru p 3 (30 µg/mL) (ALK-Abelló, Madrid, España). También se realizaron pruebas con alimentos no incluidos en la batería estándar pero que estuvieron implicados en la reacción, con extracto comercial si disponible o por medio de prueba con el alimento en fresco (prick-by-prick).

Las pruebas intraepidérmicas también se realizaron con la batería estándar comercial con extractos glicerizados de los aeroalérgenos más prevalentes en nuestra área:

Dermatophagoides pteronyssinus, *Dermatophagoides farinae*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum*, *Blatella orientalis*, *Lolium perenne*, *Parietaria judaica*, *Artemisia vulgaris*, *Olea europea*, *Platanus acerofila*, *Cupressus arizonica*, *Betula verrucosa*, caspa de perro y gato (Laboratorios LETI, Madrid, España) y profilina de la palma (Pho d 2, 50 µg/mL) (ALK-Abelló, Madrid, España). Las pruebas intraepidérmicas se realizaron en la superficie volar del antebrazo utilizando una lanceta de un solo pico de 1 mm (ALK-Abelló, Madrid, España). Clorhidrato de Histamina (10mg/mL) y solución salina se utilizaron como control positivo y negativo, respectivamente.

Las pruebas intraepidérmicas se consideraron positivas si el diámetro es mayor de 3 mm comparando con el control negativo.

4.1.4. Determinación de IgE específica

Se recogió suero de todos los pacientes para la determinación de IgE específica frente a los alimentos implicados en la reacción, además de rTri a 19 (ω 5-gliadina) y rPru p 3 a través de la plataforma de inmunoensayo ImmunoCAP® (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suecia) o plataforma de micromatriz ImmunoCAP® ISAC® (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suecia). Se consideró positivo los valores de IgEs \geq 0.10 kU/L (ImmunoCAP®) y 0.3 por la unidad de estandarización ISAC (ISU) para ImmunoCAP® ISAC®.

4.1.5. Pruebas de evaluación para AINEs

Los estudios se realizaron en base a las recomendaciones de ENDA-EAACI(87,101). Se realizaron pruebas cutáneas con los fármacos implicados en la reacción si estaban disponibles. En el caso de una prueba cutánea negativa, se realizó una prueba de exposición oral con el fármaco implicado en la reacción. En el caso en el que estuviesen implicados diferentes AINEs, se realizó una prueba de exposición oral con todos los AINEs implicados con un intervalo de al menos 1 semana entre cada prueba.

4.1.6. Análisis estadístico

Se realizó una base de datos para procesamiento estadístico de todos los datos clínicos y experimentales mediante el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 15). Las variables continuas se expresan con medias y desviación estándar (DS) y las variables categóricas se expresan como frecuencias (porcentajes). Las variables continuas se analizaron utilizando la prueba U de Mann-Whitney y los datos categóricos se compararon utilizando la prueba χ^2 (y la prueba de Fisher cuando sea necesaria). Un análisis de regresión logística se utilizó para evaluar la relación entre la presencia de FDNIH y los múltiples factores de riesgo. Todas las variables

recogidas en la base de datos fueron analizadas como potenciales factores de riesgo en el análisis de regresión logística. Una $p < 0.05$ se consideró significativa.

4.1.7. Comité de Ética

Se obtuvo el consentimiento informado y el informe favorable del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínic de Barcelona en noviembre del 2013.

4.2 Objetivo 2

Para la consecución de este objetivo se realizó un estudio prospectivo, observacional, unicéntrico.

2.2.1. Selección de pacientes

Se seleccionaron 29 pacientes con sospecha de alergia a melocotón en contexto de sensibilización a Pru p 3, reclutados de la práctica clínica habitual y 10 individuos sanos.

Los pacientes se dividieron en 3 grupos (A, B y X). El grupo A, son pacientes elegidos del objetivo 1.

- Grupo A (10 pacientes): Pacientes diagnosticados de *FDNIH-LTP*. El diagnóstico clínico se realizó según los siguientes criterios:
 - a. Historia clínica compatible con reacción sistémica asociada a la toma de un AINE y la ingesta de melocotón de forma concomitante o con una latencia máxima de 8 horas.
 - b. La ingesta del AINE o del melocotón de forma separada no indujo síntomas alérgicos.
 - c. Demostración de sensibilización a Pru p 3 y melocotón mediante pruebas intraepidérmicas y/o IgE específica a Pru p 3 ≥ 0.1 kU/L por ImmunoCAP®.
- Grupo B (10 pacientes): Pacientes con *Alergia al melocotón independiente de cofactor*. El diagnóstico se realizó según los siguientes criterios:
 - a. Historia clínica compatible con reacción anafiláctica o urticaria generalizada independiente de cofactor, bien sea AINE, alcohol, menstruación, o ejercicio.
 - b. Demostración de sensibilización a Pru p 3 y melocotón, mediante pruebas intraepidérmicas y/o IgE específica a Pru p 3 ≥ 0.1 kU/L por ImmunoCAP®
- Grupo C (10 pacientes): Individuos sanos:
 - a. Sin historia clínica de patología alérgica (alimentaria o respiratoria).

- b. Sin presencia de sensibilización a alérgenos alimentarios o respiratorios y que presenten tolerancia a melocotón y AINE.
- Grupo X (9 pacientes): Individuos con sensibilización asintomática a Pru p 3, SAO o con urticaria de contacto a piel de melocotón, con buena tolerancia a pulpa de melocotón.
 - a. Sin historia clínica compatible de AA sistémica (urticaria generalizada o anafilaxia) con melocotón.
 - b. Demostración de sensibilización a Pru p 3 y melocotón, mediante pruebas intraepidérmicas y/o IgE específica a Pru p 3 ≥ 0.1 kU/L por ImmunoCAP®

2.2.2. Pruebas intraepidérmicas:

Las pruebas intraepidérmicas con la batería comercial de extractos alérgenos alimentarios y aeroalérgenos, se realizaron exactamente del mismo modo que se ha descrito en el objetivo 1. A todos los grupos de estudio se les realizó una prueba intraepidérmica con Pru p 3 en concentraciones crecientes entre 0.25 y 25 μ g/mL, excepto en el grupo control que solo se realizó la máxima concentración de 25 μ g/mL.

2.2.3. Determinación de IgE específica

Se recogió suero a los pacientes, excepto al grupo control (individuos sanos), para la determinación de IgE específica anti- rPru p 3, rMal d 3, rJug r 3, rCor a 8, rTri a 14 y rAra h 9 mediante la plataforma de inmunoensayo ImmunoCAP® (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suecia). Se descartó sensibilización a otros panalérgenos como Pru p 1 (PR-10) y Pru p 4 (profilina).

2.2.4. Prueba de provocación nasal con Pru p 3 (PPNp)

Para la realización de la PPNp se utilizó un extracto liofilizado de nPru p 3 (BIAL-Arístegui, Bilbao, España) utilizado en un estudio previo de nuestro grupo (34). Las concentraciones se basan en las utilizadas en un estudio previo publicado en abril del 2014 (34) y en las recomendadas por la SEAIC (116) y EAACI (1).

Antes del inicio de la prueba, se verificó que los pacientes presentaban todas las características necesarias para la PPNp, según las recomendaciones de la SEAIC (116) y EAACI (1). Los pacientes permanecieron 30 minutos en reposo. Se aplicó 100 μ l de forma bilateral de suero salino fisiológico (SSF) (NaCl 0.9%) para descartar hiperreactividad nasal, definido como la disminución del porcentaje del VNM 2-6 cm (dpVNM2-6) $\geq 10\%$ del valor basal en RAc (116), el valor obtenido

en el SSF, se consideró el control negativo de la PPNp. Si ausencia de hiperreactividad nasal, se procedió a iniciar con las concentraciones crecientes entre 0.25-25 µg/mL (34) a todos los grupos de estudio, administrados en intervalos de 15 minutos. A todos los pacientes se realizó la PPNp con las 3 concentraciones, a pesar, de tener una PPNp positiva según los criterios de la EAACI (1) y el punto de corte del estudio de *Eguiluz-Gracia et al* (2), con el objetivo de ver el comportamiento de nuestros pacientes en la PPNp, ya que los criterios de positividad actualmente disponibles, solo se aplican en alergia respiratoria. En el grupo control, se realizó únicamente la concentración de 25 µg/mL, debido a ausencia de reactividad con las dos concentraciones anteriores de 0.25 µg/mL y 2.5 µg/mL.

Se realizó un control objetivo de la respuesta mediante RAc. Se midió el volumen nasal entre 2-6cm de la cavidad nasal (VOL 2-6cm) basalmente, post-administración del SSF, tras cada una de las concentraciones de Pru p 3, y 30 y 60 minutos tras la finalización del estudio (figura 7). Se consideró positiva cuando se produjo una disminución del volumen nasal medio según los criterios establecidos por la EAACI (1) y el punto de corte del estudio de *Eguiluz-Gracia et al*. (2), respecto al valor del SSF, considerado como control negativo. A las 24 horas de la PPNp se monitorizó a todos los pacientes por correo electrónico o llamada telefónica.

También se realizó control de la respuesta mediante la evaluación de síntomas (estornudos, prurito nasal, rinorrea anterior y obstrucción nasal) por medio de la EVA nasal, ocular, T4NSS (puntuación total de síntomas nasales) y T3OSS (puntuación total de síntomas oculares) (1): hiperemia, epifora y prurito conjuntival. Se pasaron los cuestionarios basalmente, post-administración del SSF, tras cada una de las concentraciones de Pru p 3, y 30 y 60 minutos tras la finalización del estudio (Figura 5).

- SÍNTOMAS NASALES (prurito nasal, estornudos, rinorrea anterior y obstrucción nasal):

T4NSS por Likert (Total Nasal Symptom Score por escala Likert) + **EVA**

1. EVA de 0 a 100 mm— leve: 0-30mm; moderada: 31-70mm; grave: 71-100mm
2. Escala T4NSS de 0 a 12 puntos— 0: no presente; 1: leve; 2: moderado; 3: grave

*Estornudos:

0-2: 0

3-4: 1

≥5: 3

- SÍNTOMAS OCULARES (hiperemia conjuntival, prurito ocular y epifora)

T3OSS por Likert (Total Ocular Symptom Score por escala Likert) + **EVA**

1. EVA de 0-100 mm

Leve: 0-30mm

Moderada: 31-70mm

Grave: 71-100mm

2. Escala T3OSS de 0 a 9 puntos

0: no presente

1: leve

2: moderado

3: grave

Se dejó en observación durante 60 minutos posterior a la finalización de la PPNp, a los pacientes del grupo A, B y X. A las 24 horas de la PPNp se monitorizó a los pacientes por vía telefónica o correo electrónico.

En la Figura 7 se esquematiza la forma en la que se llevó a cabo la PPNp en los diferentes grupos de pacientes.

2.2.5. Análisis estadístico

Todos los datos estadísticos y experimentales se recogieron en una base de datos utilizando el programa GNU PSPP (versión 1.2.0-g0fb4db) que permitió su procesamiento estadístico. El programa GraphPad Prism® 8.0.2 se utilizó para la realización de gráficas y también en el análisis de datos. Para estudiar las diferencias en las variables estudiadas entre grupos se utilizaron las pruebas paramétricas t-Student, análisis de la varianza (ANOVA) y Prueba de Sheffe (análisis intergrupos con estudios de contraste); y pruebas no paramétricas como Kruskal-Wallis y Wilcoxon. El análisis con pruebas paramétricas o no paramétricas se determinó previamente en cada caso mediante la prueba de Levene, que permite evaluar la igualdad de varianzas para una variable calculada para dos o más grupos.

Para el análisis estadístico y realización de las gráficas en la valoración de la disminución del porcentaje del VNM 2-6cm (dpVNM2-6) en RAc, convertimos los volúmenes en porcentajes. En el grupo control las concentraciones de 0.25 y 2.5 µg/mL se les dio el valor del 100%, al no realizarse estas concentraciones debido a la ausencia de reacción en la máxima concentración de Pru p 3 de 25 µg/mL. Así mismo, al control negativo de la PPNp que es el SSF, se le dio el valor

de 100%; valorándose la dpVNM2-6 en las diferentes concentraciones con los 4 grupos con respecto a este 100% del suero salino fisiológico.

Para la realización del de las gráficas de la EVA nasal, y la evaluación del aumento de los 4 síntomas cardinales de la rinitis (prurito nasal, estornudos, rinorrea anterior y obstrucción nasal) en las 3 concentraciones de Pru p 3 (0.25, 2.5 y 25 µg/mL) en la PPNp, los pacientes del grupo control al realizar como única concentración la máxima de 25 µg/mL, las 2 concentraciones anteriores (0.25 y 2.5 µg/mL) se les dio un valor de "0". El control negativo de los 4 grupos fueron los valores presentados en la PPNp realizada con SSF. Para la valoración de los síntomas según las recomendaciones de la EAACI (1) en la realización de PPN alérgeno-específica establecen una valoración global de los 4 síntomas en una escala de 0 a 100 mm, al realizar nosotros una valoración individual de cada síntoma con una escala de 0 a 100 mm, nuestra valoración final en dicha escala va de 0 a 400 mm, para adaptarnos a las recomendaciones de la EAACI y realizar el análisis estadístico, la suma de los 4 síntomas se dividió entre 4 con una EVA nasal final de 0 a 100 mm.

Para la realización de las gráficas y la evaluación del aumento de los síntomas en el T4NSS, los pacientes del grupo control al realizar como única concentración la máxima de 25 µg/mL, en las 2 concentraciones anteriores (0.25 y 2.5 µg/mL) se les dio un valor de "0". El control negativo de los 4 grupos fueron los valores presentados en la PPNp realizada con SSF, con una puntuación final de 0 a 12 puntos. Esto mismo, se realizó en las gráficas de la escala T3OSS con una puntuación final de 0 a 9 puntos.

Con respecto a la evaluación de los síntomas oculares en la EVA ocular, utilizamos lo recomendado con la valoración nasal y lo extrapolamos para los síntomas oculares, siendo nuestra valoración final en dicha escala de 0 a 300 mm, para adaptarnos a las recomendaciones de la EAACI y realizar el análisis estadístico, la suma de los 3 síntomas se dividió entre 3 con una EVA ocular final de 0 a 100 mm.

En el análisis de las pruebas cutáneas intraepidérmicas (PIE) con Pru p 3 en las 3 concentraciones (0.25, 2.5 y 25 µg/mL), se utilizó como control positivo el diámetro mayor (mm) de la pápula de la histamina de cada paciente. En el grupo control se realizó únicamente la máxima concentración de 25 µg/mL con ausencia de respuesta, siendo en los 10 (100%) pacientes reclutados un resultado negativo de 0mm, por lo que, se dio el valor de 0 en las PIE de la concentración de 0.25 y 2.5 µg/mL para la realización del análisis estadístico.

Establecimos los siguientes valores para el análisis estadístico:

0 = negativo: 0 mm

1 = > 0 mm, pero < ½ del (diámetro mayor) de histamina

2 = ½ del (diámetro mayor) de la histamina, pero < que el (diámetro mayor) > de la histamina

3 = > (diámetro mayor) de la histamina

En los casos en los que los resultados anteriormente detallados presentaron un resultado significativo, se utilizó el análisis Chi-cuadrado de Pearson con el objetivo de calcular sensibilidad y especificidad.

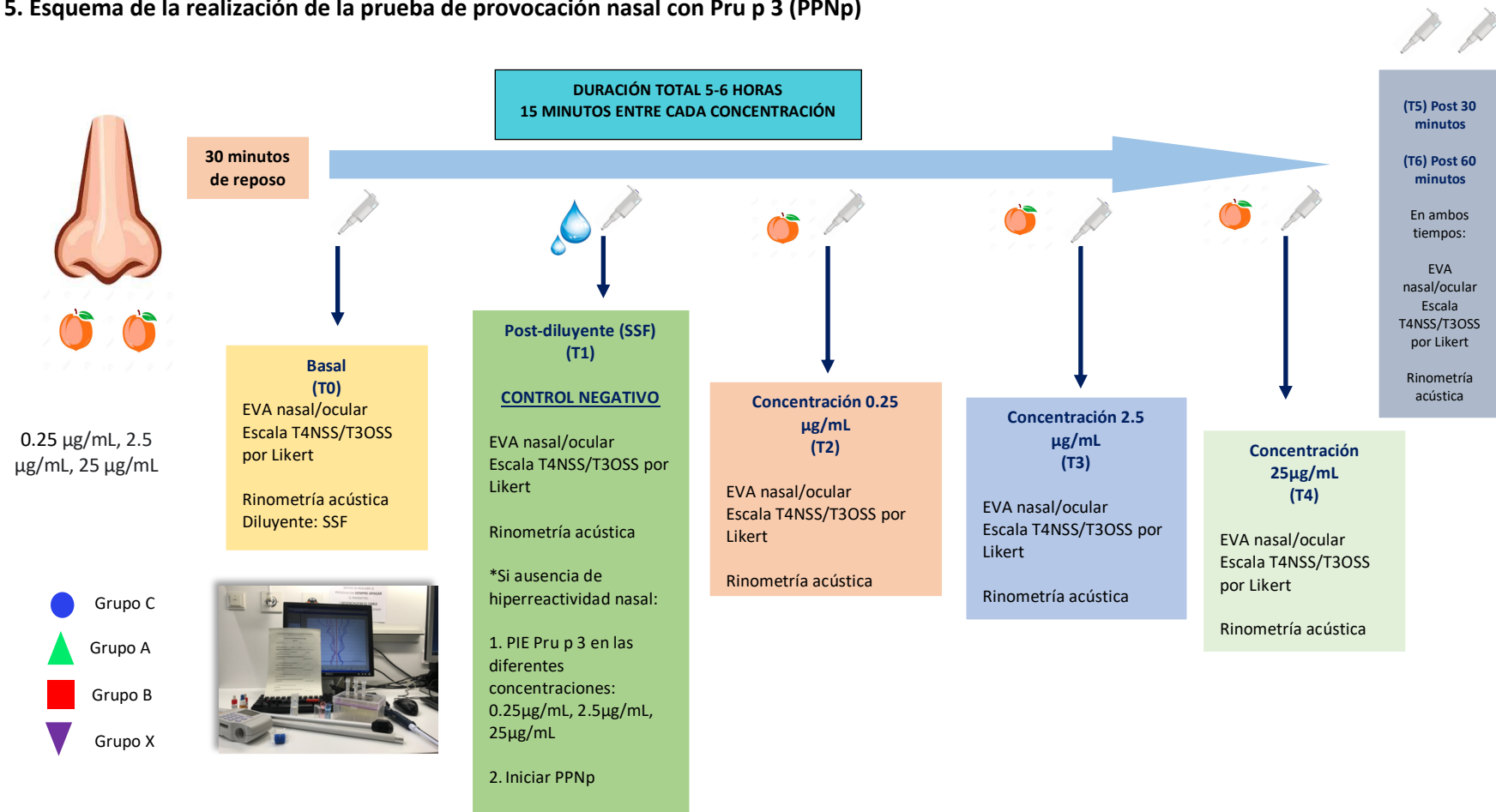
Las curvas ROC obtenidas al representar Sensibilidad vs (1-Especificidad) permitieron calcular el índice de Youden y deducir a partir de éste el punto de corte en cada una de las pruebas y para cada uno de los grupos. Dichos puntos de corte se corresponden con aquellos valores en los que el índice de Youden adquiere valores máximos o mínimos según cada caso. Cada punto de corte establecido tiene una significación asintótica asociada, considerándose significativa si ésta es menor de 0.05.

Para aquellos casos en los que fue necesario, se realizaron pruebas de correlación entre variables, utilizándose la correlación de Pearson o la de Spearman según existiese o no normalidad en las variables. Valores de valor-p inferiores a 0.05 ($p < 0.05$) fueron considerados como significativos.

2.2.6. Comité de Ética

Se obtuvo el consentimiento informado y el informe favorable del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínic de Barcelona en abril del 2018.

Figura 5. Esquema de la realización de la prueba de provocación nasal con Pru p 3 (PPNp)



EVA: escala visual analógica; PIE: prueba cutánea intraepidérmica; PPNp: prueba de provocación nasal con Pru p 3; T4NSS: puntuación total de síntomas nasales; T3OSS: puntuación total de síntomas oculares; SSF: suero salino fisiológico; T: tiempo.

Presentamos a continuación: (i) la hoja de recogida de datos utilizada durante la PPNp: basal, SSF, en las diferentes concentraciones y a los 30 y 60 minutos de finalizar la PPNp: (ii) cuestionario de inclusión de pacientes y (iii) la forma de preparación del liofilizado de Pru p 3 para la realización de la PPNp (Figura 6).

(i) PRUEBA DE PROVOCACIÓN NASAL CONTROLADA con Pru p 3 (PPNp)
(T0 a T6)

Código del paciente _____ Fecha: _____

Tensión arterial (mm/Hg): _____ FEV1% _____ SatO2% _____

ESCALA VISUAL ANALÓGICA (EVA) cm: marcar con una línea vertical donde lo sitúe el paciente

<p>1. ¿Qué tan importante es su congestión nasal?</p> <p>CONGESTIÓN NASAL (nariz tapada):</p> <p>0</p> <p>Sin congestión nasal</p>	<p>Resultado</p> <p>10 <input style="width: 80px; height: 40px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>Congestión nasal máxima</p>
<p>2. ¿Qué tan importante es su rinorrea anterior?</p> <p>RINORREA ANTERIOR (moco como agua):</p> <p>0</p> <p>Sin rinorrea anterior</p>	<p>10 <input style="width: 80px; height: 40px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>Rinorrea anterior máxima</p>
<p>3. ¿Qué tan importante es su prurito nasal?</p> <p>PRURITO NASAL (picor):</p> <p>0</p> <p>Sin prurito nasal</p>	<p>10 <input style="width: 80px; height: 40px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>Prurito nasal máximo</p>
<p>4. ¿Qué tan importantes son sus estornudos?</p> <p>ESTORNUDOS:</p> <p>0</p> <p>Sin estornudos</p>	<p>10 <input style="width: 80px; height: 40px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>Estornudo máximo</p>

**PRUEBA DE PROVOCACIÓN NASAL CONTROLADA con Prup 3 (PPNp)
(T0 a T6)**

Código del paciente _____ Fecha: _____

ESCALA T4NSS POR LIKERT DE SÍNTOMAS: 0=no presente; 1=leve; 2=moderado; 3=intenso

*Estornudos: 0-2 estornudos=0; 3-4 estornudos=1; ≥5 estornudos=3

	Congestión nasal	Rinorrea anterior	Prurito nasal	Estornudos
Puntos				

RINOMETRÍA ACÚSTICA

	Volumen izquierdo	Volumen derecho	Volumen nasal medio
Volumen nasal (2-5 cm)			
Volumen nasal (2-6cm)			

RESULTADO:

**(i) PRUEBA DE PROVOCACIÓN NASAL CONTROLADA CON Pru p 3 (PPNp)
(T0 a T6)**

Código del paciente _____

Fecha: _____

ESCALA VISUAL ANALÓGICA (EVA) cm: marcar con una línea vertical donde lo sitúe el paciente

<p>1. ¿Qué tan importante es su ojo rojo?</p> <p>OJO ROJO:</p> <p>0</p> <p>Sin ojo rojo</p>	<p>Resultado</p> <p>10</p> <div style="border: 1px solid black; width: 80px; height: 40px; margin: 0 auto;"></div> <p>Ojo rojo máximo</p>
<p>2. ¿Qué tan importante es su prurito ocular?</p> <p>PRURITO OCULAR (picor):</p> <p>0</p> <p>Sin prurito ocular</p>	<p>10</p> <div style="border: 1px solid black; width: 80px; height: 40px; margin: 0 auto;"></div> <p>Prurito ocular máximo</p>
<p>3. ¿Qué tan importante es su lagrimeo/epifora?</p> <p>LAGRÍMEO:</p> <p>0</p> <p>Sin lagrimeo</p>	<p>10</p> <div style="border: 1px solid black; width: 80px; height: 40px; margin: 0 auto;"></div> <p>Lagrimeo máximo</p>

ESCALA T3OSS POR LIKERT DE SÍNTOMAS: 0=no presente; 1=leve; 2=moderado; 3=intenso

	Ojo rojo	Prurito ocular	Lagrimeo
Puntos			

PRUEBA DE PROVOCACIÓN NASAL CONTROLADA CON Pru p 3 (PPNp)

PRUEBAS INTRAEPIDÉRMICAS

Código del paciente _____

Fecha: _____

Pruebas intraepidérmicas con Pru p 3:

Histamina _____ mm (diámetro mayor)

SSF _____ mm (diámetro mayor)

1. Concentración Pru p 3 0.25µg/mL _____ mm (diámetro mayor)

2. Concentración Pru p 3 2.5µg/mL _____ mm (diámetro mayor)

3. Concentración Pru p 3 25µg/mL _____ mm (diámetro mayor)

Pru p 3 _____ mm (diámetro mayor)

Melocotón piel _____ mm (diámetro mayor)

Melocotón pulpa _____ mm (diámetro mayor)

(i) CUESTIONARIO

DATOS GENERALES

Nombre completo: _____

*Apellidos**Nombre*

NHC: _____ Fecha de nacimiento: _____ Edad (años) _____

Género: _____

*Día/Mes/Año**M/H*

Código del paciente _____ Fecha: _____

GIO-grupo-00X

Ciudad de nacimiento _____ Ciudad donde vive _____

Medicación actual o inmunoterapia alérgeno-específica (especificar):

Medicamentos que evitar durante la PPN Pru p 3:

Antihistamínicos orales	48 horas (1-2 semanas dependiendo del fármaco)
Antihistamínicos tópicos	4-5 días
Corticosteroides nasales	48-72 horas
Corticosteroides orales	2-3 semanas
Cromoglicato sódico	1-3 semanas
Descongestionante nasal	2 días
Antidepresivos tricíclicos	2-3 semanas
AINEs	1 semana
Antihipertensivos tipo reserpina o clonidina	3 semanas

¿Algún comentario relevante?: especificar

Código del paciente _____

Fecha: _____

DIAGNÓSTICO

ANTECEDENTES PERSONALES ALERGOLÓGICOS PARA CRITERIO DE INCLUSIÓN EN EL ESTUDIO

1. Sintomatología presentada (marcar con una "X"): Urticaria generalizada (UG) o Anafilaxia (An) o Shock anafiláctico (scAn)

Fecha de la reacción (años):

2.

Alimento o alimentos implicado/s en la reacción:

3.

En caso cofactor AINE asociado (nombre genérico y dosis):

4.

5. Tiempo entre la toma del alimento y el inicio de la sintomatología (horas) _____

6. Tiempo entre la toma del AINE y el inicio de la sintomatología (horas) _____

7. Número de episodios presentados:

1: EPISODIO, 2-5: EPISODIOS, >5: EPISODIOS

8. Ha vuelto a comer el alimento o tomar el AINE implicado en la reacción en caso de grupo A (SI/NO): _____

TEST IN VITRO: * (importante)

IgE total (kU/L): _____ *

IgE Pru p 3 (kU/L): _____ *

IgE extracto de melocotón (kU/L): _____

IgE Pru p 1(kU/L): _____

IgE Pru p 4(kU/L): _____

TEST IN VIVO:

Prick test Pru p 3 (diámetro mayor en mm): _____ *

Prick test melocotón piel (diámetro mayor en mm): _____

Prick test profilina (diámetro mayor en mm): _____

Histamina (diámetro mayor en mm) *: _____ SSF (diámetro mayor en mm) *: _____

Código del paciente _____ Fecha: _____

OTROS ANTECEDENTES IMPORTANTES PARA EL ESTUDIO

9. Inicio de la sintomatología de alergia a alimentos (edad en años):

10. Antecedente de Urticaria de contacto con piel de melocotón (SI/NO) y año de la sintomatología _____

11. Antecedente familiar de alergia a alimentos LTP (SI/NO)

12. Síntomas con otros alimentos VEGETALES u otro (especificar alimento y cofactor en caso necesario): EJ: uva (ibuprofeno) → especificar año del inicio de la sintomatología y si evita.

- Urticaria de contacto:

SAO:

- Alteraciones digestivas _____

- Urticaria generalizada _____

- Anafilaxia _____

Shock anafiláctico _____

Otros (especificar) _____

13. Antecedente de rinitis y/o asma polínica (SI/NO), anotar los pólenes:

Inicio de la sintomatología respiratoria (edad en años):

14. Antecedente de rinitis y/o asma no polínica (SI/NO), anotar los pólenes:

Inicio de la sintomatología respiratoria (edad en años):

15. Otros antecedentes personales de
alergia _____

16. Otros antecedentes familiares de
alergia _____

EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS:

TEST IN VITRO:

Triptasa (ng/mL): _____

LTPs disponibles H. Clínica e IgE extracto completo de cada una:

IgE Tri a 14 _____	IgE Trigo _____
IgE Mal d 3 _____	IgE Manzana _____
IgE Jug r 3 _____	IgE Nuez _____
IgE Pru p 3 _____	IgE Melocotón _____
IgE Ara h 9 _____	IgE Cacahuete _____
IgE Cor a 8 _____	IgE Avellana _____

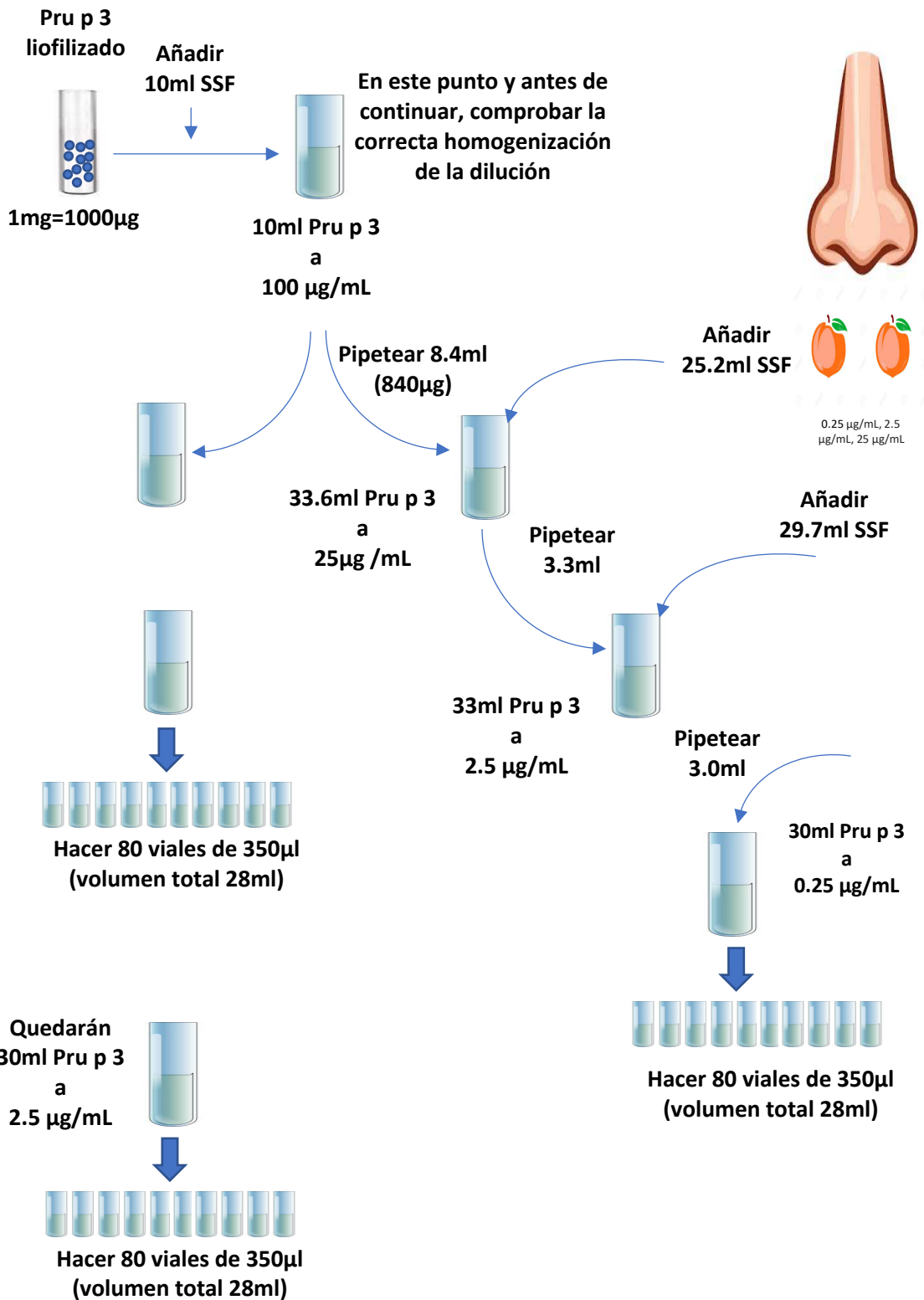
TEST IN VIVO:

Histamina (diámetro mayor en mm): _____ SSF (diámetro mayor en mm): _____

- Prick test inhalantes (nombre y diámetro mayor en mm):

- Otros prick test alimentos realizados (nombre y diámetro mayor en mm):

(iii) Figura 6. Preparación de nPru p 3 para las provocaciones nasales



SSF: suero salino fisiológico

5. Resultados

5.1 Objetivo 1

Se reclutaron 328 pacientes que, siguiendo las recomendaciones actuales de ENDA y nuestra propuesta específica para confirmar el diagnóstico de FDNIH, fueron diagnosticados finalmente de la siguiente manera: 97 NIUA (29.6%), 20 NECD (6.1%), 40 SNIUAA (12.2%), 42 NERD (12.8%) y 52 FDNIH (15.9%). De los 52 FDNIH, la sensibilización a LTP se observó en el 84.6% (44/52). En 77 casos (23.5%) se descartó tanto una FDNIH como una hipersensibilidad medicamentosa a los AINEs. 276 pacientes como grupo control, considerados como aquellos que no cumplieron con los criterios FDNIH.

67 pacientes fueron inicialmente considerados candidatos para ser diagnosticados de FDNIH, debido a la potencial implicación tanto del alimento como del AINE en la reacción. De todos estos pacientes, 15 casos fueron descartados por la presencia de una prueba positiva (prueba intraepidérmica o prueba de exposición oral) con el AINE implicado en la reacción. 14 pacientes (93.3%) estaban sensibilizados a LTP y 1 caso con gliadina (6.7%).

Los datos demográficos obtenidos destacan que los pacientes con diagnóstico de FDNIH eran significativamente más jóvenes que el grupo control ($P<0.001$), con una alta prevalencia de rinitis ($P<0.001$) y con una historia previa de AA ($P<0.001$), junto con una alta proporción de pacientes sensibilizados a pólenes ($P<0.001$), epitelio de animales ($P<0.013$) y alimentos ($P<0.001$) (ver tabla 5).

5.1.1. Alérgenos alimentarios desencadenantes de las reacciones en pacientes FDNIH

Se encontró una gran variedad de alimentos implicados en las reacciones, siendo los más frecuentemente implicados las frutas, los vegetales y el trigo.

La sensibilización a LTP se observó en 44 de los 52 casos (84.6%), el 75% estaban sensibilizados a 3 o más alimentos vegetales ricos en LTP, y 50% estaban sensibilizados al polen del platanero y/o artemisia, destacando la importancia que puede tener el síndrome LTP en FDNIH. 6 de los 52 casos (11%) estaban sensibilizados a gliadina.

En 16 de 52 casos (30.70%), el alimento no estaba claramente identificado por el paciente, 15 casos estaban sensibilizados a LTP y 5 de estos casos presentaron como manifestación clínica anafilaxia. Así mismo, estos pacientes en los que no estaba claramente identificado el alimento desencadenante de la reacción FDNIH, no introdujeron ningún cambio en su dieta y no presentaron nuevas reacciones en ausencia del AINE. De acuerdo con el criterio de inclusión, todos ellos presentaban una tolerancia posterior al AINE implicado en la reacción. Una descripción detallada de todos los casos con FDNIH, incluyendo los AINEs/alimento(s) implicados

en las reacciones, síntomas durante la reacción y el perfil de sensibilización individual de cada paciente se presenta en la Tabla 6.

Tabla 5. Características demográficas de los pacientes FDNIH

	FDNIH		Control		Valor-p
	n	%	n	%	
Total (n)	52	19	276	81	
Género, femenino	35	67.3	173	62.7	>0.05
Edad (años), media (DE)	42.31 (11)		47.95 (15)		<0.001
Rinitis	38	73.1	136	49.8	<0.001
Asma	10	19.2	68	24.9	>0.05
Diagnóstico previo de AA*	45	86.5	29	10.6	<0.001
Pacientes sensibilizados**	53	100	139	50.9	<0.001
Inhalantes, cualquiera	44	82.7	131	48	<0.001
Pólenes	35	67.3	74	27.4	<0.001
Ácaros de polvo doméstico	26	50	97	35.9	>0.05
Epitelio de animales	15	28.8	39	14.4	0.013
Hongos	5	9.6	12	4.4	>0.05
Alimentos, cualquiera	51	98.1	52	19	<0.001
Nº de alimentos positivos**, media (DE)	4.94 (3)		0.42 (1.3)		<0.001

FDNIH: alergia a alimentos inducida por AINE; DE: desviación estándar; AA: alergia a alimentos. *Por historia clínica compatible. **Sensibilización detectada mediante prueba intraepidérmica

Tabla 6. Características clínicas de los pacientes FDNIH: AINEs y alimentos implicados, síntomas y sensibilización IgE específica

Paciente	AINEs	No. de episodios	Síntomas	Alimentos implicados	"Efecto ON/OFF"	AA previa	PIE alimentos	PIE aeroalérgenos	sigE Pru p 3*	sigE Tri a 19*
1	Aspirina	1	An	ca	No	Si	Pru p 3, me, ca	ac, gr, ol	4.54	0.01
2	Aspirina	1	An	snack de mz	Si	Si	Pru p 3, mz, ga	ac	3.45	0.01
3	Ibuprofeno	1	An	ju, ma	No	Si	Pru p 3, ma	ac, gr, ol, eg	0.24	0.01
4	Ibuprofeno	1	U	tr, me	Si	Si	Pru p 3, av, kw, mz, ca, mo, me, tr	ar	12.90	0.01
5	Ibuprofeno	1	An	le	Si	Si	Pru p 3, kw, le, mz, ju	pl, cy	1.09	0.01
6	Dexketoprofeno	1	U	nd	nd	Si	Pru p 3, mz, ga, tr, Ca	ac	3.22	0.02
7	Ibuprofeno, aspirina	2	U	tri	Si	No	gm, gl	ac	0.02	0.75
8	Diclofenaco	1	An	nd	nd	Si	Pru p 3, mel, av, mz, mo	ar, pl, ol, cy	0.27	0.01
9	Ibuprofeno	1	U	ma	Si	Si	Pru p 3, ma	–	0.35	0.01
10	Aspirina	1	An	Verduras	No	Si	Pru p 3, mz, kw, av, mel, le	–	0.26 ISU	0 ISU
11	Naproxeno	4	AE	Verduras	No	Si	Pru p 3, mz, le	ac	nd	nd
12	Aspirina	1	AE	nd	nd	Si	Pru p 3, av, kw, mel, mz, tr, ca, mo	ac, ep, eg, gr, pj, ar, pl	17.7	nd
13	Ibuprofeno	2	U/AE	tr	Si	Si	gl, ak, gm	ac	nd	0.5
14	Ibuprofeno	4	AE	nd	nd	Si	Pru p 3, mel, av, ca, ju	–	4.44	0.01
15	Ibuprofeno	1	An	to, le	No	Si	Pru p 3, av, kw, mel, mz, ga, ca, ju, le, gm	ac, ol, eg, ep	5.3 ISU	0 ISU
16	Ibuprofeno, aspirina,	4	An	tr	Si	Si	GI	–	0.01	30.8
17	Ibuprofeno, pirazolona	2	U/AE	nd	nd	Si	Pru p 3, ca, kw	gr, pl, pj	0.29	0.01
18	Aspirina	1	U/AE	ga	Si	Si	Pru p 3, ga, ca, me, gm	ac	0.46	0.01
19	Ibuprofeno	1	U/AE	nu	Si	Si	Pru p 3, av, ca, unu, mel, so, ju	pl, pj, gr, eg, ep, ol, ar	0.6 ISU	0 ISU
20	Dexketoprofeno	1	U	nd	nd	Si	Pru p 3, tr, mz, av, ca, nu	ar	13	0.01

RESULTADOS

Paciente	AINEs	No. de episodios	Síntomas	Alimentos implicados	"Efecto ON/OFF"	AA previa	PIE alimentos	PIE aeroalérgenos	sigE Pru p 3*	sigE Tri a 19*
21	Aspirina	1	U	nd	nd	Si	Pru p 3, mel, kw, mz, ca, gm, jv	–	11.30	0.01
22	Ibuprofeno	2	AE	nd	nd	Si	Pru p 3, gm	ac, alt, ol	1.79	0.01
23	Ibuprofeno,	2	An	nd	nd	Si	Pru p 3, av, mel	ac, pj, pl	1.19	0.01
24	Ibuprofeno,	2	An	tr	Si	No	gl	ac, pl	0.01	0.41
25	Ibuprofeno	1	An	ce	No	No	Pru p 3, ca, ma, ce, mel, jv	ac, ep, eg	nd	nd
26	Ibuprofeno,	2	U	tr	Si	No	gl	ep, ol, pl, gr	0.01	3.73
27	Ibuprofeno	1	An	le, to	Si	Si	Pru p 3, aun nu, mel, ca, ga, le, to	ac, ep, eg, pl, pj	2.2 ISU	0 ISU
28	Ibuprofeno	1	An	le, to	No	Si	Pru p 3, pg, nu, to, len	pl, ar	0.3 ISU	0 ISU
29	Diclofenaco	1	An	le	Si	Si	Pru p 3, av, una, nu, mel, ga, me, le, to, tr, mo, len	ac, pl, ep, gr	1.9 ISU	0 ISU
30	Aspirina	1	An	mel	Si	No	Pru p 3, av, mel, ag, le, to, tr, gl, ba, mo, ak, nu, ca	-	nd	nd
31	Ibuprofeno	2	U/AE	ma	Si	No	Pru p 3, av, nu, ma, ca, jv	ep, eg, cy, ol, pl, gr	nd	nd
32	Ibuprofeno	1	U/AE	le	Si	No	Pru p 3, aun ca, nu, me, kw, mel, le, len	ep, pl	2.14	0.01
33	Ibuprofeno, aspirina	3	An	mel	No	Si	unu p 3, nu, ca, mel, ma, mo	pl, ar	12.5	0.01
34	Naproxeno	1	An	le, pla	Si	Si	Pru p 3, av, ca, mel, le	–	nd	nd
35	Ibuprofeno, aspirina	2	An	pasta sin gluten	No	Si	Pru p 3, av, ca, kw, mel, mz, tr, mo, gm, me, jv	ac, gr, ar, ol, pl, cy, alt, cla, eg, ep, ab, Pho d 2	16.30	0.02
36	Ibuprofeno	2	An	nd	nd	Si	3, av, kw, mel	ac, ar, pl, cy	>100	0.02

RESULTADOS

Paciente	AINEs	No. de episodios	Síntomas	Alimentos implicados	"Efecto ON/OFF"	AA previa	PIE alimentos	PIE aeroalérgenos	slgE Pru p 3*	slgE Tri a 19*
37	Ibuprofeno, aspirina	3	U/AE	nd	nd	Si	Pru p 3, ga, ca, mz	pj, cd, ep, Pho d 2	0.70	0.01
38	Ibuprofeno	3	U/AE	to	Si	Si	Pru p 3, av, kw, mel, ca, jv, le, mz, ga, to	ac, gr, pj, ar, ol, pl	23.8	0.05
39	Ibuprofeno	1	An	mel	Si	Si	Pru p 3, av, mel, mz, tr, gm, me	pl, cy, alt, Pho d 2	1.35	0.01
40	Ibuprofeno, aspirina	3	U/AE	le	Si	Si	Pru p 3, le, mel, mz, gm	pj, cd, ep, Pho d 2	0.70	0.01
41	Naproxeno	1	U	ga	Si	Si	Pru p 3, ga, kw, ca	-	0.01	0.01
42	Dexketoprofeno	1	An	nd	nd	Si	Pru p 3, mel, mz, ca, mo, ba	ac, gr, ar, ol, pl, eg, ep	9.89	0.01
43	Naproxeno	5	U/AE	nd	nd	Si	Pru p 3, av, kw, mel, tr, ca, mo, me, jv			
44	Diclofenaco	20	U/AE	tr	Si	Si	-	pj, ol, pl, cy	0.08	13.70
									nd	nd
45	Ibuprofeno	3	U	nd	nd	Si	Pru p 3, kw, mz, tr, ca, jv			
46	Dexketoprofeno	1	An	le	Si	Si	Pru p 3, av, mel, mz, ga, ca	ac, gr, ar, Pho d 2 mo, jv	14.20	0.01
47	Ibuprofeno	1	An	le, to	No	Si	Pru p 3, av, kw, le, mel, mz, tr, ga, ca, mo, me, jv	pj, pl, cy	11.10	0.01
48	Pirazolona	2	U	nd	nd	Si	Pru p 3	pj, pl, cd	2.13	0.09

Paciente	AINE	No. de episodios	Síntomas	Alimentos implicados	"Efecto ON/OFF"	AA previa	PIE alimentos	PIE aeroalérgenos	slgE Pru p 3*	slgE Tri a 19*
49	Ibuprofeno	1	An.	pla, ag	Si	Si	pla, ag	ac	0.01	0.01
50	Ibuprofeno	2	An	le, len,	Si	Si	Pru p 3, av, kw, le, mel, mz, ca, mo, gm, jv	ac, gr, pj, ol, cy, alt, cla, ep, Pho d 2	14.80	0.01
51	Ibuprofeno	3	An	nd	nd	Si	av, kw, mz, tr, ca,	ac, pj, cy, alt	0.01	0.01
52	Ibuprofeno	1	An	mel	No	Si	Pru p 3, av, kw, mel,	ac	21.70	0.01

AINEs, antiinflamatorios no esteroideos; AA, alergia alimentaria; PIE, prueba cutánea intraepidérmica; nd, no disponible. *Expresado en kUA/L a menos de que se exprese lo contrario.

Síntomas: AE: angioedema, An: anafilaxia, U: urticaria.

Aeroalérgenos: ab: abedul, ac: ácaros del polvo doméstico, alt: *Alternaria spp*, ar: artemisia, cla: *Cladosporium spp*, cy: cynodon, ep: epitelio de perro, eg: epitelio de gato, gr: gramíneas, ol: olivo, pj: parietaria judaica, pl: platanero."- " : negativo.

Alimentos: ag: aguacate, ak: anisakis, av: avellana, ba: bacalao, ca: cacahuete, ce: cereza, ga: garbanzo, gl: gliadina, gm: gamba, jv: judía verde, kw: kiwi, le: lechuga, len: lenteja, ma: manzana, mz: maíz, me: melón, mel: melocotón, mo: mostaza, nu: nuez, pg: pipas de girasol, pla: plátano, so: soja, to: tomate, tr: trigo.

5.1.2. Efecto ON/OFF

El “efecto ON/OFF” hace referencia a la situación en la cual el paciente tolera por completo un alimento cuando se ingiere solo, pero ante la presencia de un cofactor se produce una reacción sistémica.

Se dispuso de la información de los alimentos implicados en las reacciones en 36 de 52 pacientes. Entre ellos, 25 (69.4%) presentaron el “efecto ON/OFF”, mientras que el resto de los pacientes presentaron síntomas leves cuando ingerían el alimento implicado en la reacción en ausencia de cofactor. En el grupo con efecto ON/OFF, 18 casos (72%) estaban relacionados con alimentos vegetales relacionados con LTP. 6 casos (24%) se relacionaron con gliadina. En un caso, ni la gliadina ni la LTP fueron los alérgenos responsables. La mayoría de los pacientes alérgicos a LTP presentaron el *efecto ON/OFF* asociado a un alimento vegetal en concreto y presentaban síntomas leves (síndrome de alergia oral o urticaria de contacto) con otros alimentos vegetales.

5.1.3. AINEs implicados

Los ácidos propiónicos fueron los AINEs más frecuentemente implicados en las reacciones FDNIH (79%), seguidos de aspirina (25%). Los ácidos arilacéticos, pirazonas y paracetamol fueron de manera significativa los AINEs menos involucrados en las reacciones FDNIH en comparación con el grupo control ($P=0.018$, $P<0.001$ y $P=0.016$, respectivamente) (ver tabla 7).

Respecto al número de diferentes familias de AINEs involucradas en las reacciones por paciente, fue significativamente menor en FDNIH (1.25 ± 0.6), comparados con el grupo control (1.95 ± 1 ; $P<0.001$).

Tabla 7. AINEs implicados en las reacciones FDNIH

AINE	FDNIH (n = 52)	Control (n = 276)	valor-p
	n (%)	n (%)	
Ácidos propiónicos	41 (78.8)	192 (69.6)	>0.05
Aspirina	13 (25)	102 (37)	>0.05
Ácidos arilacéticos	5 (9.6)	67 (24.3)	0.018
Pirazolonas	2 (3.8)	85 (30.8)	<0.001
Paracetamol	1 (1.9)	37 (13.4)	0.016
Coxibs	0	13 (4.7)	>0.05
Oxicams	0	11 (4)	>0.05

AINEs, antiinflamatorios no esteroideos; FDNIH, alergia a alimentos inducida por AINE.

5.1.4. Síntomas

27/52 (52%) de los casos FDNIH se manifestaron como anafilaxia, mientras que en el grupo control la anafilaxia solo representó un 9.4% (26/276; $P < 0.001$). Estos episodios de anafilaxia fueron relacionados con LTP en 23 casos (85.2%), 2 casos (7.4%) con gliadina. Ningún paciente FDNIH presentó síntomas respiratorios aislados como única manifestación clínica (ver Tabla 7). Por otro lado, la manifestación clínica más frecuente del grupo control fue la cutánea (203/276, 73.5%), seguido de síntomas respiratorios (47/276, 17%). La anafilaxia en el grupo control (26/276, 9.4%) se presentó principalmente en la hipersensibilidad medicamentosa a un solo AINE (15 casos), seguida de hipersensibilidad cruzada a los AINEs (10 casos). Una reacción se clasificó finalmente como anafilaxia idiopática; ya que ni el AINE ni cualquier otro factor se identificó como un desencadenante de la sintomatología.

5.1.5. Intervalos de tiempo

El análisis de los intervalos de tiempo entre la toma del AINE, el último alimento ingerido y el inicio de la reacción se muestran en la Tabla 8.

En la mayoría de los casos de FDNIH, la administración del AINE se situó en las primeras 2 horas antes del inicio de sintomatología (81%). El tiempo medio fue de 92 ± 75 minutos, sin diferencias respecto al grupo control (94 ± 135 minutos). Sin embargo, estratificando los diferentes intervalos de tiempo se demostró que la mayoría de las reacciones del grupo control aparecían en los primeros 30 minutos después de la toma del medicamento (52.2% vs 27.7%; $P = 0.002$). En lo que respecta al tiempo entre la ingesta del último alimento ingerido y el inicio de la reacción, el tiempo medio fue de 110 ± 83 minutos para FDNIH, mientras que en el grupo control fue más

del doble (248 ± 211 minutos; $P<0.001$); la mayoría de las reacciones FDNIH se presentaban en las primeras 2 horas después del último alimento ingerido. En la mayoría de los casos FDNIH, la última ingesta alimentaria se produjo antes de la toma del AINE (82%), muy similar a lo presentado por el grupo control (86%). La última ingesta alimentaria y la toma del AINE estaban muy cerca uno del otro en los casos de FDNIH, con un tiempo medio de 14 ± 77 minutos. De hecho, ambos eventos fueron separados por un intervalo de 2 horas o menos en el 97.7% de los casos de FDNIH. Este hallazgo claramente contrasta con lo encontrado en el grupo control, en los cuales el tiempo medio entre la última ingesta alimentaria y la toma del AINE fue de 132 ± 200 minutos ($P<0.001$).

Tabla 8. Intervalos de tiempo entre la toma del AINE, ingesta de algún alimento y el inicio de la reacción en pacientes FDNIH

A. Intervalos entre la toma del AINE y el inicio de la reacción

	FDNIH	Control	P
Media\pmDE, minutos	93 \pm 76	94 \pm 135	>0.05
≤ 30 minutos; n (%)	13 (27.7)	107 (52.2)	0.002
31-60 minutos; n (%)	12 (25.5)	37 (18)	>0.05
61-120 minutos; n (%)	13 (27.7)	25 (12.2)	0.008
121-180 minutos; n (%)	5 (10.6)	11 (5.4)	>0.05
181-240 minutos; n (%)	1 (2.1)	8 (3.9)	>0.05
241-300 minutos; n (%)	3 (6.4)	1 (0.5)	0.021
301-360 minutos; n (%)	0	2 (1)	>0.05
≥ 360 minutos; n (%)	0	14 (6.8)	>0.05

FDNIH: alergia a alimentos inducida por AINE; DE: desviación estándar.

B. Intervalos entre la última ingesta de un alimento y el inicio de la reacción

	FDNIH	Control	P
Media\pmDE, minutos	110 \pm 83	248 \pm 211	<0.001
≤ 30 minutos; n (%)	11 (24.4)	16 (14)	>0.05
31-60 minutos; n (%)	7 (15.6)	21 (18.4)	>0.05
61-120 minutos; n (%)	15 (33.3)	18 (15.8)	0.014
121-180 minutos; n (%)	8 (17.8)	10 (8.8)	>0.05
181-240 minutos; n (%)	1 (2.2)	3 (2.6)	>0.05

241-300 minutos; n (%)	2 (4.4)	5 (4.4)	>0.05
301-360 minutos; n (%)	1 (2.2)	5 (4.4)	>0.05
≥360 minutos; n (%)	nd	36 (31.6)	<0.001

FDNIH: alergia a alimentos inducida por AINE; DE: desviación estándar; nd: no disponible.

C. Intervalos entre la última ingesta de un alimento y la toma del AINE

	FDNIH	Control	P
Media±DE, minutos	14±77	132±200	<0.001
≤30 minutos; n (%)	32 (72.7)	51 (44.7)	0.002
31-60 minutos; n (%)	4 (9.1)	10 (8.8)	>0.05
61-120 minutos; n (%)	7 (15.9)	18 (15.8)	>0.05
121-180 minutos; n (%)	0	4 (3.5)	>0.05
181-240 minutos; n (%)	0	4 (3.5)	>0.05
241-300 minutos; n (%)	1 (2.3)	5 (4.4)	>0.05
301-360 minutos; n (%)	0	2 (1.8)	>0.05
≥360 minutos; n (%)	0	20 (17.5)	0.003

FDNIH: alergia a alimentos inducida por AINE; DE: desviación estándar.

5.1.6. Factores de riesgo relacionados con la FDNIH: análisis de regresión logística univariante y multivariante

En el análisis de regresión logística univariante (Tabla 9A) se encontró una fuerte asociación entre la sensibilización a LTP y presentar una FDNIH (OR=83.8; P<0.001). Otros factores de riesgo fueron la existencia de una sensibilización a pólenes y haber presentado una reacción anafiláctica. Sin embargo, el hecho de presentar una reacción cutánea o que el AINE implicado en la reacción fuera del grupo arilacético o una pirazolona, se consideraron como factores protectores (Tabla 9A). El resto de las variables analizadas no presentaron una relación significativa.

En el análisis de regresión logística multivariante (Tabla 9B), la sensibilización a los pólenes y la implicación de los arilacéticos en la reacción perdieron significación estadística, siendo excluidos al utilizar como procedimiento el método automático por pasos hacia adelante. El tener una reacción anafiláctica, puede implicar tener una reacción cutánea, debido a esto, decidimos dejar únicamente a la reacción anafiláctica en el análisis multivariante.

Utilizando 4 variables, sensibilización a LTP y gliadina, anafilaxia y AINE implicado en la reacción diferente a una pirazolona, nuestro modelo fue capaz de clasificar correctamente el grupo de FDNIH al 95.3% de los pacientes, con una **sensibilidad del 92%** y **especificidad del 96%**. A resaltar que en el 85% de los casos la LTP fue el alérgeno responsable.

Tabla 9. Análisis de regresión logística univariante (A) y multivariante (B) para el diagnóstico de FDNIH cuando se sospecha de una reacción de hipersensibilidad aguda a los AINEs (n=328)

A. Análisis de regresión logística univariante

Factores de riesgo	Odds ratio	IC 95%	Valor-p*
Sensibilización LTP	83.8	34-206	<0.001
Reacción anafiláctica	10.4	5.2-20.5	<0.001
Sensibilización a pólenes	5.5	2.9-10.3	<0.001
Reacción cutánea	0.33	0.19-0.61	<0.001
Grupo de AINE implicado:			
- Arilacéticos	0.33	0.13-0.87	0.025
- Pirazolonas	0.09	0.02-0.38	0.001

*Test de Wald. Solo se presentan los valores de p<0.05.

FDNIH: alergia a alimentos inducida por AINE; IC: intervalo de confianza;

LTP: proteína de transferencia de lípido; AINE: antiinflamatorio no esteroideo.

B. Análisis de regresión logística multivariante

Factores de riesgo	Odds ratio ajustado	IC 95%	Valor-p*
Sensibilización LTP	205	51-819.8	<0.001
Sensibilización gliadina	117	15-917	<0.001
Reacción anafiláctica	8.54	1.9-37.3	0.004
Grupo de AINE implicado:			
- Pirazolonas	0.034	0.004-0.28	0.002

*Test de Wald. Los factores de riesgo relacionados con FDNIH en el análisis de regresión logística univariante (p<0.05) se incluyen en el análisis multivariante. Utilizamos para el modelo de selección el procedimiento de método automático por pasos hacia adelante. Como la anafilaxia y la reacción cutánea eran exclusivas una de la otra, se decidió abstraer la reacción cutánea del modelo de selección.

FDNIH: alergia a alimentos inducida por AINE; IC: intervalo de confianza;

LTP: proteína de transferencia de lípido; AINE: antiinflamatorio no esteroideo.

5.2. Objetivo 2

5.2.1. Datos demográficos

29 pacientes fueron reclutados. 10 pacientes del grupo control, representado como *Grupo C* (controles sanos no atópicos) y 29 pacientes clasificados de la siguiente forma:

- Grupo A (10 pacientes):** Pacientes reclutados del objetivo 1: FDNIH asociado a LTP. Pacientes que requieren del AINE para desarrollar la alergia a melocotón por sensibilización a Pru p 3.
- Grupo B (10 pacientes):** Pacientes con alergia al melocotón con sensibilización a Pru p 3 (urticaria generalizada o anafilaxia) independiente de cofactor.
- Grupo X (9 pacientes):** Pacientes con sensibilización asintomática a Pru p 3 o con urticaria de contacto con piel de melocotón. Todos con tolerancia a pulpa de melocotón.

Los datos demográficos de los sujetos incluidos en el estudio pueden verse en la tabla 10.

Tabla 10. Características de la población y criterios de inclusión en el estudio

	Controles sanos	Grupo A	Grupo B	Grupo X	Valor-p
No. pacientes	10	10	10	9	
Edad (años), media [rango]	36.3 [27-50]	40.51 [29-52]	43.95 [30-56]	36.38 [18-73]	ns
Género, femenino	9	7	4	6	ns
PIE Pru p 3 (mm), media [rango]	0	11.12 [4-21]	9.94 [6-20]	7.53 [4-13]	ns
PIE piel de melocotón (mm), media [rango]	0	10.03 [3-31]	11.30 [8-20]	6.20 [3-12]	ns
IgE total (kU/L) (media [rango])	nd	81.40 [15.32-254]	134.20 [33.5-1103]	137.26 [13.2-1596]	0.005 (A vs X)
IgE específica Pru p 3 (kU/L) (media [rango])	nd	3.62 [0.1-77.7]	8.32 [1.3-34.4]	1.62 [0.1-30.8]	ns
IgE específica melocotón (kU/L) (media [rango])	nd	2.84 [0.1-60.3]	5.08 [1.1-19.1]	1.11 [0.1-26.3]	ns
Ratio (kU/L) IgE total/IgE Pru p 3, (media [rango])	nd	28.42 [4.26-757]	15.63 [3.62-114.61]	177.04 [4.52-814]	0.012 (B vs X)

PIE: prueba cutánea intraepidérmica, nd: no disponible; ns: sin significación estadística

5.2.2. Características clínicas generales y específicas de cada grupo (A, B y X)

Grupo A: 2 pacientes (20%) presentan antecedente familiar de AA por LTP. 1/10 (10%) paciente con UG, 6/10 (60%) con An y 3/10 (30%) con scAn. Respecto a la sintomatología o evitación con melocotón: 6/10 (60%) pacientes presentan urticaria de contacto con piel de melocotón, 6/10 (60%) SAO con piel y pulpa de melocotón y 1/10 (10%) UG. Según los cofactores implicados, a pesar de que el criterio de inclusión haya sido la presencia del AINE como único cofactor, por problemas en el reclutamiento se decidió reclutar 3/10 (30%) pacientes que tenían al ejercicio como cofactor y sin problemas con la toma de AINEs. Respecto al AINE implicado: 2/7 pacientes (28,57%) con aspirina, 2 (28,57%) con naproxeno, 2 (28,57%) con ibuprofeno y 1 (14,28%) con la combinación de paracetamol y metamizol. A destacar que 4/10 (40%) pacientes también presentaban reacción sistémica en ausencia de cofactor con otros alimentos vegetales, debido a las dificultades en el reclutamiento se decidió ser más flexibles en la inclusión de pacientes.

Grupo B: 1 paciente (10%) presenta antecedente familiar de AA por LTP. 3/10 pacientes (30%) con UG, 6/10 (60%) con An y 1/10 (10%) con scAn. 3/10 pacientes (30%) con antecedente de UC con piel de melocotón.

Grupo X: 1 paciente (11.9%) presenta antecedente familiar de AA por LTP. 5/9 pacientes (55,5%) presentan urticaria de contacto (UC) con piel de melocotón, 4/9 (44,44%) sin ninguna sintomatología asociada a la ingesta o contacto con piel de melocotón, tolerando la ingesta de piel y pulpa de melocotón. El total de los pacientes 9 (100%) toleran pulpa de melocotón. 1/9 (11,11%) paciente con antecedente de Esofagitis eosinofílica sensibilizado a LTP, el cual tolera piel y pulpa de melocotón.

La mayoría presentaron síntomas con otros alimentos vegetales: grupo A 5 de 10 pacientes (50%) y B 8 de 10 pacientes (80%) tuvieron síntomas con más de 3 alimentos vegetales además del melocotón, característica no presentada en el grupo X.

De acuerdo con la sintomatología respiratoria asociada, los pacientes en su conjunto (grupo A, B y X) presentaban rinitis en 19/29 (65.51%) y asma en 8/29 (27.58%), estos últimos todos ellos con rinitis asociada

En la Tabla 11, se especifican las principales características clínicas y perfil de sensibilización individuales de cada uno de los pacientes de los grupos A, B y X.

Tabla 11. Características clínicas y perfil de sensibilización individuales de los pacientes

Paciente	Reacción con melocotón	Síntomas con cofactor	Polinosis SI/NO	Asma SI/NO	IgE total*	slgE Pru p 3*	slgE melocotón*	Sensibilización alérgenos respiratorios	Sensibilización a alimentos + síntomas
Grupo A									
1	UC	Aspirina An	SI	NO	48.2	11.3	11.7	platanero	kiwi, maíz
2	SAO	Aspirina An	NO	NO	45.6	1.06	0.84	plátano de sombra, gramíneas, artemisia, ácaros	avellana, kiwi, maíz, cacahuete, mostaza, manzana, nuez, lechuga
3	UC, UG	Paracetamol, metamizol UG	NO	NO	125	11.5	10.3	plátano de sombra, olivo, artemisia, ácaros	avellana (SAO, UG), kiwi, maíz, trigo, cacahuete (An), mostaza, manzana (SAO), nuez (SAO), lechuga (GI)
4	SAO	Naproxeno scAn	NO	NO	75.7	0.1	0.06	plátano de sombra, ciprés, artemisia, parietaria	mostaza, pulpa melocotón (SAO)
5	SAO	Ibuprofeno scAn	NO	NO	35.2	2.93	1.02	ácaros, artemisia	avellana, maíz, cacahuete, mostaza, manzana piel, judía verde
6	UC	Ibuprofeno scAn	SI	SI	170	4.13	3.55	ácaros, gramíneas, artemisia, olivo, plátano de sombra, ciprés, epitelio de perro	avellana, kiwi, maíz
7	SAO, UC	Ejercicio An	SI	SI	254	77.7	60.3	artemisia, plátano de sombra, parietaria	avellana (SAO), maíz (SAO), cacahuete (SAO, UG), mostaza (SAO, UC), manzana piel (SAO), judía verde, kiwi (UC), alcachofa, cebolla (SAO), nuez (SAO)
8	UC	Ejercicio An	SI	NO	200	6.44	4.7	artemisia, plátano de sombra, ciprés	Avellana (An), kiwi, maíz, cacahuete, mostaza
9	SAO, UC	Naproxeno An	SI	SI	132	2.66	2.07	ácaros, gramíneas, parietaria, artemisia, plátano de sombra, hongos de la humedad	avellana (SAO), kiwi (UC), maíz, garbanzo, mostaza (SAO), manzana piel, judía verde, cacahuete (UG), nuez (UG)
10	SAO	Ejercicio An	SI	SI	15.32	1.79	2.7	plátano de sombra, artemisia, ácaros	maíz

UC: urticaria de contacto, UG: urticaria generalizada, SAO: síndrome de alergia oral, GI: síntomas gastrointestinales, An: anafilaxia, scAn: shock anafiláctico, PIE: pruebas cutáneas intraepidérmicas. *Expresado en kU_A/L.

RESULTADOS

Paciente	Reacción con melocotón	Polinosis SI/NO	Asma	IgE total*	sIgE Pru p 3*	sIgE melocotón*	PIE aeroalérgenos estándar	PIE alimentos vegetales estándar + síntomas
1	An	SI	NO	134	17.9	1.72	platanero, olivo, gramíneas	manzana
2	An, UC	SI	NO	101	7.96	5.13	plátano de sombra, parietaria, artemisia, epitelio de animales	avellana (SAO), maíz (GI), judía verde (GI), cacahuete (SAO), nuez (SAO), lechuga (GI)
3	An	NO	NO	178	5.8	4.54	plátano de sombra, gramíneas, artemisia, ácaros	avellana (An), kiwi, maíz, garbanzo, mostaza (SAO), manzana piel, cacahuete (SAO, An), nuez (SAO), lechuga
4	UG, UC	SI	NO	135	4.38	3.93	-	avellana (GI), kiwi, maíz (UG), trigo, cacahuete (scAn), mostaza, judía verde, lechuga (scAn), nuez (An), melón (UC), manzana piel
5	An	NO	NO	33,5	9.24	7.09	-	avellana (SAO), maíz, cacahuete (SAO), manzana piel
6	An	SI	NO	1103	34.4	19.1	ácaros, artemisia, plátano de sombra	maíz, cacahuete
7	scAn, UC	NO	NO	205	24.4	18.6	ácaros, artemisia, plátano de sombra	avellana (SAO), kiwi, maíz, cacahuete (SAO), mostaza (SAO), manzana piel (GI), judía verde
8	UG	SI	SI	106	18	15.5	gramíneas, artemisia, olivo, plátano de sombra, epitelio de animales	avellana, kiwi, maíz (SAO), cacahuete (An), mostaza (SAO), manzana piel (SAO), judía verde, nuez (SAO), lechuga
9	UG	NO	NO	48,7	2.43	1.7	platanero	avellana, kiwi (UC), maíz (3), manzana piel
10	An	SI	NO	149	1.3	1.1	ácaros, gramíneas, plátano de sombra, abedul	avellana (An), maíz, judía verde

UC: urticaria de contacto; UG: urticaria generalizada, SAO: síndrome de alergia oral, GI: síntomas gastrointestinales, An: anafilaxia, scAn: shock anafiláctico, PIE: pruebas cutáneas intraepidérmicas."- "negativo. *Expresado en kUA/L.

RESULTADOS

Paciente	Reacción con melocotón	Tolerancia melocotón piel/ APP EoE	Polinosis SI/NO	Asma	IgE total*	slgE Pru p 3*	slgE melocotón*	PIE aeroalérgenos estándar	PIE alimentos vegetales estándar + síntomas
					Grupo X				
1	-	SI	SI	NO	229	1	0.66	Ciprés, plátano de sombra, olivo, gramíneas, epitelio de animales	manzana piel
2	-	SI EoE	SI	NO	216	0,53	0.44	ciprés, olivo, gramíneas, artemisia, ácaros, epitelio de animales	kiwi, mostaza
3	UC	NO	SI	NO	18.8	1.25	0.61	plátano de sombra, ácaros	avellana, cacahuete, nuez
4	UC	NO	SI	SI	228	1.64	2.35	plátano de sombra, ácaros	maíz, judía verde, cacahuete, nuez, pulpa de melocotón
5	UC	NO	SI	NO	366	1.22	1.16	plátano de sombra, artemisia, ácaros, epitelio de animales, látex	avellana, kiwi, maíz, trigo, garbanzo, manzana piel, judía verde, cacahuete, nuez (SAO), lechuga
6	UC	NO	NO	NO	81.4	0.1	0.08	ácaros, epitelio de animales	-
7	-	SI	SI	SI	1596	30.8	25.4	plátano de sombra, olivo, parietaria, ácaros, epitelio de animales, profilina	avellana (GI), cacahuete, maíz, mostaza, melón, judía verde, pulpa melocotón,
8	-	SI	SI	SI	130	28.7	26.3	ácaros, epitelio de animales, olivo, plátano de sombra, ciprés, gramíneas, artemisia	avellana, kiwi, maíz, mostaza, manzana piel, melón (SAO), judía verde, cacahuete, nuez
9	UC	NO	NO	SI	13.2	0.66	0.1	ácaros, plátano de sombra	-

UC: urticaria de contacto, APP: antecedente personal patológico, EoE: esofagitis eosinofílica, UG: urticaria generalizada, SAO: síndrome de alergia oral, GI: síntomas gastrointestinales, An: anafilaxia, scAn: shock anafiláctico, PIE: pruebas cutáneas intraepidérmicas.”- “negativo. *Expresado en kU_A/L.

Perfil de sensibilización (aeroalérgenos y alimentos vegetales en pruebas cutáneas intraepidérmicas e IgE específica a alimentos vegetales ricos en LTP)

La mayoría estaban sensibilizados al polen de plátano de sombra (24/29 (82.75%)), seguido de los ácaros del polvo doméstico (18/29 (62.06%)) y del polen de artemisia (17/29) pacientes (58.62%). En la Figura 7 se muestra el porcentaje de sensibilización de cada grupo.

Así mismo, todos los pacientes en su conjunto estaban sensibilizados, por orden de frecuencia, al maíz (22/29 (75.86%)), seguido de la avellana y cacahuete (18/29 (62.06%) en ambos casos) y en tercer lugar a mostaza y kiwi (14/29 (48.27%), en ambos casos). En la Figura 8 se muestra el porcentaje de sensibilización en cada grupo.

Según la sensibilización en IgE específica en ImmunoCAP con alimentos vegetales ricos en LTP y extracto completo disponibles en nuestro Hospital (media [rango]) kU_A/L , en todos los pacientes del grupo A, B y X; se encontraron diferencias estadísticamente significativas que diferencian grupo B vs grupo X en sIgE; manzana, Mal d 3, cacahuete y Ara h 9. En la Tabla 12 se muestra el perfil de sensibilización a LTP de cada grupo.

Figura 7. Porcentaje de sensibilización a aeroalérgenos

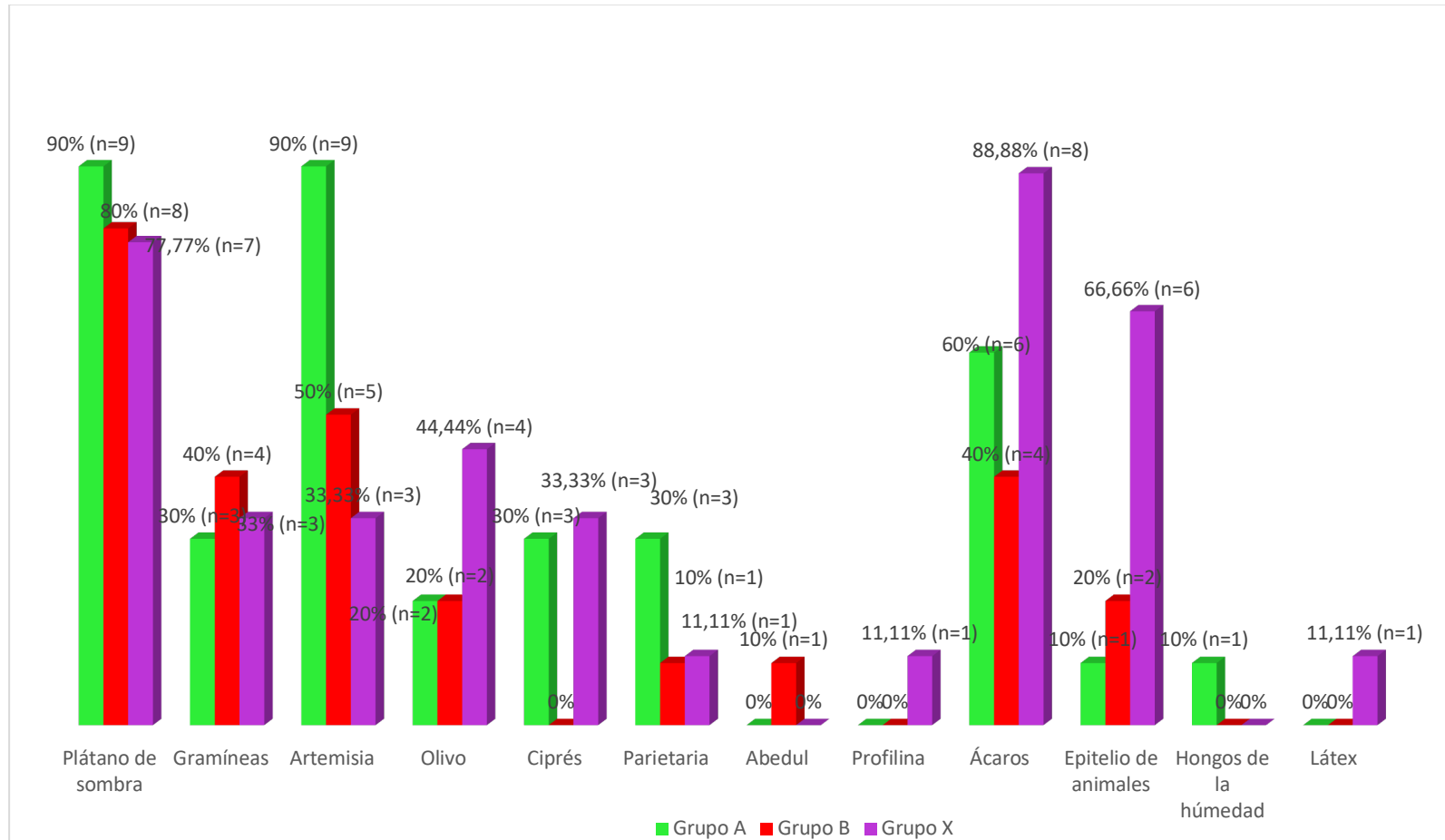


Figura 8. Porcentaje de sensibilización a alimentos vegetales

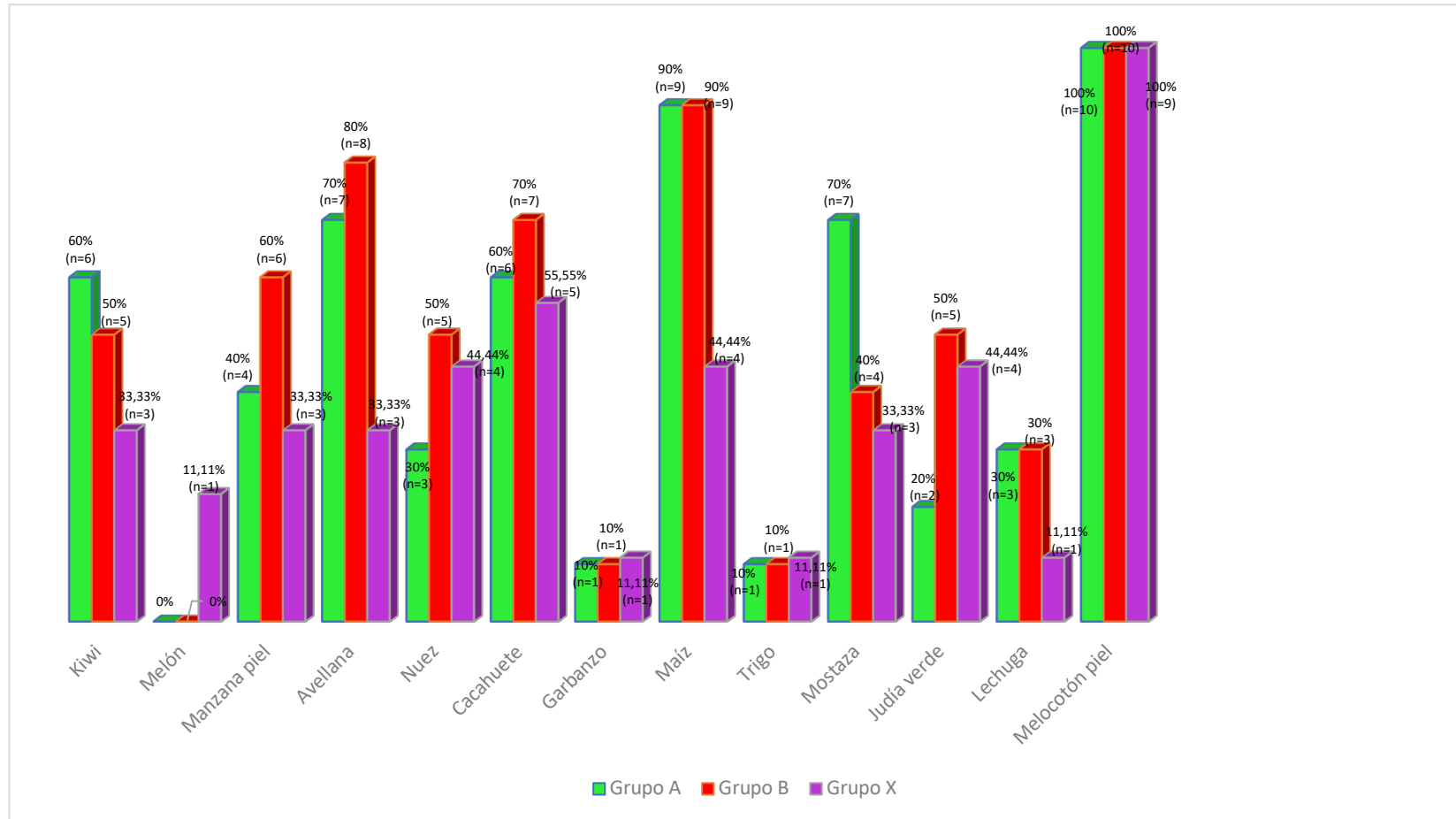


Tabla 12. Perfil de sensibilización a LTP

Extracto	Grupo A (n=10)	Grupo B (n=10)	Grupo X (n=9)	Valor-p
IgE Melocotón	2.84±18.20	5.08±7.11	1.11±11.08	ns
IgE Pru p 3	3.62±37.08	8.32 ±10.79	1.62±12.73	ns
IgE Trigo	0.30±1.56	0.16 ±1.17	0.27±0.87	ns
IgE Tri a 14	1.67±3.55	1.72±3.85	0.87±1.54	ns
IgE Manzana	2.11±12.78	2.96±4.62	0.64±10.59	0.036 (B vs X)
IgE Mal d 3	2.69±17.88	4.48±8.64	1.09±11.61	0.036 (B vs X)
IgE Cacahuete	1.33±14.46	1.08±4.32	3.49±6.68	0.038 (B vs X)
IgE Ara h 9	8.96±17.82	1.91±5.97	6.07±11.31	0.038 (B vs X)
IgE Nuez	8.57±16.95	1.60±8.62	5.86±11.27	ns
IgE Jug r 3	7.34±14.62	1.86±1.70	0.55±9.97	ns
IgE Avellana	4.82±9.25	1.55±4.04	3.13±6.27	ns
IgE Cor a 8	4.46±8.02	1.98±9.83	4.24±8.43	ns

Determinaciones realizadas mediante ImmunoCAP® (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suecia).

Valores expresados como media ± desviación estándar en kUA/L; *n*: número de pacientes; *ns*: sin significación estadística.

5.2.3. Prueba de provocación nasal con Pru p 3 (PPNp):

Todos los pacientes fueron sometidos la PPNp con las 3 concentraciones de estudio (0.25, 2.5 y 25 µg/mL), excepto en los primeros 2 pacientes del grupo B en los que concentración de 2.5 µg/mL indujo una disminución del VNM (2-6cm) en la RAc de ≥25%, hecho que la convertía en una prueba positiva. Posteriormente con el resto de los pacientes se decidió llegar hasta la dosis máxima de 25 µg/mL a pesar de tener una disminución de ≥25% con respecto a la concentración anterior.

En el grupo control (individuos sanos), como ya se comentó en la parte metodológica, se decidió realizar la PPNp a la máxima concentración de 25 µg/mL.

5.2.3.1. Obstrucción nasal medida mediante rinometría acústica

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos utilizando las concentraciones de 2.5 µg/mL y 25 µg/mL, pero no la de 0.25 µg/mL. Ver figura 9.

Con la concentración de 2.5 µg/mL observamos diferencias significativas en el dpVNM2-6 entre pacientes del grupo B y grupo X ($P=0.009$). A la máxima concentración de 25 µg/mL, observamos diferencias significativas en el dpVNM2-6 entre los controles sanos y los grupos A, B y X ($P<0.0001$), así como entre pacientes del grupo B y el grupo X ($P=0.028$).

Si analizamos de forma conjunta el grupo A y B, estableciendo éste como el grupo alérgico (A+B), seguimos encontrando diferencias estadísticamente significativas en las mismas concentraciones 2.5 y 25 µg/mL. Con la concentración de 2.5 µg/mL, observamos diferencias significativas entre el grupo A+B y el grupo X ($P=0.045$). A la máxima concentración de 25 µg/mL se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los controles sanos y el grupo A+B ($P<0.0001$), controles sanos y grupo X ($P<0.0001$), y finalmente entre el grupo A+B vs grupo X ($P=0.018$). En la Figura 9, se muestran los cambios en la RAc de los 4 grupos en las 3 concentraciones.

A la concentración de 25 µg/mL el análisis de Chi-cuadrado de Pearson no presentó un resultado estadísticamente significativo ni en el análisis de grupo A, B y X ($P=0.067$), ni grupo A+B y X ($P=0.079$), por lo que no fue posible calcular la sensibilidad y especificidad de la prueba.

En la Tabla 13 y Tabla 14 se muestran detalladamente los resultados de la dpVNM2-6 a 25 µg/mL. En la Tabla 15 se muestra en porcentaje los valores absolutos del volumen nasal medio (2-6cm) presentados en cada grupo de estudio, es decir, sin el análisis estadístico realizado respecto al control negativo de la prueba (SSF). Se presentan los valores basales, del SSF y de las 3 concentraciones realizadas en la PPNp.

Finalmente se estudio la correlación entre los síntomas de los pacientes del grupo A y B (urticaria, anafilaxia y shock anafiláctico) y el grado de obstrucción nasal mediante la dpVNM2-6 en la RAc en las 3 concentraciones, pero no se observó ninguna relación significativa. Siendo el valor-p de ($P=0.732$, $P=0.298$, $P=0.504$), según la concentración de 0.25, 2.5 y 25 µg/mL respectivamente de los grupos respecto al inducido por el control negativo (suero salino).

Tabla 13. Cambios en el VNM2-6 medido mediante RAc

Grupo Pru p 3 25 µg/mL	Media	DE	IC 95%	Valor-p
Grupo control	+10.58%	18.95	-2.97 a 24.14	0.001
Grupo A	-22.55%	19.02	-36.16 a -8.95	0.001
Grupo B	-26.97%	14.52	5.13 a -39.12	0.001
Grupo A+B	-24.52%	16.84	-32.89 a -16.15	0.000
Grupo X	-12.79%	11.93	-21.97 a -3.62	0.001

DE: desviación estándar; IC 95%: intervalo de confianza 95%; VNM: volumen nasal medio.

Valor-p corresponde a la disminución del porcentaje del VNM2-6 de los grupos respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino fisiológico). Los valores-p con significación estadística se expresan en negrita.

Tabla 14. Diferencias en el VNM2-6 inducidas por la concentración de Pru p 3 de 25 µg/mL entre los grupos de estudio

Grupo Pru p 3 25 µg/mL	Media	DE	IC 95%	Valor-p
Grupo control vs Grupo B	-6.09%	4.92	24.76 a 50.35	<0.0001
Grupo control vs Grupo A	-5.98%	4.63	21.07 a 45.20	<0.0001
Grupo control vs Grupo X	-0.49%	4.76	10.98 a 35.77	<0.0001
Grupo B vs Grupo A	-4.42%	4.92	-17.21 a 8.37	0.805
Grupo B vs Grupo X	-14.18%	5.04	-27.29 a -1.07	0.028
Grupo A vs Grupo X	-9.76%	4.76	-22.15 a 2.63	0.175
Grupo A+B vs Grupo X	-11.72%	4.26	-21.83 a -1.61	0.018

DE: desviación estándar; IC 95%: intervalo de confianza 95%; VNM: volumen nasal medio.

Valor-p corresponde a la disminución del porcentaje del VNM2-6 de los grupos respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino fisiológico). Los valores-p con significación estadística se expresan en negrita.

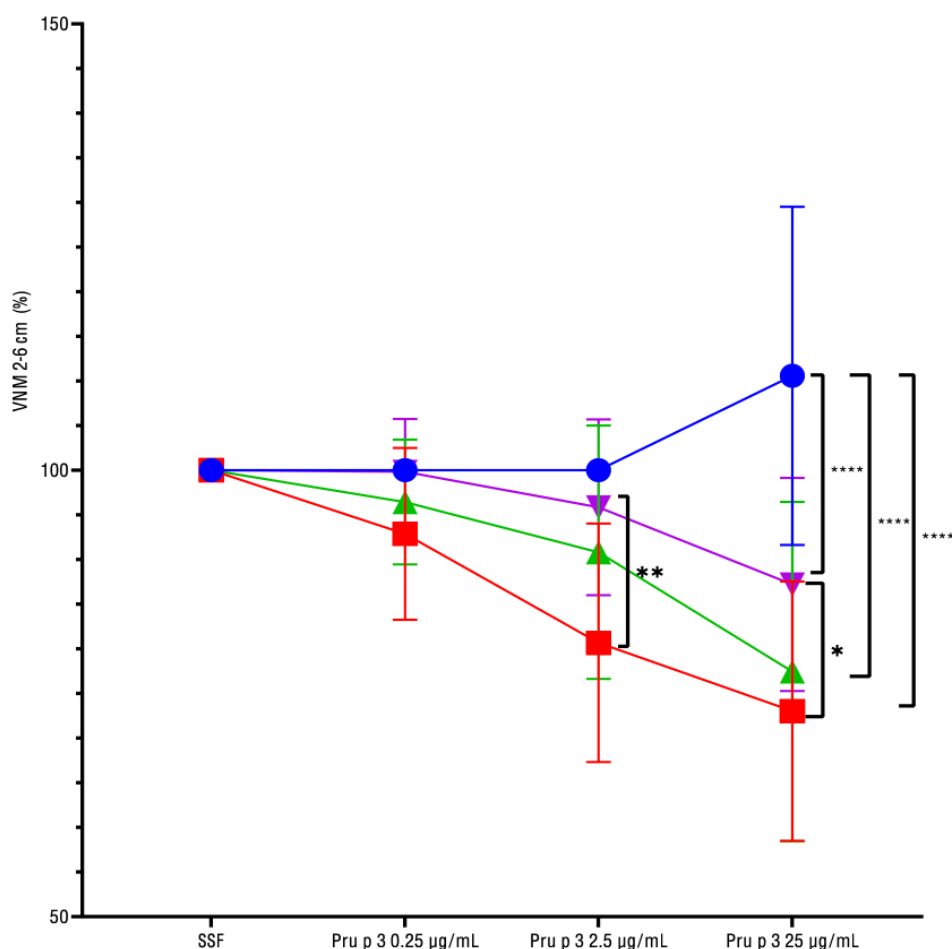
Tabla 15. Cambios en el VNM2-6 medido mediante RAc de los grupos de estudio en la PPNp

% Volumen nasal medio (2-6cm)	Basal media±DE	SSF media±DE	Pru p 3 0.25 µg/mL media±DE	Pru p 3 2.5 µg/mL media±DE	Pru p 3 25 µg/mL media±DE
Grupo C	104.49±5.37	100±0	NR	NR	110.58±18.94
Grupo A	98.64±5.54	100±0	96.43±6.98	90.81±14.18	77.44±19.02
Grupo B	98.53±10.32	100±0	92.88±9.62	80.67±13.35	73.02±14.52
Grupo A+B	98.58±8.06	100±0	94.66±8.38	85.74±14.38	75.48±16.83
Grupo X	104.13±7.04	100±0	99.82±5.91	95.85±9.83	87.20±11.93

DE: desviación estándar; NR: no realizado. SSF: suero salino fisiológico.

Se expresan en porcentaje los valores absolutos del volumen nasal medio de cada grupo de estudio con medias +/- desviación estándar. Al control negativo (SSF), se le da en porcentaje el valor del 100%.

Figura 9. Disminución del volumen nasal entre los centímetros 2-6 (dpVNM2-6)



La disminución del volumen nasal medio se expresa en porcentaje respecto al volumen post-SSF con medias +/- desviación estándar. El suero salino fisiológico representa el 100%. VNM: volumen nasal medio, SSF: suero salino fisiológico. Controles sanos (círculo azul), grupo A (triángulo verde), grupo B (cuadrado rojo), grupo X (triángulo invertido violeta). * $P<0.05$; ** $P<0.01$; **** $P<0.0001$

5.2.3.2. Síntomas nasales medidos mediante la escala visual analógica (EVA)

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas únicamente con la concentración de 2.5 y 25 µg/mL. Ver figura 10. La concentración de 2.5 µg/mL fue capaz de diferenciar grupo B de los pacientes del grupo X ($P=0.005$). La concentración de 25 µg/mL fue capaz de diferenciar los controles sanos del grupo A, y los controles sanos del grupo B, en ambos casos con una $P<0.00001$. Así mismo, se pudo diferenciar controles sanos del grupo X ($P=0.039$) y el grupo A del grupo B ($P=0.0002$) y el grupo B del grupo X ($P<0.0001$).

Si analizamos de forma conjunta el grupo A y B, estableciendo este grupo como el grupo alérgico (A+B) y quedándonos con 3 grupos (C, A+B y X), también encontramos diferencias estadísticamente significativas a las concentraciones de 2.5 y 25 µg/mL. La concentración de 2.5 µg/mL fue capaz de diferenciar el grupo A+B del grupo X ($P=0.028$). La concentración de 25

$\mu\text{g/mL}$ fue capaz de diferenciar a los controles sanos del grupo A+B ($P<0.0001$) y los grupos A+B del grupo X ($P<0.0001$).

La concentración de $25 \mu\text{g/mL}$, utilizando el análisis de Chi-cuadrado de Pearson, pudo diferenciar entre los grupos A, B y X ($P=0.004$), así como el grupo A+B del grupo X ($P=0.006$), una vez analizado se calculo la sensibilidad y especificidad siendo del 86% y 58% respectivamente, para ambos grupos analizados.

En la Tabla 16 y Tabla 17 se muestran detalladamente los resultados de la EVA nasal usando la máxima concentración ($25 \mu\text{g/mL}$) para el grupo control, grupo A, grupo B y grupo X y el grupo conjunto A+B. Los valores representan el incremento de síntomas respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino). En la Tabla 18 se muestran los valores absolutos de la EVA nasal, es decir, sin el análisis estadístico realizado respecto al control negativo de la prueba (SSF), se presentan los valores basales, del SSF y de las 3 concentraciones realizadas en la PPNp en los diferentes grupos de estudio.

Tabla 16. Incremento de los síntomas medidos mediante la EVA nasal al usar la máxima concentración ($25 \mu\text{g/mL}$) de Pru p 3

Grupo Pru p 3 $25 \mu\text{g/mL}$	Media	DE	IC 95%	Valor-p
Grupo control	-0.30	0.77	-1.82 a 1.67	0.000
Grupo A	+31.2	34.50	6.51 a 55.88	0.000
Grupo B	+59.68	11.69	49.91 a 69.46	0.000
Grupo A+B	+43.86	7.49	28.95 a 58.77	0.000
Grupo X	+17.02	20.41	1.34 a 32.71	0.000

DE: desviación estándar; IC 95%: intervalo de confianza 95%; EVA: escala visual analógica.

Valor-p corresponde al incremento de los síntomas de EVA nasal (estornudos, prurito, congestión, rinorrea) con una escala de 0 a 100 mm, de los grupos respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino fisiológico). Los valores-p con significación estadística se expresan en negritas.

Tabla 17. Diferencias en la EVA nasal inducida por la concentración de Pru p 3 de $25 \mu\text{g/mL}$ entre los grupos de estudio

Grupo Pru p 3 $25 \mu\text{g/mL}$	Media	DE	IC 95%	Valor-p
Grupo control vs Grupo A	+1.51	6.26	-47.80 a -15.22	<0.0001
Grupo control vs Grupo B	+24.12	6.64	-77.28 a -42.73	<0.0001
Grupo control vs Grupo X	+7.89	6.43	-34.08 a -0.60	0.039

Grupo A vs Grupo B	-28.49	6.64	-45.77 a -11.22	0.0002
Grupo A vs Grupo X	+14.17	6.43	-2.56 a 30.90	0.127
Grupo B vs Grupo X	+42.66	6.80	24.96 a 60.36	<0.0001
Grupo A+B vs Grupo X	+26.83	6.22	12.09 a 41.57	<0.0001

DE: desviación estándar; IC 95%: intervalo de confianza 95%; EVA: escala visual analógica.

Valor-p corresponde al incremento de los síntomas de EVA nasal (estornudos, prurito, congestión, rinorrea) con una escala de 0 a 100 mm, de los grupos respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino fisiológico). Los valores-p con significación estadística se expresan en negritas.

Tabla 18. Diferencias en la EVA nasal de los grupos de estudio en la PPNp

EVA nasal (0-100mm)	Basal media±DE	SSF media±DE	Pru p 3 0.25 µg/mL media±DE	Pru p 3 2.5 µg/mL media±DE	Pru p 3 25 µg/mL media±DE
Grupo C	4.97±5.12	4.45±4.47	NR	NR	4.37±4.25
Grupo A	3.50±5.19	2.20±2.56	7.57±12.19	14.80±26.59	33.40±33.20
Grupo B	8.10±9.48	3.15±2.48	10.60±8.46	26.80±19.18	63.09±12.90
Grupo A+B	5.80±7.80	2.67±2.50	9.08±10.33	20.8±23.39	46.59±29.71
Grupo X	8.44±10.74	8.94±13.48	7.47±10.85	11.16±11.11	25.97±19.89

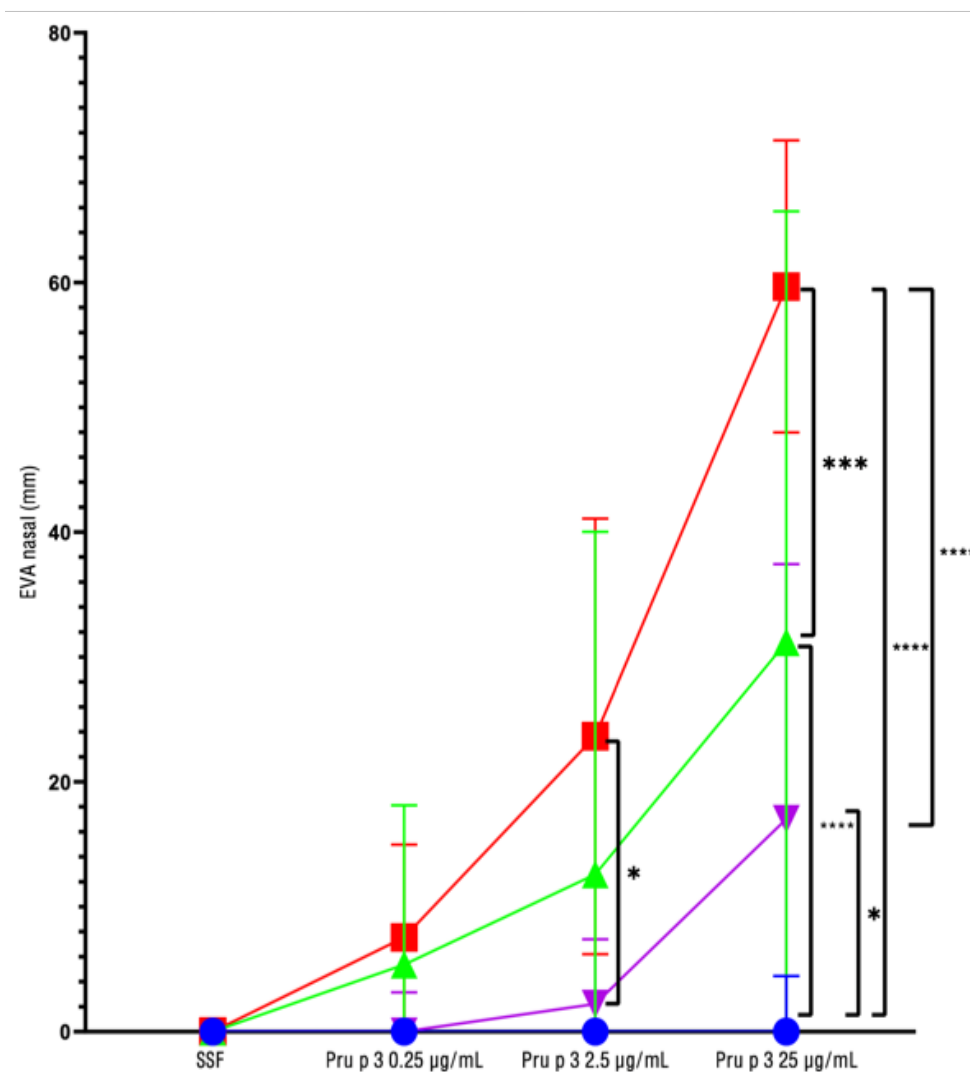
DE: desviación estándar; EVA: escala visual analógica; NR: no realizado. SSF: suero salino fisiológico.

Se presenta los valores de la EVA nasal (estornudos, prurito, congestión, rinorrea) con una escala de 0 a 100 mm, de cada grupo de estudio con medias +/- desviación estándar.

En la Figura 10 se muestran los cambios en EVA nasal de los 4 grupos usando las 3 concentraciones, con la escala EVA modificada, respecto al inducido con el control negativo (suero salino).

Finalmente se estudió la correlación entre los síntomas de los pacientes del grupo A y B (urticaria, anafilaxia y shock anafiláctico) y la intensidad de los síntomas medidos por EVA, pero no se observó ninguna relación significativa. Siendo el valor-p de ($P=0.513$, $P=0.389$, $P=0.470$), según la concentración de 0.25, 2.5 y 25 µg/mL respectivamente, de los grupos respecto al inducido por el control negativo (suero salino).

Figura 10. Incremento de los síntomas medidos mediante EVA nasal modificada



Los valores se expresan como media \pm desviación estándar. EVA: escala visual analógica modificada. SSF: suero salino fisiológico. Los valores representan el aumento de los síntomas nasales respecto a los síntomas inducidos por el control negativo (suero salino). Los síntomas nasales (estornudos, prurito, congestión, rinorrea) fueron puntuados de 0 a 100 mm, y posteriormente todos los valores se sumaron y dividieron entre 4. Controles sanos (círculo azul), grupo A (triángulo verde), grupo B (cuadrado rojo), grupo X (triángulo invertido violeta). * $P < 0.05$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$

5.2.3.3. Valoración del incremento de síntomas nasales por medio de la puntuación total de síntomas nasales (T4NSS)

El T4NSS fue capaz de diferenciar de forma estadísticamente significativa los 4 grupos de pacientes a las concentraciones de 2.5 y 25 $\mu\text{g/mL}$. Ver figura 11. La concentración de 2.5 $\mu\text{g/mL}$

fue capaz de diferenciar grupo B del grupo X ($P=0.0015$). La concentración de 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ fue capaz de diferenciar a los controles sanos de los pacientes del grupo A, y a los controles sanos de los pacientes del grupo B, ambos con una $P<0.0001$. Así mismo, la máxima concentración pudo diferenciar el grupo A del grupo B ($P<0.0001$), el grupo A del grupo X ($P=0.0025$) y, finalmente, el grupo B del grupo X ($P<0.0001$).

Si analizamos de forma conjunta el grupo A y B, estableciendo este grupo como el grupo alérgico (A+B), encontramos diferencias estadísticamente significativas en la concentración 2.5 y 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La concentración de 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ fue capaz de diferenciar grupo A+B del grupo X ($P=0.029$). La concentración de 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ fue capaz de diferenciar los controles sanos de los pacientes del grupo A+B ($P<0.0001$), y el grupo A+B del grupo X ($P<0.0001$).

La concentración de 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, utilizando el análisis de Chi-cuadrado de Pearson, pudo diferenciar entre los grupos A, B y X ($P=0.000$), así como el grupo A+B del grupo X ($P=0.000$), una vez analizado se calculo la sensibilidad y especificidad siendo del 86% y 75% respectivamente, para ambos grupos analizados.

En la Tabla 19 y Tabla 20 se muestran detalladamente los resultados del T4NSS usando la máxima concentración (25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) para el grupo control, grupo A, grupo B y grupo X y el grupo conjunto A+B. Los valores representan el incremento de síntomas respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino). En la Tabla 21 se muestran los valores absolutos de T4NSS, es decir, sin el análisis estadístico realizado respecto al control negativo de la prueba (SSF), se presentan los valores basales, del SSF y de las 3 concentraciones realizadas en la PPNp en los diferentes grupos de estudio.

Tabla 19. Incremento de los síntomas usando el T4NSS nasal con la máxima concentración (25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) de Pru p 3

Grupo Pru p 3 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Media	DE	IC 95%	Valor-p
Grupo control	0.00	0.47	-0.34 a 0.34	0.000
Grupo A	4.70	3.65	2.09 a 7.31	0.000
Grupo B	8.38	2.39	6.38 a 10.37	0.000
Grupo A+B	6.33	3.60	4.54 a 8.12	0.000
Grupo X	1.89	2.15	0.24 a 3.54	0.000

DE: desviación estándar; IC 95%: intervalo de confianza 95%; T4NSS: puntuación total de síntomas nasales. Valor-p corresponde al incremento de los síntomas de T4NSS (estornudos, prurito, congestión, rinorrea) con una escala de 0 a 12 puntos, de los grupos respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino fisiológico). Los valores-p con significación estadística se expresan en negritas.

Tabla 20. Incremento de los síntomas usando el T4NSS nasal con la máxima concentración (25 µg/mL) de Pru p 3 entre los grupos de estudio

Grupo Pru p 3 25 µg/mL	Media	DE	IC 95%	Valor-p
Grupo control vs Grupo A	-4.70	0.76	-6.68 a -2.71	<0.0001
Grupo control vs Grupo B	-8.37	0.80	-10.48 a -6.27	<0.0001
Grupo control vs Grupo X	-1.88	0.78	-3.92 a 0.14	0.079
Grupo A vs Grupo B	-3.67	0.80	-5.77 a -1.57	<0.0001
Grupo A vs Grupo X	+2.81	0.78	0.77 a 4.84	0.002
Grupo B vs Grupo X	+6.48	0.82	4.33 a 8.63	<0.0001
Grupo A+B vs Grupo X	+4.44	0.77	2.60 a 6.28	<0.0001

DE: desviación estándar; IC 95%: intervalo de confianza 95%; T4NSS: puntuación total de síntomas nasales. Valor-p corresponde al incremento de los síntomas de T4NSS (estornudos, prurito, congestión, rinorrea) con una escala de 0 a 12 puntos, de los grupos respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino fisiológico). Los valores-p con significación estadística se expresan en negritas.

Tabla 21. Incremento de los síntomas usando el T4NSS nasal en los grupos de estudio

T4NSS (0-12 puntos)	Basal media±DE	SSF media±DE	Pru p 3 0.25 µg/mL media±DE	Pru p 3 2.5 µg/mL media±DE	Pru p 3 25 µg/mL media±DE
Grupo C	0.9±0.56	1.2±0.42	NR	NR	1.2±0.63
Grupo A	0.9±1.19	0.8±0.78	1.9±2.02	2.6±3.27	5.5±3.56
Grupo B	1.8±1.31	1.4±1.17	2.4±1.64	5.1±1.59	9.75±2.71
Grupo A+B	1.35±1.30	1.1±1.02	2.15±1.81	3.85±2.81	7.38±3.80
Grupo X	1.33±1.11	1.66±1.41	1.66±1.22	2.44±1.66	3.55±2.24

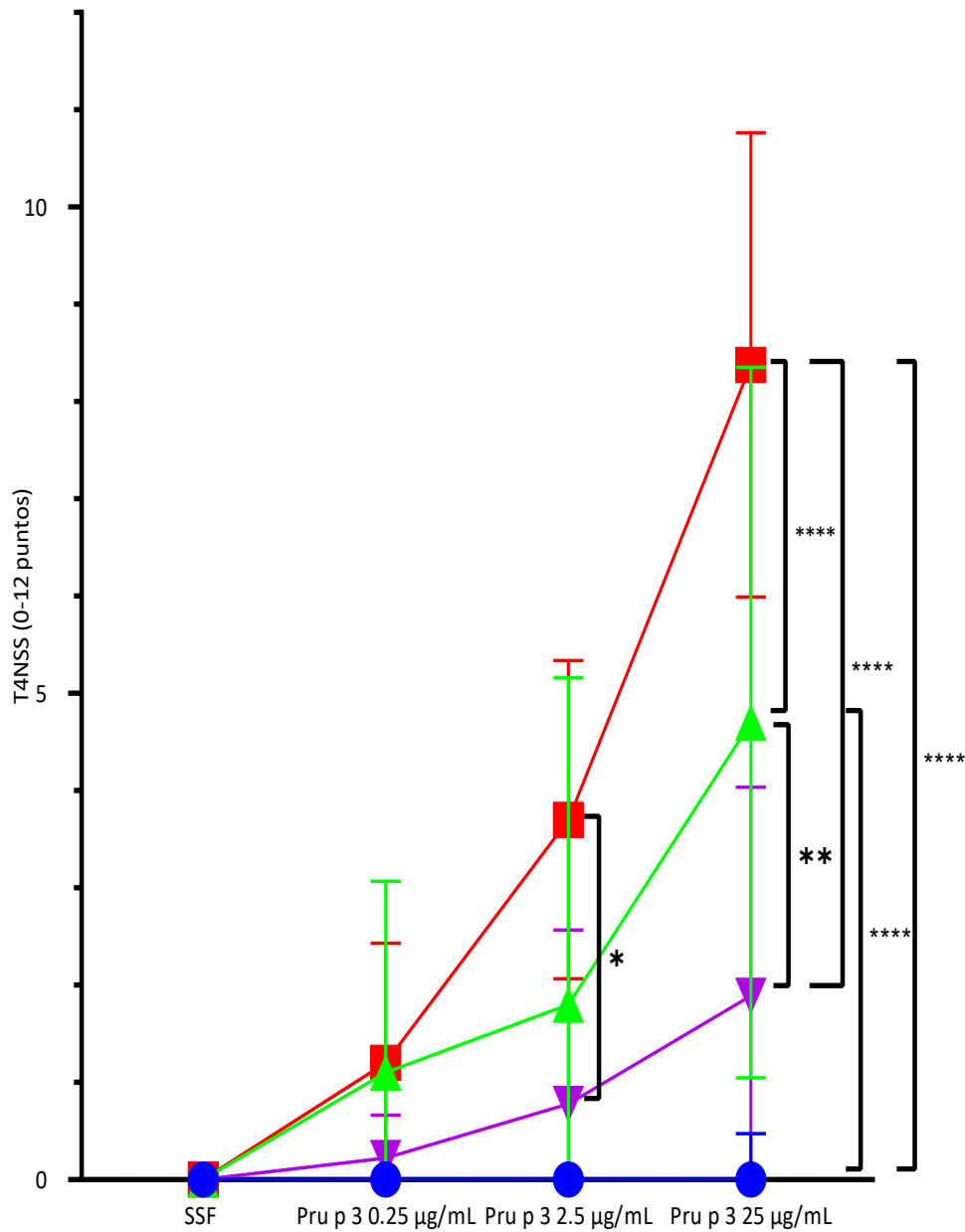
DE: desviación estándar; NR: no realizado. SSF: suero salino fisiológico; T4NSS: puntuación total de los síntomas nasales.

Se presenta los valores del T4NSS (estornudos, prurito, congestión, rinorrea) con una escala de 0 a 12 puntos, durante la PPN de cada grupo de estudio con medias +/- desviación estándar.

En la Figura 11 se muestran los cambios en T4NSS de los 4 grupos usando las 3 concentraciones de Pru p 3, respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino).

Finalmente se estudió la correlación entre los síntomas de los pacientes del grupo A y B (urticaria, anafilaxia y shock anafiláctico) y la intensidad de los síntomas medidos por T4NSS, pero no se observó ninguna relación significativa. Siendo el valor-p de ($P=0.995$, $P=0.437$, $P=0.517$), según la concentración de 0.25, 2.5 y 25 µg/mL respectivamente, de los grupos respecto al inducido por el control negativo (suero salino).

Figura 11. Evaluación del incremento de los síntomas mediante T4NSS



Los valores se expresan como media+/- desviación estándar. T4NSS: puntuación total de síntomas nasales, SSF: suero salino fisiológico. Los valores representan el aumento de los síntomas nasales respecto a los síntomas inducidos por el control negativo (suero salino). Los síntomas nasales (estornudos, prurito, congestión, rinorrea) fueron puntuados de 0 a 12 puntos. Controles sanos (círculo azul), grupo A (triángulo verde), grupo B (cuadrado rojo), grupo X (triángulo invertido violeta). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$

5.2.3.4. Valoración del aumento de los síntomas oculares por medio de la escala visual analógica (EVA) ocular

Mediante el uso de la EVA ocular (que incluye prurito, epífora, hiperemia conjuntival) encontramos diferencias estadísticamente significativas usando la concentración de 2.5 y 25 µg/mL. Ver figura 12. La concentración de 2.5 µg/mL fue capaz de diferenciar el grupo A del grupo B ($P=0.0019$), y el grupo B del grupo X ($P=0.0018$). La concentración de 25 µg/mL fue capaz de diferenciar a los controles sanos de los pacientes del grupo B ($P<0.0001$), el grupo A del grupo B ($P=0.0158$), y el grupo B del grupo X ($P=0.0011$).

Si analizamos de forma conjunta el grupo A y B, estableciendo este grupo como el grupo alérgico (A+B), encontramos diferencias estadísticamente significativas a la concentración de 25 µg/mL, que fue capaz de diferenciar a los controles sanos de los pacientes grupo A+B ($P=0.0004$).

La concentración de 25 µg/mL, utilizando el análisis de Chi-cuadrado de Pearson, no pudo diferenciar ninguno de los grupos de estudio (grupo A vs grupo B vs grupo X ($P=0.083$); grupo A+B vs grupo X ($P=0.279$)). No fue posible calcular la sensibilidad y especificidad de ésta.

En la Tabla 22 y Tabla 23 se muestran detalladamente los resultados de la EVA ocular usando la máxima concentración (25 µg/mL) para el grupo control, grupo A, grupo B y grupo X y el grupo conjunto A+B. Los valores representan el incremento de síntomas respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino). En la Tabla 24 se muestran los valores absolutos de la EVA ocular, es decir, sin el análisis estadístico realizado respecto al control negativo de la prueba (SSF), se presentan los valores basales, del SSF y de las 3 concentraciones realizadas en la PPNp en los diferentes grupos de estudio.

Finalmente se estudió la correlación entre los síntomas de los pacientes del grupo A y B (urticaria, anafilaxia y shock anafiláctico) y la intensidad de los síntomas medidos por EVA ocular, pero no se observó ninguna relación significativa. Siendo el valor-p ($P=0.113$, $P=0.642$, $P=0.801$), según la concentración de 0.25, 2.5 y 25 µg/mL respectivamente, de los grupos respecto al inducido por el control negativo (suero salino).

En la Figura 14 se muestran los cambios en EVA ocular de los 4 grupos en las 3 concentraciones, con una escala de 0 a 100 mm, modificada y adaptada según los criterios de positividad del documento de posición de la EACCI.

Tabla 22. Incremento de los síntomas medidos mediante la EVA ocular al usar la máxima concentración (25 µg/mL) de Pru p 3

Grupo Pru p 3 25 µg/mL	Media	DE	IC 95%	Valor-p
Grupo control	-0.73	2.13	-3.53 a 1.13	0.040
Grupo A	+5.66	8.38	-0.33 a 11.66	0.040
Grupo B	+14.12	14.99	1.60 a 26.64	0.040
Grupo A+B	+9.42	12.17	3.37 a 15.48	0.082
Grupo X	+3.14	7.30	-0.49 a 9.96	0.040

DE: desviación estándar; IC 95%: intervalo de confianza 95%.

Valor-p corresponde al incremento de los síntomas de EVA ocular (prurito, hiperemia, epífora) con una escala de 0 a 100 mm, de los grupos respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino fisiológico). Los valores-p con significación estadística se expresan en negritas. EVA: escala visual analógica.

Tabla 23. Diferencias en la EVA ocular inducida por la concentración de Pru p 3 de 25 µg/mL entre los grupos de estudio

Grupo Pru p 3 25 µg/mL	Media	DE	IC 95%	Valor-p
Grupo control vs Grupo A	-6.39	2.64	-13.27 a 0.47	0.077
Grupo control vs Grupo B	-14.86	2.80	-22.15 a -7.57	<0.0001
Grupo control vs Grupo X	-3.88	2.71	-10.94 a 3.18	0.483
Grupo A vs Grupo B	-8.46	2.80	-15.76 a -1.17	0.015
Grupo A vs Grupo X	+2.51	2.71	-4.54 a 9.57	0.791
Grupo B vs Grupo X	+10.98	2.87	3.51 a 18.45	0.001
Grupo A+B vs Grupo X	+6.27	2.66	-0.29 a 12.59	0.051

DE: desviación estándar; IC 95%: intervalo de confianza 95%.

Valor-p corresponde al incremento de los síntomas de EVA ocular (prurito, hiperemia, epífora) con una escala de 0 a 100 mm, de los grupos respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino fisiológico). Los valores-p con significación estadística se expresan en negritas. EVA: escala visual analógica.

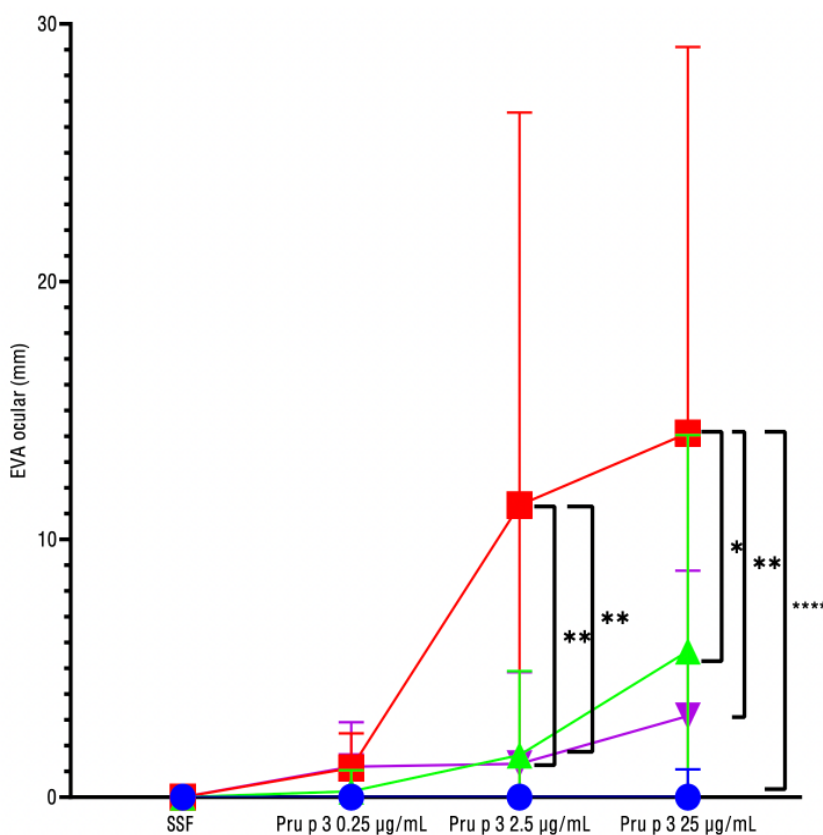
Tabla 24. Diferencias en la EVA ocular de los grupos de estudio

EVA ocular (0-100mm)	Basal media±D E	SSF media±DE	Pru p 3 0.25 µg/mL media±DE	Pru p 3 2.5 µg/mL media±DE	Pru p 3 25 µg/mL media±DE
Grupo C	7±5.11.47	3.38±5.25	NR	NR	2.27±3.65
Grupo A	1.7±3.67	1.1±1.55	1.13±1.37	2.73±2.99	6.76±8.10
Grupo B	2.96±3.19	2.03±3.99	3.26±4.70	13.36±16.55	16.62±17.60
Grupo A+B	2.33±3.41	1.56±2.99	2.2±3.54	8.05±12.77	11.14±13.70
Grupo X	2.22±3.76	2.48±3.27	2.40±2.45	3.70±2.92	5.62±5.71

DE: desviación estándar; EVA: escala visual analógica; NR: no realizado. SSF: suero salino fisiológico.

Se presenta los valores de la EVA ocular (prurito, hiperemia, epífora) con una escala de 0 a 100 mm, durante la PPN de cada grupo de estudio con medias +/- desviación estándar.

Figura 12. Incremento de los síntomas medidos mediante EVA ocular modificada



Los valores se expresan como media +/- desviación estándar. EVA: escala visual analógica modificada. SSF: suero salino fisiológico. Los valores representan el aumento de los síntomas oculares respecto a los síntomas inducidos por el control negativo (suero salino). Los síntomas oculares (prurito, hiperemia, epífora) fueron puntuados de 0 a 100 mm, y posteriormente todos los valores se sumaron y dividieron entre 3. Controles sanos (círculo azul), grupo A (triángulo verde), grupo B (cuadrado rojo), grupo X (triángulo invertido violeta). ** $P < 0.01$; **** $P < 0.0001$

5.2.3.5. Valoración del incremento de los síntomas oculares por medio de la puntuación total de síntomas oculares (T3OSS)

Analizando los 4 grupos (C, A, B y X) el aumento de los 3 síntomas de conjuntivitis durante la PPNp, la concentración de 25 µg/mL es capaz de diferenciar controles sanos de grupo A ($P=0.044$) y controles sanos del grupo B ($P=0.0072$). Ver figura 13.

Si analizamos de forma conjunta el grupo A y B, estableciendo este grupo como el grupo alérgico (A+B) y quedándonos con 3 grupos (C, A+B y X) encontramos diferencias estadísticamente significativas en la concentración de 25 µg/mL que es capaz de diferenciar controles sanos de grupo A+B ($P=0.006$).

En la concentración de 25 µg/mL el análisis de Chi-cuadrado de Pearson no presentó un resultado estadísticamente significativo diferenciando el grupo A vs grupo B vs grupo X ($P=0.276$) ni diferenciando grupo A+B vs grupo X ($P=0.651$), no fue posible calcular la sensibilidad y especificidad de ésta.

En la Tabla 25 y Tabla 26, se muestran detalladamente los resultados del T3OSS usando la máxima concentración (25 µg/mL) para el grupo control, grupo A, grupo B y grupo X y el grupo conjunto A+B. Los valores representan el incremento de síntomas respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino). En la Tabla 27 se muestran los valores absolutos de T3OSS, es decir, sin el análisis estadístico realizado respecto al control negativo de la prueba (SSF), se presentan los valores basales, del SSF y de las 3 concentraciones realizadas en la PPNp en los diferentes grupos de estudio.

Tabla 25. Incremento de los síntomas usando el T3OSS con la máxima concentración (25 µg/mL) de Pru p 3

Grupo Pru p 3 25 µg/mL	Media	DE	IC 95%	Valor-p
Grupo control	-0.33	0.82	-1.19 a 0.52	0.273
Grupo A	+1.33	8.38	0.05 a 1.95	0.273
Grupo B	+1.38	2.39	-0.62 a 3.37	0.273
Grupo A+B	+1.17	1.82	0.26 a 2.07	0.156
Grupo X	+0.80	1.48	-0.26 a 1.86	0.273

DE: desviación estándar; IC 95%: intervalo de confianza 95%. T3OSS: puntuación total de síntomas oculares.

Valor-p corresponde al incremento de los síntomas del T3OSS (prurito, hiperemia, epífora) con una escala de 0 a 9 puntos, de los grupos respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino fisiológico). Los valores-p con significación estadística se expresan en negritas.

Tabla 26. Diferencias en el T3OSS inducidas por la concentración de Pru p 3 de 25 µg/mL entre los grupos de estudio

Grupo Pru p 3 25 µg/mL	Media	DE	IC 95%	Valor-p
Grupo control vs Grupo A	-1.20	2.75	-2.37 a -0.02	0.044
Grupo control vs Grupo B	-1.57	2.92	-2.82 a -0.32	0.007
Grupo control vs Grupo X	-0.75	2.83	-1.96 a 0.45	0.369
Grupo A vs Grupo B	-0.37	2.92	-1.62 a 0.87	0.863
Grupo A vs Grupo X	+0.44	2.83	-0.76 a 1.65	0.775
Grupo B vs Grupo X	+0.81	2.99	-0.46 a 2.10	0.432
Grupo A+B vs Grupo X	+0.61	0.45	-0.46 a 1.68	0.346

DE: desviación estándar; IC 95%: intervalo de confianza 95%. T3OSS: puntuación total de síntomas oculares.

Valor-p corresponde al incremento de los síntomas del T3OSS (prurito, hiperemia, epífora) con una escala de 0 a 9 puntos, de los grupos respecto a los inducidos por el control negativo (suero salino fisiológico). Los valores-p con significación estadística se expresan en negritas.

Tabla 27. Diferencias en el T3OSS de los grupos de estudio

T3OSS (0-9 puntos)	Basal media±DE	SSF media±DE	Pru p 3 0.25 µg/mL media±DE	Pru p 3 2.5 µg/mL media±DE	Pru p 3 25 µg/mL media±DE
Grupo C	1±1.67	0.5±0.83	NR	NR	0.16±0.40
Grupo A	0.4±0.69	0.5±0.70	0.6±1.07	0.7±0.83	1.5±1.64
Grupo B	1.2±1.22	0.9±1.19	0.8±1.03	2±1.63	2.37±2.19
Grupo A+B	0.8±1.05	0.7±0.97	0.7±1.03	1.35±1.42	1.88±1.90
Grupo X	0.22±0.66	0.44±1.01	0.44±0.72	0.88±0.78	1±1

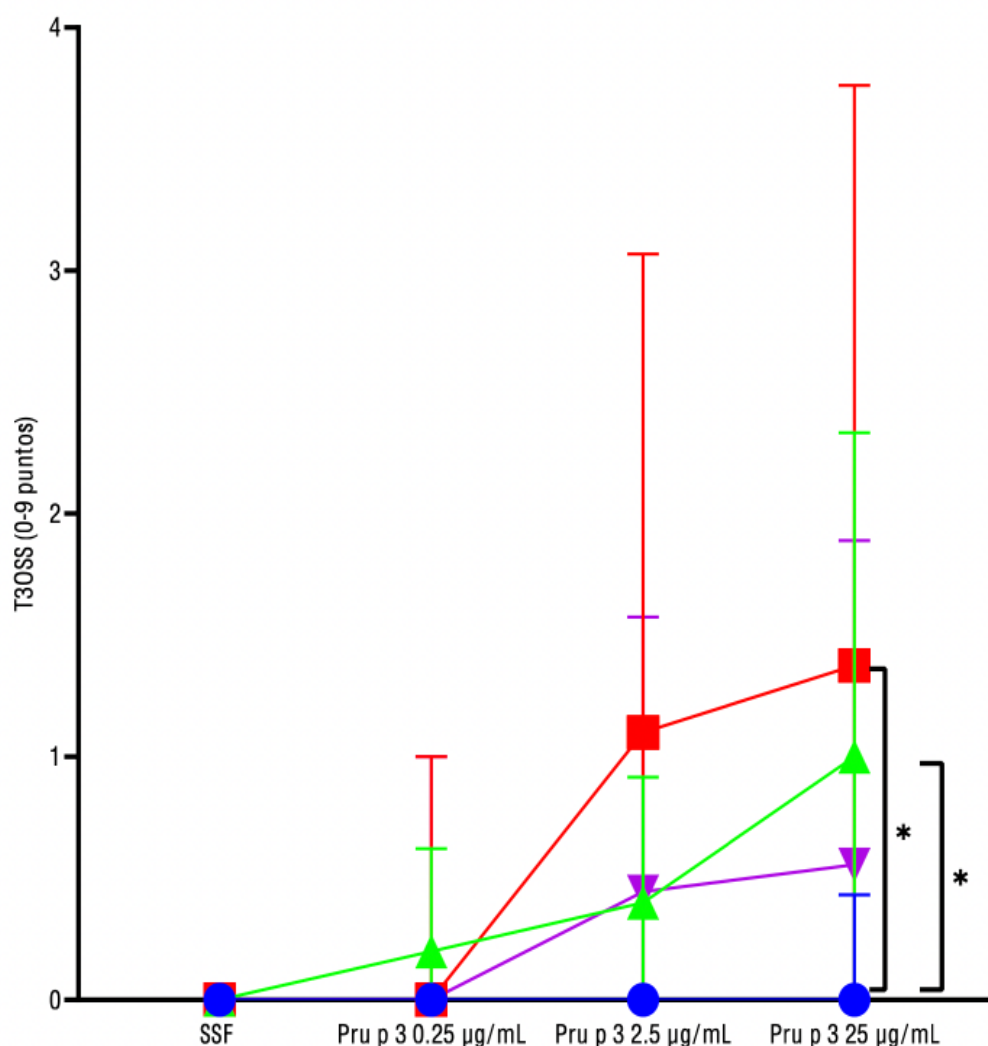
DE: desviación estándar; T3OSS: puntuación total de síntomas nasales; NR: no realizado. SSF: suero salino fisiológico.

Se presenta los valores de T3OSS (prurito, hiperemia, epífora) con una escala de 0 a 9 puntos, durante la PPN de cada grupo de estudio con medias +/- desviación estándar.

En la Figura 13 se muestran los cambios en T3OSS de los 4 grupos en las 3 concentraciones, con una escala de 0 a 9 puntos, modificada y adaptada según los criterios de positividad del documento de posición de la EACCI.

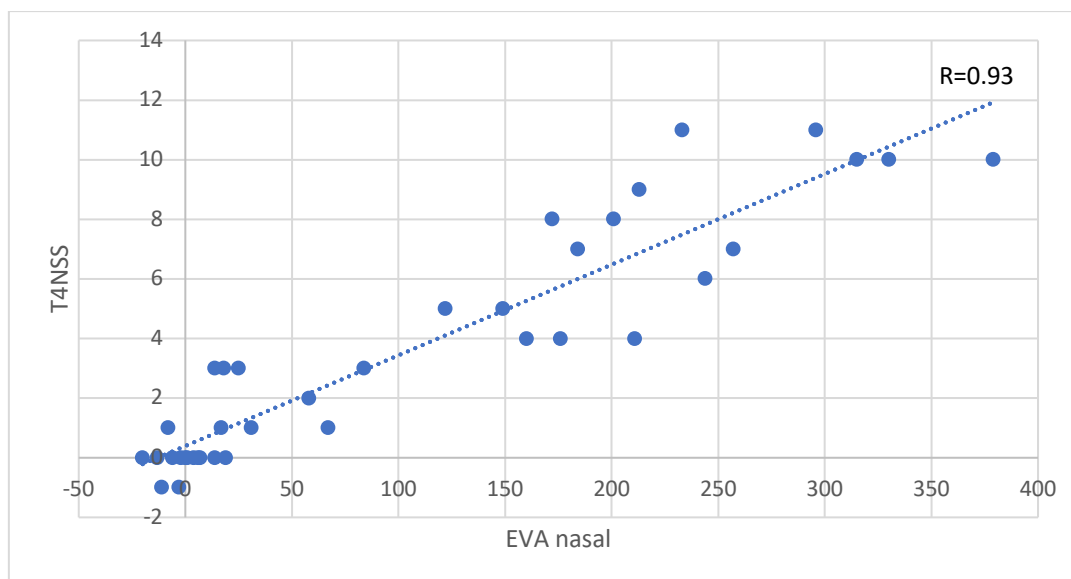
Finalmente se estudió la correlación entre los síntomas de los pacientes del grupo A y B (urticaria, anafilaxia y shock anafiláctico) y la intensidad de los síntomas medidos por T3OSS, pero no se observó ninguna relación significativa. Siendo el valor-p de ($P=0.270$, $P=0.646$, $P=0.194$), según la concentración de 0.25, 2.5 y 25 µg/mL respectivamente, de los grupos respecto al inducido por el control negativo (suero salino).

Figura 13. Evaluación del incremento de los síntomas mediante T3OSS



Los valores se expresan como media \pm desviación estándar. *T3OSS*: puntuación total de síntomas oculares. *SSF*: suero salino fisiológico. Los valores representan el aumento de los síntomas oculares respecto a los síntomas inducidos por el control negativo (suero salino). Los síntomas oculares (prurito, hiperemia, epífora) fueron puntuados de 0 a 9 puntos. Controles sanos (círculo azul), grupo A (triángulo verde), grupo B (cuadrado rojo), grupo X (triángulo invertido violeta). * $P < 0.05$

Al no encontrar resultados similares en el aumento de los síntomas mediante la EVA nasal modificada y el T4NSS, realizamos una prueba de correlación entre estas dos escalas de síntomas, encontrándose una buena correlación dando como resultado una R de 0.93, es decir a la vez que aumentan los síntomas en la EVA nasal, también lo hace el T4NSS. Ver figura 14.

Figura 14. Correlación entre la EVA nasal y el T4NSS

EVA nasal: escala visual analógica nasal; *T4NSS*: puntuación total de síntomas nasaes

5.2.3.6. Otros síntomas:

Es a destacar que ningún paciente presentó ninguna reacción sistémica durante la PPNp, aunque si detectamos la aparición de otros síntomas. El prurito retro auricular ocurrió en 3 de 29 pacientes (10.34%). De estos, 2 (20%) pertenecían al grupo B y 1 (11.11%) al grupo X. El prurito velo palatino apareció en 16/29 pacientes (55.17%), de estos 6 (60%) eran del grupo A, 8 (80%) del grupo B y 2 (22.22%) del grupo X. 2 de 29 (6.89%) pacientes presentaron prurito labial, ambos del grupo B. Otro paciente del grupo B presentó prurito cutáneo generalizado sin ninguna lesión cutánea asociada ni otra reacción sistémica. Ningún paciente del grupo control presentó ningún síntoma.

Únicamente 2 pacientes, ambos del grupo B, requirieron antihistamínico vía oral al finalizar la PPNp, uno por prurito cutáneo y otro por prurito velo palatino intenso. Uno de ellos también requirió de vasoconstrictor nasal debido a la intensa y persistente obstrucción nasal sufrida tras la provocación nasal. 3 pacientes del grupo B comentaron presentar somnolencia con relación a la PPNp, sin otra clínica asociada y permaneciendo en todo momento con estabilidad hemodinámica.

A las 24 horas de la PPNp, se monitorizó a los pacientes por vía telefónica o por medio de correo electrónico, no presentando ninguno de los 39 pacientes, incluidos los pacientes del grupo control, algún síntoma y/o reacción retardada.

5.2.4. Resultados de las pruebas cutáneas intraepidérmicas con Pru p 3

Para el análisis de las pruebas cutáneas intraepidérmicas con Pru p 3 en las 3 concentraciones (0.25, 2.5 y 25 µg/mL), se utilizó como control positivo el diámetro mayor (mm) de la pápula de la histamina de cada paciente. En el grupo control se realizó únicamente la máxima concentración de 25 µg/mL con ausencia de respuesta siendo en los 10 (100%) pacientes reclutados un resultado negativo de 0mm, por lo que, se dio el valor de 0 en las PIE de la concentración de 0.25 y 2.5 µg/mL para la realización del análisis estadístico.

Establecimos los siguientes valores para el análisis estadístico:

0 = negativo: 0 mm

4 = > 0 mm, pero < ½ del (diámetro mayor) de histamina

5 = ½ del (diámetro mayor) de la histamina, pero < que el (diámetro mayor) > de la histamina

6 = > (diámetro mayor) de la histamina

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las 3 concentraciones (0.25, 2.5 y 25 µg/mL) respecto al control positivo de la PIE (diámetro mayor de la histamina), capaces de diferenciar los 4 grupos (C, A, B y X). Observándose un aumento del diámetro de la pápula, conforme aumentaba la concentración de Pru p 3, presentando un mayor aumento de diámetro el grupo B, seguido del grupo A y con menor aumento de diámetro el grupo X. En la Tabla 28 se muestran los valores detallados de las pruebas cutáneas.

No se observó ninguna relación entre las características clínicas de los pacientes de los grupos A y B y el tamaño de la pápula.

Tabla 28. Diámetro de las pruebas cutáneas intraepidérmicas con Pru p 3

Pru p 3 0.25 µg/mL					
Grupo	Media (histamina)	Media (grupo)	DE	IC 95%	Valor-p
C	6.10	0	0	0	0.000
A	7.70	5	2.45	3.25-6.75	0.000
B	8.60	4.60	2.50	2.81-6.39	0.000
X	7.60	1.67	1.66	0.39-2.94	0.000
Pru p 3 2.5 µg/mL					
C	6.10	0	0	0	0.000
A	7.70	7	2.75	5.03-8.97	0.000
B	8.60	7.40	3.47	4.92-9.88	0.000
X	7.60	4.89	1.83	3.55-6.05	0.000
Pru p 3 25 µg/mL					

C	6.10	0	0	0	0.000
A	7.70	10.10	5.45	6.20-14	0.000
B	8.60	12.20	3.91	9.40-15	0.000
X	7.60	7.70	2.91	5.73-9.67	0.000

DE: desviación estándar, IC: intervalo de confianza.

El valor-p se calculó de las pruebas cutáneas respecto al diámetro mayor de la pápula (mm) de los grupos, en comparación al inducido por el control positivo (diámetro mayor de la histamina). Observándose un aumento del diámetro de la pápula en los grupos a medida que se aumenta la concentración de Pru p 3, siendo mayor el diámetro de la pápula en el grupo B en la concentración 2.5 µg/mL y 25 µg/mL y menor en el grupo X en las 3 concentraciones. Los valores-p con significación estadística, se expresan en negritas.

5.2.5. Resultados de la prueba de provocación nasal con Pru p 3 de acuerdo con los criterios de positividad seleccionados

Tal y como se ha descrito en el apartado de metodología, se seleccionaron los criterios de la EAACI (1) y del estudio de Eguiluz-Gracia et al (2). Para establecer la positividad de la PPNp.

Una vez descrito los valores crudos obtenidos tras la PPNp tanto a nivel de la RAc como de los síntomas (usando las diversas escalas), pasamos a describir el resultado de las PPNp (positivo o negativo) en función de los criterios establecidos por la EAACI e Eguiluz-Gracia et al.

Se mostrarán los resultados obtenidos a la concentración máxima (25 µg/mL), ya que fue la que permitió discriminar de forma significativa entre grupos cuando se analizaron los datos crudos. En este análisis no se tendrán en cuenta los síntomas oculares por no formar parte de los criterios de positividad elegidos, además de tener un peso muy bajo en la sintomatología tras la provocación con Pru p 3.

5.2.5.1. CRITERIOS DE POSITIVIDAD SEGÚN EAACI (1) Y CRITERIO EGUILUZ-GRACIA (2):

En la Tabla 29, presentamos los resultados obtenidos.

Tabla 29. Análisis de los 6 criterios de positividad en la prueba de provocación nasal con Pru p 3 25 µg/mL aplicados en alergia respiratoria de los grupos de estudio

Valor-p según los criterios de positividad en la concentración de Pru p 3 25 µg/mL	Grupo A vs Grupo B	Grupo A vs Grupo X	Grupo B vs Grupo X	Grupo A vs B vs X	Grupo A+B vs Grupo X
Criterios de positividad EAACI (claramente positivos)					
1. Disminución en RAc ≥40% en volumen 2-6cm bilateral	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
2. Aumento de síntomas por EVA nasal (síntomas ≥55 mm)	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
3. Aumento síntomas por T4NSS (aumento de ≥5 puntos)	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0.001	0.007	0.006
Criterios de positividad EAACI (moderadamente positivos)					
Criterios combinados: 1 criterio objetivo moderadamente positivo + 1 criterio subjetivo moderadamente positivo.					
4. dpvNM2-6 en RAc (disminución ≥27% en volumen 2-6cm bilateral) + aumento de los síntomas en EVA nasal (síntomas ≥23 mm)	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
5. dpvNM2-6 en RAc (disminución ≥27% en volumen 2-6cm bilateral) + aumento de los síntomas en T4NSS (incremento de ≥3 puntos)	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

Criterios de positividad según Eguiluz-Gracia					
6. Disminución bilateral del volumen nasal entre los 2-6 cm $\geq 24.48\%$ en RAc	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

EAACI: Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica; EVA: escala visual analógica; ns: sin significación estadística; RAc: rinometría acústica; T4NSS: puntuación total de los síntomas nasales. Valor-p con significación estadística se expresa en negrita.

Tal como se observa en la Tabla 29, el criterio **claramente positivo de T4NSS de la EAACI**, es el único criterio capaz de diferenciar una provocación nasal con Pru p 3 positiva cuando comparamos: 1) grupo B vs grupo X, 2) grupo A vs B vs X y 3) grupo A+B vs grupo X. Permitiendo el cálculo de sensibilidad y especificidad con un valor de 92% y 57% respectivamente, respecto a la comparación del grupo A vs grupo B vs grupo X y grupo A+B vs grupo X.

En la Tabla 30 a Tabla 33, se presentan los resultados individuales de la PPNp de los 3 grupos de estudio (A, B y X) para las 3 concentraciones de Pru p 3 (0.25, 2.5 y 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$), excepto para el grupo control que solo se muestra los resultados de la máxima concentración. Se puede observar que en la concentración de 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$: tenemos 1 (10%) caso positivo en el grupo A y ningún caso en el grupo B y grupo X. En la concentración de 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$: 2 (20%) casos positivos en el grupo A, 6 (60%) casos positivos en el grupo B y 1 (11.11%) caso positivo en el grupo X. Finalmente en la máxima concentración de Pru p 3 de 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ tenemos: 5 (50%) casos positivos en el grupo A, 8 (80%) casos positivos en el grupo B, en dos pacientes (paciente no. 1 y no. 4) no se realizó la PPN ya que en la concentración anterior de 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ tuvieron una dpVNM2-6 de $\geq 25\%$ y 2 (22.22%) casos positivos en el grupo X. En el grupo control ningún caso positivo.

Tabla 30. Resultados individuales de la PPNp del grupo control (Pru p 3 25 µg/mL)

No. paciente	dpVNM 2-6	EVA nasal (mm)	T4NSS (puntos)	dpVNM2-6 ≥24.48% por <i>Eguiluz-Gracia et al</i>	Criterio EAACI				
					dpVNM 2-6 ≥40%	EVA nasal (síntomas ≥55 mm)	T4NSS (aumento de ≥5 puntos)	dpVNM 2-6 ≥27% + EVA nasal (síntomas ≥23 mm)	dpVNM 2-6 ≥27% + T4NSS (aumento ≥3 puntos)
1	26,6	-2	1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
2	2,19	1.7	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
3	24,47	1	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
4	-7,4	-2,8	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
5	-5,09	0,2	-1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
6	-2,78	0.25	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	0,89	-0,5	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
8	-1,84	-3,25	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
9	17,34	4,75	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
10	51,44	1,5	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

dpVNM2-6: disminución del % del volumen nasal medio (2-6cm); EAACI: Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica; EVA: escala visual analógica; T4NSS: score total de síntomas nasales; PPNp: prueba de provocación nasal con Pru p 3; SSF: suero salino fisiológico.

Tabla 31. Resultados individuales de la PPNp del grupo A

Pru p 3 0.25 µg/mL									
No. Paciente	dpVNM 2-6	EVA nasal (mm)	T4NSS (puntos)	dpVNM2-6 ≥24.48% por <i>Eguiluz-Gracia et al</i>	Criterio EAACI				
					dpVNM 2-6 ≥40%	EVA nasal (síntomas ≥55 mm)	T4NSS (aumento de ≥5 puntos)	dpVNM 2-6 ≥27% + EVA nasal (síntomas ≥23 mm)	dpVNM 2-6 ≥27% + T4NSS (aumento ≥3 puntos)
1	6,47	0	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
2	-1,13	-4	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
3	-10,33	0,75	-1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
4	0	2	1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
5	-12,5	0	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
6	-3,21	3,75	1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	-6,12	3,75	2	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
8	2,3	40,5	6	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa	Negativa
9	-14,08	8	2	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
10	2,98	-1	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
Pru p 3 2.5 µg/mL									
1	2,64	0	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
2	0	-4	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
3	-13,77	1,75	-1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
4	-13,76	1,5	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
5	-11,75	0	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
6	-16,58	0.25	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	12,43	20.25	4	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
8	-30,4	87,5	10	Positiva	Negativa	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
9	-27,14	16,25	4	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
10	6,46	2.5	1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

RESULTADOS

Pru p 3 25 µg/mL									
1	-1,18	43	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
2	7,88	-5	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
3	-37,66	21	-1	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
4	-37,99	37,25	0	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa
5	-17,24	0	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa
6	-18,84	3,5	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	-31,77	82,5	4	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa	Positiva	Positiva
8	-49,48	94,75	10	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
9	-36,02	30,5	4	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
10	-3,24	4,5	1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

Tabla 32. Resultados individuales de la PPNp del grupo B

Pru p 3 0.25 µg/mL									
No. Paciente	dpVNM 2-6	EVA nasal (mm)	T4NSS (puntos)	dpVNM2-6 ≥24.48% por <i>Eguiluz-Gracia et al</i>	Criterio EAACI				
					dpVNM 2-6 ≥40%	EVA nasal (síntomas ≥55 mm)	T4NSS (aumento de ≥5 puntos)	dpVNM 2-6 ≥27% + EVA nasal (síntomas ≥23 mm)	dpVNM 2-6 ≥27% + T4NSS (aumento ≥3 puntos)
1	-2,25	8	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
2	-11,31	18,75	3	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
3	-8,96	0	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
4	-22,56	9,5	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
5	-7,85	-0,5	-1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
6	-6,56	0	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	-6,05	2,5	2	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
8	-18,77	17	3	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
9	-10,94	3,25	2	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

RESULTADOS

10	2,2	16	1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
Pru p 3 2.5 µg/mL									
1	-39,33	49,25	7	Positiva	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva	Positiva
2	-20,36	29,5	5	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa	Negativa
3	-4,23	2,75	3	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
4	-31,9	9,25	2	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
5	-12,66	5,75	2	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
6	-2,01	1,75	3	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	-20,33	35	5	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa	Negativa
8	-30,35	38,5	4	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
9	-28,84	25,25	4	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
10	-3,21	39,5	2	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
Pru p 3 25 µg/mL									
1	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr
2	-21,65	58,25	11	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva	Negativa	Negativa
3	-22,14	53,25	9	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa	Negativa
4	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr
5	-14,18	50,25	8	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa	Negativa
6	-8,57	52,75	4	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	-50,55	74	11	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
8	-45,52	46	7	Positiva	Positiva	Negativa	Positiva	Positiva	Positiva
9	-29,93	78,75	10	Positiva	Negativa	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
10	-23,25	68,25	7	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva	Negativa	Negativa

dpVNM2-6: disminución del % del volumen nasal medio (2-6cm); *EAACI*: Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica; *EVA*: escala visual analógica; *T4NSS*: score total de síntomas nasales; *nr*: no realizado; *PPNp*: prueba de provocación nasal con Pru p 3; *SSF*: suero salino fisiológico.

Tabla 33. Resultados individuales de la PPNp del grupo X

Pru p 3 0.25 µg/mL									
No. Paciente	dpVNM 2-6	EVA nasal (mm)	T4NSS (puntos)	dpVNM2-6 ≥24.48% por <i>Eguiluz-Gracia et al</i>	Criterio EAACI				
					dpVNM 2-6 ≥40%	EVA nasal (síntomas ≥55 mm)	T4NSS (aumento de ≥5 puntos)	dpVNM 2-6 ≥27% + EVA nasal (síntomas ≥23 mm)	dpVNM 2-6 ≥27% + T4NSS (aumento ≥3 puntos)
1	-4,09	-2,25	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
2	0,85	-0,75	1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
3	-0,67	1,5	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
4	-12,46	-0,5	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
5	-0,69	2,75	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
6	9,38	-13	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	3,34	-2,25	-1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
8	0	0	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
9	2,79	1,25	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
Pru p 3 2.5 µg/mL									
1	-5,05	-2.5	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
2	-3,43	0.25	-1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
3	-0,67	6,75	2	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
4	-26,44	3,25	1	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
5	-9,31	10,5	4	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
6	-4,83	-6	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	1,51	-1,25	-2	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
8	2,27	6,5	2	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
9	8,65	2.5	1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
Pru p 3 25 µg/mL									
1	-1,45	7,75	1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
2	0,85	4,25	1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

RESULTADOS

3	-6,66	14,5	2	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
4	-37,74	40	4	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
5	-23,61	61	6	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva	Negativa	Negativa
6	-15,82	6,25	3	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	-10,04	-0,75	-1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
8	-13,41	16,75	1	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
9	-7,27	3,5	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

dpVNM2-6: disminución del % del volumen nasal medio (2-6cm); *EAACI*: Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica; *EVA*: escala visual analógica; *T4NSS*: score total de síntomas nasales; *PPNp*: prueba de provocación nasal con Pru p 3; *SSF*: suero salino fisiológico.

5.2.6. Análisis de los puntos de corte para diferenciar los grupos estudiados (C, A, B y X) usando los resultados de la PPNp a la máxima concentración (25 µg/mL)

Con los resultados obtenidos de la PPNp a máxima concentración (25 µg/mL) hemos realizado el análisis de puntos de corte mediante el uso de curvas ROC, respecto a 4 parámetros (i) dpVNM2-6, (ii) EVA nasal, (iii) T4NSS y (iv) pruebas cutáneas intraepidérmicas, que pueden observarse en la Tabla 34. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los puntos de corte del grupo control, grupo A+B y grupo B. Es decir, una dpVNM2-6 $\geq 11.2\%$ y una EVA nasal $\geq 41.6\text{mm}$ y un T4NSS ≥ 6.5 puntos y un diámetro mayor de pápula con Pru p 3 $\geq 6\text{mm}$; pertenecen a individuos del grupo B.

Tabla 34. Puntos de corte para diferenciar una PPNp en los individuos a la concentración máxima de 25 µg/mL

Pru p 3 25 µg/mL	Grupo Control (Valor-p)	Grupo X (Valor-p)	Grupo (A+B) (Valor-p)	Grupo B (Valor-p)	Grupo A (Valor-p)
dpVNM2-6	$\leq 7.8\%$ (P0.000)	$\geq 6.2\%$ a $< 16.1\%$ (P1.000)	$\geq 13.6\%$ (P0.001)	$\geq 11.2\%$ (P0.015)	$\geq 16.1\%$ (P0.108)
EVA nasal	< 3.1 (P0.000)	≥ 3.1 a < 17.8 (P0.913)	≥ 17.8 (P0.001)	≥ 41.6 (P0.001)	≥ 17.8 a < 49.1 (P0.491)
T4NSS	< 0.5 (P0.000)	≥ 0.5 a < 6.5 (P0.357)	≥ 2.5 (P0.000)	≥ 6.5 (P0.000)	≥ 2.5 (P0.206)
Pruebas intraepidérmicas	< 3 (P0.000)	≥ 5 a < 11 (P.881)	≥ 6 (P0.000)	≥ 6 (P0.002)	≥ 3 (P0.177)

dpVNM2-6: disminución del % del volumen nasal medio (2-6cm) en la rinometría acústica; EVA nasal: escala visual analógica nasal; T4NSS: puntuación total de síntomas nasales. Los valores-p con significación estadística, se expresan en negritas.

En la Tabla 35, se describen los valores de sensibilidad y especificidad de cada uno de los puntos de cortes identificados, presentando dichos grupos una significación asintótica en los puntos de corte de los 4 parámetros analizados.

Tabla 35. Sensibilidad y especificidad de los puntos de corte con diferencias estadísticamente significativas que diferencian los diferentes grupos clínicos

Grupo control					
Pru p 3 25 µg/mL	Punto de corte	Sensibilidad	1- Especificidad	Índice de Youden	Significación asintótica
Grupo C					
dpVNM2-6	≤7.8%	1	0.26	0.74	0.000
EVA nasal	<3.1	0.1	0.88	-0.78	0.000
T4NSS	<0.5	0.1	0.85	-0.75	0.000
PIE	<3	1	1	-1	0.000
Grupo B					
dpVNM2-6	≥11.2%	1	0.62	-0.62	0.015
EVA nasal	≥41.6	1	0.21	0.79	0.001
T4NSS	≥6.5	0.88	0.1	0.78	0.001
Pruebas intraepidérmicas	≥6	1	0.4	0.55	0.002
Grupo A+B					
dpVNM2-6	≥13.6%	0.22	0.84	-0.62	0.001
EVA nasal	≥17.8	0.76	0.11	0.65	0.001
T4NSS	≥2.5	0.89	0.16	0.73	0.000
Pruebas intraepidérmicas	≥6	0.9	0.26	0.64	0.000

dpVNM2-6: disminución del % del volumen nasal medio (2-6cm) en la rinometría acústica; *EVA nasal*: escala visual analógica nasal; *T4NSS*: puntuación total de síntomas nasales; *PIE*: pruebas cutáneas intraepidérmicas; *PPNp*: prueba de provocación nasal con Pru p 3.

En la Figura 15 se muestran las curvas ROC de dpVNM2-6 cm, EVA nasal, T4NSS y PIE en la PPNp a máxima concentración de Pru p 3 (25 µg/mL) del grupo control, grupo A+B y grupo B, que presentaron una significación estadística $p < 0.05$.

Figura 15. Curvas ROC para la dpVNM2-6, EVA nasal, T4NSS y PIE de los grupos con significación estadística

Grupo C

Figura 15A. dpVNM2-6

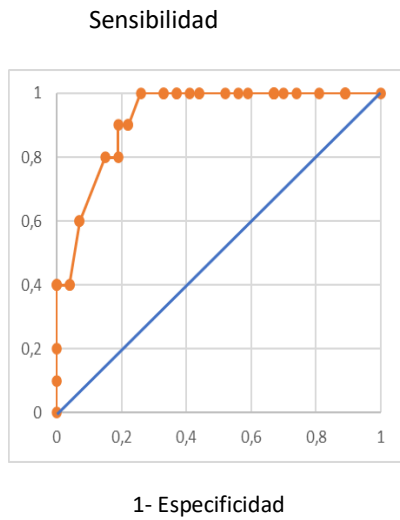


Figura15B. EVA nasal

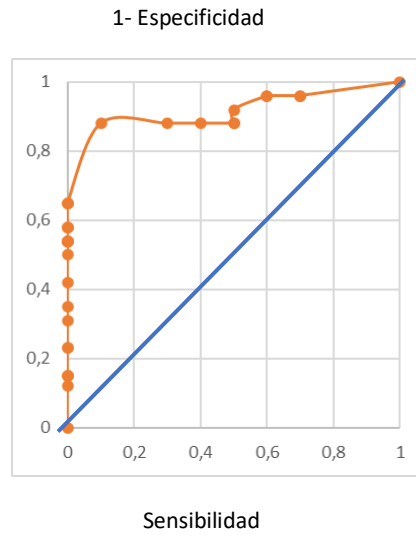


Figura 15C. T4NSS

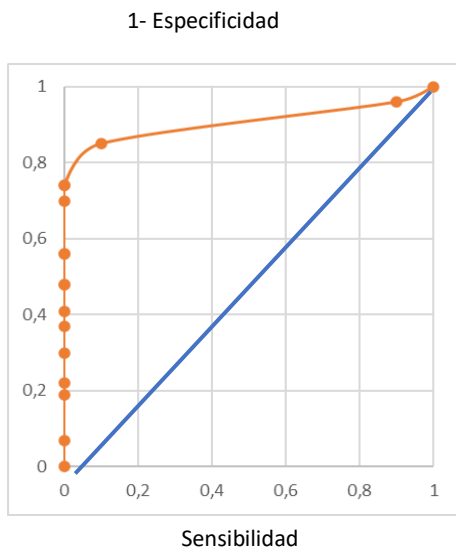
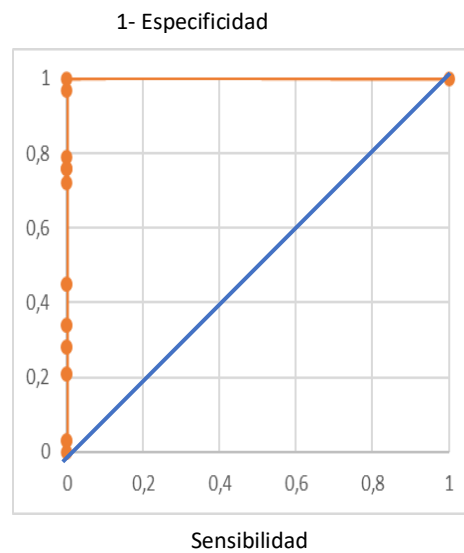


Figura 15D. PIE 25 µg/mL



Grupo B

Figura 15E. dpVNM2-6

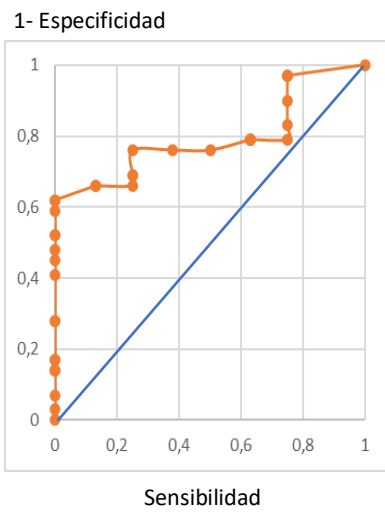


Figura 15F. EVA nasal

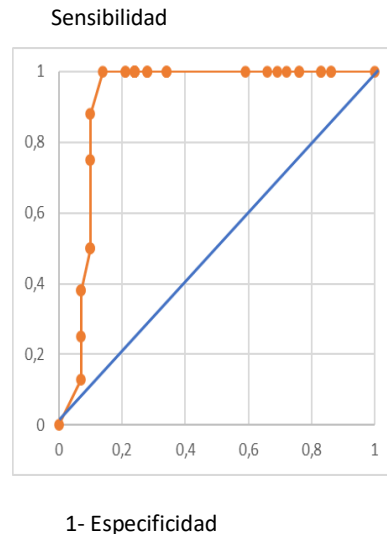


Figura 15G. T4NSS

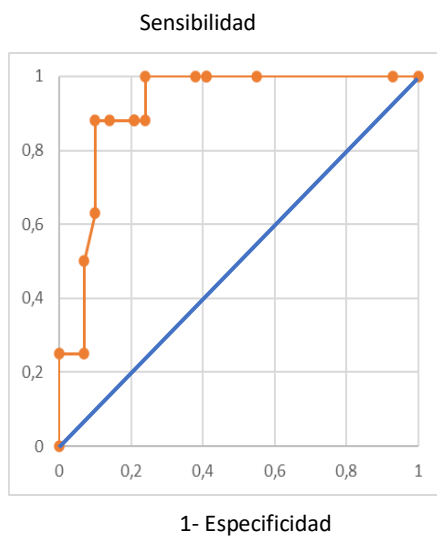
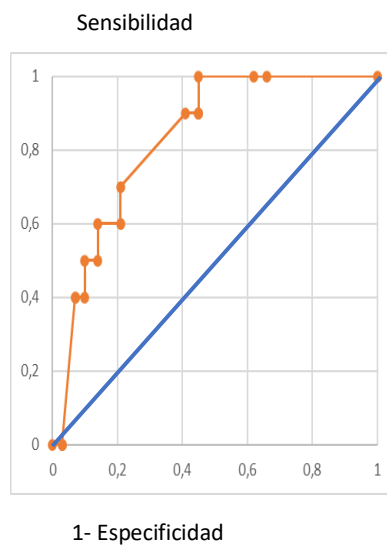


Figura 15H. PIE 25 µg/mL



Grupo A+B

Figura 15I. dpVNM2-6

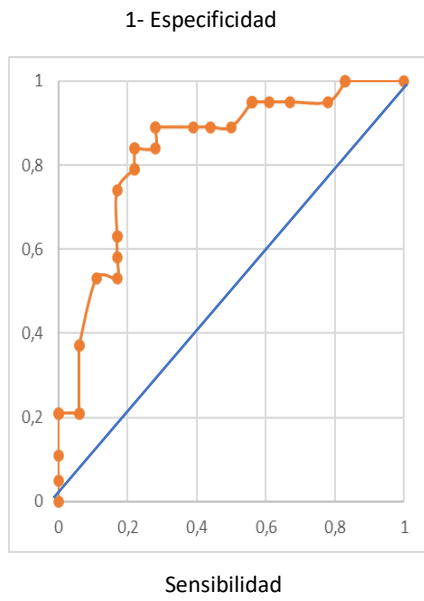


Figura 15J. EVA nasal

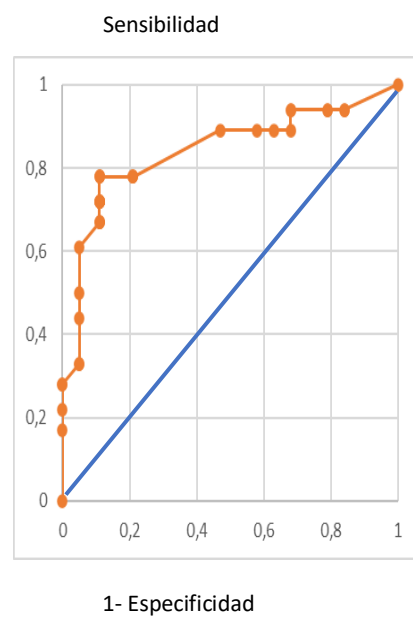


Figura 15K. T4NSS

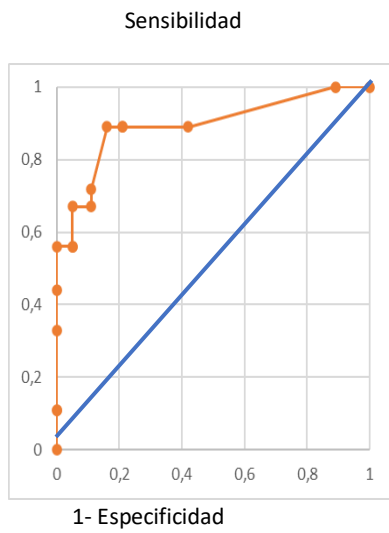
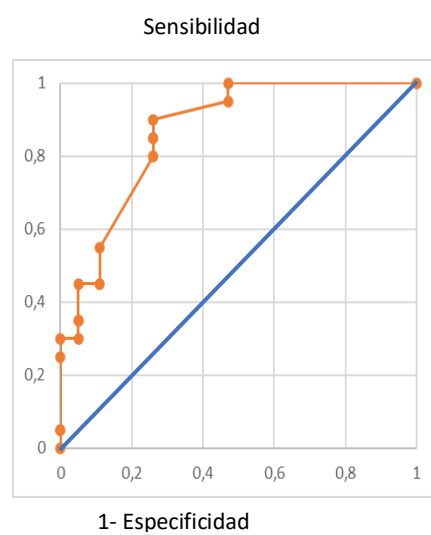


Figura 15L. PIE 25 µg/mL



5.2.7. Puntuación combinada de síntomas más obstrucción nasal y pruebas cutáneas basada en los puntos de corte obtenidos

Finalmente, basándonos en los puntos de corte obtenidos en el apartado anterior (dpVNM2-6, EVA nasal, T4NSS y pruebas cutáneas a la máxima concentración de 25 µg/mL), se creó una puntuación combinada de forma empírica, ya que en la actualidad no están descritos ningunos parámetros para la realización de una PPN en AA. Se realizó este ejercicio teórico con el objetivo de evaluar si esta puntuación combinada mejoraba los datos obtenidos con los criterios de la EAACI (1) y Eguiluz-Gracia et al (2).

Establecimos los siguientes criterios:

0 = negativo. En caso de no cumplir 3 o más criterios (puntos de corte).

1=moderadamente positivos. En caso de cumplir al menos 2 criterios (puntos de corte).

2=claramente positivos. En caso de cumplir 3 o más criterios (puntos de corte).

Indistintamente de los puntos de corte estudiados, en el análisis por puntuación combinada del grupo C vs A vs B vs X se encontraron diferencias estadísticamente significativas con un Chi-cuadrado de Pearson de $P=0.000$, permitiéndonos calcular la sensibilidad y especificidad a esta concentración, siendo de 68% y 50% respectivamente capaz de diferenciar grupo A, grupo B y grupo X. Analizando el grupo C vs A+B vs X, se encontraron igualmente diferencias estadísticamente significativas con un Chi-cuadrado de Pearson de $P=0.000$, permitiéndonos calcular la sensibilidad y especificidad siendo de 69% y 100% respectivamente, capaz de diferenciar grupo A+B de grupo X. Evidenciándose una clara mejoría en la especificidad en el análisis en conjunto del grupo A+B.

6. Discusión

El diagnóstico e identificación del fenotipo clínico en el que el AINE actúa como inductor de una reacción alérgica a alimentos por sensibilización LTP (FDNIH-LTP), y no como causante de una hipersensibilidad aguda medicamentosa, es uno de los desafíos que actualmente tenemos. Estudios previos han demostrado que la aplicación del algoritmo diagnóstico de hipersensibilidad a los AINEs sugerido por el grupo de trabajo en alergia medicamentosa de la EAACI (ENDA), descarta la implicación de un AINE en una sospecha de reacción de hipersensibilidad hasta en un 80% de los pacientes (104–107).

En el objetivo 1 hipotetizamos que un porcentaje de pacientes a los que se excluye una hipersensibilidad a AINEs o bien se establece un diagnóstico de anafilaxia por hipersensibilidad inmunológica o no inmunológica a AINE, de acuerdo a la aplicación de dicho algoritmo, son pacientes con una FDNIH-LTP. Un hallazgo destacable de nuestro estudio es que el 16% de los pacientes con sospecha de hipersensibilidad aguda a los AINEs fueron finalmente diagnosticados como FDNIH, siendo la LTP el principal alérgeno alimentario involucrado. La potencial asociación entre las reacciones sistémicas por alergia a LTP y la toma de AINEs ya habían sido sugeridas por Asero et al. (140) y Romano et al. (41), proponiendo la necesidad de evaluar la sensibilización a LTP en pacientes con reacción anafiláctica o presencia de urticaria/angioedema tras la toma de AINEs y al mismo tiempo la ingesta de alimentos con contenido en LTP. Los datos de nuestro estudio están en consonancia con los resultados de estudios previos, en los que se demuestra la alta prevalencia de alergia a los alimentos a expensas de una sensibilización a LTP asociada a AINEs como cofactores (18,20,79,140).

El hecho de descartar una hipersensibilidad a AINEs y confirmar una AA inducida por AINEs es de vital importancia para evitar nuevas reacciones. Las recomendaciones de prevención van enfocadas a la evitación de un / unos determinado -/os alimento -/os y no a la evitación sistemática de todos los AINEs, si el diagnóstico se confunde con una hipersensibilidad no inmunológica a AINEs, o a un grupo farmacológico concreto de AINEs si se confunde con una hipersensibilidad inmunológica a AINEs.

El abordaje inicial para el diagnóstico de una FDNIH-LTP es, en caso de haber consumido (o su sospecha) un alimento con contenido en LTP en el contexto de la reacción con sospecha de hipersensibilidad aguda al AINE, es objetivar una sensibilización a Pru p 3 por ser la LTP “dominante” en la gran mayoría de los pacientes con alergia a LTP. Los resultados de nuestro estudio demuestran que tanto la prueba intraepidérmica como la determinación de IgE a Pru p 3 son métodos válidos. Estos datos son de especial relevancia si consideramos que el estudio

de sensibilización a Pru p 3 no está disponible mediante extracto comercial para prueba intraepidérmica en la mayoría de los países del entorno europeo. El síndrome de LTP, entendido como alergia a diferentes fuentes alergénicas, por sensibilización a su LTP, no relacionadas taxonómicamente se ha considerado frecuentemente un fenómeno endémico en el sur de Europa y el área mediterránea. Sin embargo, diversos estudios ponen de manifiesto su “existencia” en otras áreas de Europa (22,24,25,141) y del continente americano, asiático y Oceanía (142). Por lo tanto, si entendemos que la AA por sensibilización a LTP es un problema “global”, con una mayor o menor prevalencia dependiendo del área geográfica, la inclusión del estudio sistemático de la AA por sensibilización a LTP ante la sospecha de una hipersensibilidad aguda a AINEs debería extenderse más allá de las áreas consideradas endémicas de la AA por sensibilización a LTP. Los alimentos implicados y las proteínas responsables en la FDNIH pueden variar dependiendo de las características geográficas, climatológicas y hábitos dietéticos de las diversas poblaciones estudiadas(18,79,84,110,111,139,141). En España (18,50,79) e Italia (20,41,140) las fuentes alergénicas más frecuentemente implicadas en este fenotipo de AA la constituyen una gran variedad de alimentos del reino vegetal siendo la LTP la principal proteína responsable; en Japón la mayoría de casos de FDNIH están relacionados con el trigo, siendo la omega-5 gliadina la proteína mayormente implicada (84,110).

Entrando en las características clínicas de los pacientes con FDNIH-LTP observadas en nuestro estudio, es interesante señalar que 25/36 (70%) de los pacientes con diagnóstico de FDNIH en los que el paciente recordaba los alimentos ingeridos, el AINE tenía un *efecto ON/OFF*; es decir, en ausencia del AINE el paciente no tenía ningún síntoma con el alimento implicado. De éstos, el 72% (18/25) estaban relacionado con una AA vegetales por sensibilización LTP y el 24% (6/25) restante se relacionaron con gliadina. Este *efecto ON/OFF* es ampliamente conocido, relacionándose principalmente con la anafilaxia por trigo (ω 5- gliadina) asociada a ejercicio físico (WDEIA) o a la toma de AINE (80). Sin embargo, hasta la fecha no existían datos sobre la caracterización clínica de la FDNIH-LTP. Este aspecto es de especial relevancia puesto que si ni el paciente ni el clínico sospecha de alergia al alimento implicado en la gran mayoría de los casos de FDNIH-LTP, si no se incluye el estudio de sensibilización a Pru p 3 de forma sistemática en un paciente con sospecha de hipersensibilidad aguda a AINE no se llegaría al diagnóstico final de FDNIH-LTP. La necesidad de este estudio sistemático en un paciente con sospecha inicial de hipersensibilidad aguda por AINE queda mucho más patente si tenemos en cuenta que 16/52 (30%) de los pacientes con FDNIH no recordaban el alimento implicado, presentaban sensibilización a Pru p 3 la gran mayoría de ellos y se les comprobó la tolerancia al AINE

implicado por lo que el episodio de anafilaxia o urticaria se atribuyó finalmente a una FDNIH-LTP.

Cabe señalar que una verdadera hipersensibilidad a los AINEs, también se puede presentar en pacientes con AA. Con respecto a esto, es importante comentar que dicha característica no es un resultado inesperado, dada la alta prevalencia de hipersensibilidad a los AINEs (101,107,143,144) y AA (145) en la población. En nuestro estudio se demuestra que en un 19% de los pacientes considerados “control”, es decir en los que se confirmó una hipersensibilidad a AINEs o bien se excluyó tanto ésta como la FDNIH, estaban sensibilizados a alimentos. Este hallazgo respalda la necesidad de una evaluación individualizada del paciente tanto de los AINEs como de los alérgenos alimentarios, en pacientes con sospecha de hipersensibilidad aguda a los AINEs.

Otro hallazgo interesante de nuestro estudio fue el observar que más del 90% de las reacciones ocurrieron durante las 3 primeras horas tras la toma del AINE, con un 75% de ellos más tarde de los 30'. No se observó ninguna reacción más allá de las 5 horas. Más del 50% de los pacientes en los que se llegó a un diagnóstico de hipersensibilidad al AINE de acuerdo con los criterios ENDA, la reacción apareció en los 30 primeros minutos. En nuestro conocimiento, es el primer estudio que analiza este aspecto en este fenotipo de AA (FDNIH).

Por otro lado, los resultados demostraron la existencia de una gran variedad de AINEs de distinto grupo farmacológico en los pacientes con FDNIH; incluso en algunos pacientes estaban implicados más de una familia de AINEs. Esta observación nos hace sugerir que el efecto cofactor del AINE se podría considerar como un efecto de “clase” relacionado con la inhibición de la COX, que es el mecanismo de acción compartido por todos los AINEs independientemente de su familia farmacológica/química (64,112). El mecanismo causante de este efecto sinérgico no está completamente estudiado, sugiriéndose dos teorías. Una de ellas se relaciona con la alteración en la permeabilidad intestinal producida por el AINE, induciendo un aumento en la absorción intestinal del alérgeno (84). La segunda teoría sugiere un efecto directo del AINE en la desgranulación IgE mediada de basófilos y mastocitos. Ambas teorías no son excluyentes puesto que unos de los principales reguladores de la permeabilidad intestinal son los mastocitos. La vía de la cicloxigenasa podría estar tanto involucrada en el efecto directo del AINE sobre la permeabilidad intestinal como en su rol regulador de la desgranulación de los mastocitos por una vía IgE mediada. En este sentido, nuestro grupo ya demostró con anterioridad la capacidad

del AINE no selectivo de COX para incrementar la desgranulación IgE mediada por LTP de basófilos, no observándose dicho efecto por un AINE altamente selectivo de COX-2 (64). Más recientemente, nuestro grupo también ha demostrado un efecto inhibitorio de la PGE₂ en la desgranulación IgE mediada por LTP de basófilos (112).

Entrando en el detalle de los diferentes AINEs involucrados destaca que el grupo de las pirazonas están más frecuentemente implicadas en el grupo con un diagnóstico final de hipersensibilidad a AINEs, de acuerdo a criterios ENDA, y más concretamente en la hipersensibilidad inmunológica aguda, siendo la anafilaxia la presentación clínica más frecuente. Dichos datos concuerdan con lo descrito en la literatura en la que se pone de manifiesto que en países con un gran consumo de pirazonas como es el caso de España o Italia, éstas son las más frecuentemente implicadas en las reacciones IgE mediadas por un AINE (144,146).

En cuanto a la identificación de factores de riesgo, el análisis multivariante realizado en nuestro estudio permitió identificar algunos factores relacionados con el fenotipo FDNIH. De este modo, la sensibilización a LTP o gliadina, el hecho de haber presentado una reacción anafiláctica y la implicación de un AINE diferente a la familia de las pirazonas, permitió clasificar correctamente el 95.3% de los pacientes con FDNIH, con una sensibilidad del 92% y especificidad del 96%. De este modo, en la evaluación de las reacciones de hipersensibilidad, podemos afirmar que la presencia de estos factores de riesgo, son puntos clave sobre el riesgo de presentar un fenotipo FDNIH siendo la LTP una sensibilización de especial importancia en nuestra zona.

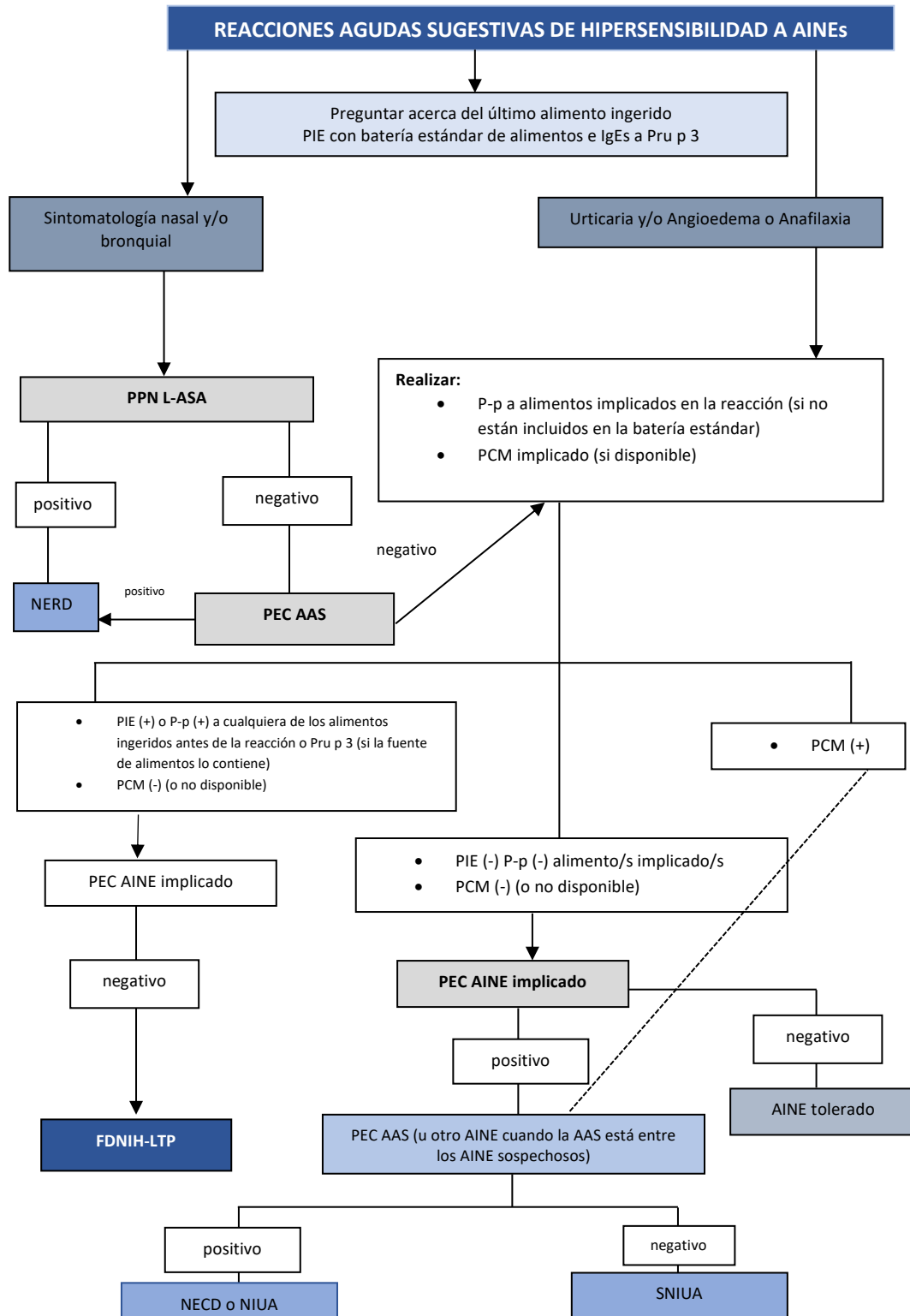
La gran prevalencia de AA por sensibilización a LTP en nuestra zona, es una característica que puede suponer una limitación para extrapolar los hallazgos de estos factores de riesgo en otras áreas con una menor presión de dicha AA, así como un mayor o menor consumo de unos determinados grupos de AINEs. Por otro lado, debe considerarse que otras fuentes alérgicas y proteínas pueden estar implicadas en la FDNIH y que dependiendo de la prevalencia de sensibilización de una determinada proteína en una determinada área y el que esté presente en la dieta habitual, pueda tener relevancia para incluirla en el estudio sistemático. Este pudiera ser el caso de la profilina o las PR-10 (homólogas de Bet-v1) puesto que también se han implicado en reacciones sistémicas dependientes y no dependientes de cofactor (147,148).

Otra limitación derivada de la metodología de nuestro estudio es la ausencia de pruebas de provocación oral con los alimentos en combinación con el AINE implicado en las reacciones con sospecha de hipersensibilidad medicamentosa. El diagnóstico de FDNIH se basa en un estudio exhaustivo con una anamnesis dirigida en la historia clínica, respaldado con las pruebas

intraepidérmicas y/o IgE específicas y la prueba de provocación con el AINE implicado. Sin embargo, estudios previos con el fenotipo de alergia a trigo inducida por ejercicio y/o AINE en los que se han realizado pruebas de provocación oral con trigo en combinación con cofactor (ejercicio y/o AINE), concluyen que solo se logra reproducir un 30% de los casos y que además implica un destacable riesgo para el paciente (65,80).

Finalmente, en base a la evidencia obtenida en el objetivo 1, proponemos un algoritmo diagnóstico (Figura 16) de los pacientes con fenotipo FDNIH-LTP, que necesitará ser validado en un futuro por otros grupos, con la inclusión de un mayor número de pacientes y con una representación más amplia del área geográfica.

Figura 16. Algoritmo diagnóstico propuesto para el fenotipo **FDNIH-LTP**: reacciones de hipersensibilidad inducidas por AINEs, dependientes de alimentos



AINEs: antiinflamatorios no esteroideos; PPN: prueba de provocación nasal; L-ASA: acetilsalicilato de lisina; NERD; enfermedad respiratoria exacerbada por AINE; PEC: prueba de exposición controlada; AAS: ácido acetilsalicílico; P-p: prick-prick; PCM: prueba cutánea a medicamentos; PIE: prueba cutánea intraepidérmica; NECD: enfermedad cutánea exacerbada por AINE; NIUA: urticaria/angioedema inducido por AINE; SNIUA: urticaria/angioedema/anafilaxia inducida por un AINE; “-“: negativo; “+“: positivo.

Como se ha comentado anteriormente la PPODCCP sigue siendo la prueba *gold standard* para el diagnóstico confirmatorio de la AA mediada por IgE (53,56). A pesar de ello, en la práctica clínica habitual no suele realizarse, por diversas razones: 1) requiere de mucho tiempo y recursos para llevarse a cabo, 2) requiere de una infraestructura adecuada y de personal cualificado, 3) en algunas ocasiones no podemos reproducir en el hospital la situación de la vida real y la más importante, 4) el riesgo de inducir reacciones alérgicas sistémicas graves principalmente en pacientes con historia de anafilaxia o shock anafiláctico (67,78). Por esto mismo, la búsqueda de nuevas herramientas diagnósticas es necesaria para ayudar a estratificar el riesgo antes la realización de una prueba de exposición oral controlada y/o reemplazarla en un futuro por métodos con menor riesgo para el paciente.

Con este propósito en el objetivo 2 se aborda la hipótesis de la utilidad de la prueba de PPNp para identificar los pacientes con alergia al melocotón por sensibilización a Pru p 3 y diferenciarlos de los sensibilizados asintomáticos. También se explora la utilidad de esta prueba de provocación para distinguir el fenotipo de los alérgicos que precisan de AINE para presentar una reacción sistémica de los pacientes alérgicos que no precisan del cofactor para desarrollarla. Es el primer estudio en el diagnóstico de AA utilizando la metodología de provocación en mucosas dirigido a analizar su utilidad para diferenciar pacientes con sensibilización subclínica de los alérgicos.

El abordaje de un diagnóstico de AA a partir de una PPN ha sido escasamente explorado, de acuerdo a lo revisado en la literatura. Hasta el momento actual, solo 4 estudios han valorado el papel de la PPN en AA: Clark et al., utilizaron la termografía facial para evaluar los resultados de las PPN con extracto de cacahuete (128), Marcucci et al. (127) estudian la reactividad cruzada entre polen y alimentos de origen vegetal, por medio de una prueba de exposición "cruzada" nariz-boca en pacientes con polinosis y SAO, Amlot evalúa la utilidad de la provocación nasal leche y huevo (126) y un 4º estudio realizado por nuestro grupo, en el cual se utiliza la provocación nasal con Pru p 3 con la finalidad de demostrar que en pacientes alérgicos a melocotón por sensibilización a su LTP es capaz de inducir síntomas de rinitis y causar una obstrucción nasal (34). Sin embargo, ninguno de estos estudios hace un abordaje como el actual, con la finalidad de diferenciar los 3 fenotipos de pacientes sensibilizados a Pru p 3: 1) los tolerantes a la ingesta de melocotón o con síntomas locales, 2) los que presentan reacción sistémica con la ingesta de melocotón inducida por la toma de un AINE y 3) los que presentan reacción sistémica con la ingesta de melocotón sin precisar AINE.

En lo referente a la concentración de Pru p 3 utilizada en la PPNp de nuestro estudio, encontramos que la concentración de 25 µg/mL es la concentración con mayor rendimiento para diferenciar los 3 fenotipos de pacientes. En los estudios en los que se han realizado pruebas de provocación nasal en AA, utilizan dosis mínimas del alérgeno alimentario: Clark et al. (128), utilizaron 100 µg de proteína de cacahuete para el diagnóstico de la alergia a cacahuete, concluyendo que una aplicación 100.000 veces menor a la utilizada en una prueba de exposición oral consigue resultados positivos sin que los pacientes presenten síntomas sistémicos. En el caso del estudio de Sánchez-López et al (34), la cantidad aplicada es de 2.5 µg de Pru p 3 por fosa nasal, dosis que supone el 1% de la cantidad media de Pru p 3 que contiene un melocotón (500 µg aproximadamente)(149). Esta concentración de 25 µg/mL permitió inducir a los 15 minutos de su aplicación nasal, una disminución del volumen nasal medio entre el 2-5cm del 30% en el grupo de los pacientes alérgicos a melocotón con sensibilización a Pru p 3 coincidiendo con un aumento significativo de síntomas evaluados mediante EVA nasal y el T4NSS. En la población “sana” (tolerantes a melocotón y no sensibilizados a Pru p 3) la provocación nasal fue estrictamente negativa. Dichos resultados son consistentes con los observados en el presente estudio: la aplicación de 100 microlitros en cada fosa nasal de una concentración de 25 µg/mL de Pru p 3 es capaz de inducir una obstrucción nasal y aparición de síntomas naso-oculares evaluados por EVA, T4NSS en la mayoría de los pacientes alérgicos a melocotón con síntomas sistémicos dependientes o no dependientes de AINEs (grupos A y B), siendo la prueba negativa en la población sana (Grupo C).

El análisis del perfil de seguridad de la prueba de exposición nasal con Pru p 3 fue abordado en el estudio de Sánchez-López et al (34), donde se incluyeron a pacientes con antecedente de anafilaxia por melocotón sensibilizados a Pru p 3, concluyendo que la prueba era muy segura. Dichos datos son consistentes con lo observado en el presente estudio donde también se incluyen a pacientes sensibilizados a Pru p 3 con antecedente de anafilaxia grave por ingesta de melocotón. Ningún paciente presentó ninguna reacción sistémica aguda ni retardada. De los síntomas que presentaron los pacientes destacan el prurito de velo palatino (55.17%), prurito retro auricular (10.34%) y prurito en mucosa labial (6.89%), la mayoría fueron presentados en pacientes del grupo B (alérgicos a Pru p 3 no dependiente de AINE), destacando que el prurito cutáneo y en mucosa labial solo lo presentaron los pacientes de este grupo.

Los resultados de las diferentes herramientas para evaluar la provocación nasal demuestran que tanto los valores de la evaluación de la obstrucción nasal por RAc (dpVNM2-6) como los de síntomas nasales evaluados con EVA nasal y T4NSS, son capaces de diferenciar el grupo de

sensibilización subclínica o con síntomas locales (grupo X) de los grupos con reacción sistémica (grupo A + grupo B). La EVA nasal y el T4NSS, son además, herramientas capaces de diferenciar el grupo que requiere del cofactor AINE para inducir una reacción sistémica (grupo A) del grupo independiente de cofactor (grupo B). Un aspecto a considerar, es que ninguno de los estudios que utilizaron la provocación nasal (34,126–128) valoraron los síntomas conjuntivales en la PPN. Aunque en nuestro estudio se muestra un aumento de los síntomas oculares en los 3 fenotipos, dichas escalas utilizadas discriminan menos que las escalas de síntomas nasales. Estos resultados demuestran que, la utilización de escalas subjetivas de valoración de síntomas de rinitis alérgica como la EVA nasal o el T4NSS, son herramientas suficientes para diferenciar los grupos de pacientes en la alergia a melocotón por sensibilización LTP y fácilmente aplicables en la práctica clínica habitual, sin la necesidad de utilizar una valoración objetiva de la obstrucción nasal.

Si analizamos como se comportan las pruebas intraepidérmicas con el extracto liofilizado nPrup 3 en las diferentes concentraciones empleadas en la PPNp, demostraron un aumento del diámetro mayor de la pápula conforme se aumentaba la concentración, con diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos de pacientes incluidos en el estudio. En el momento actual solo existe un estudio publicado por Amlot et al. (126) en 1985, en el que compararon el comportamiento de las pruebas intraepidérmicas a proteínas de leche y huevo respecto a la PPN.

Basándonos en los criterios de positividad de la provocación nasal en alergia respiratoria actualmente establecidos según EAACI y Eguiluz-Gracia *et al.* (1,2), únicamente la puntuación total de síntomas nasales (T4NSS) ha demostrado ser capaz de diferenciar pacientes con reacciones sistémicas con y sin cofactor asociado, de los pacientes con sensibilización asintomática o con sintomatología leve (criterio de resultado claramente positivo de acuerdo a EACCI), aumentando ligeramente la significación estadística si analizamos de forma conjunta el grupo alérgico con manifestaciones sistémicas, es decir grupo A+B, con una alta sensibilidad y moderada especificidad. Si comparamos nuestros resultados respecto a estos parámetros, con los estudios publicados con la PPN en AA, ninguno de ellos utiliza los criterios establecidos en alergia respiratoria, para establecer como positiva una PPN en el diagnóstico de AA.

En la actualidad no están descritos ningunos parámetros ni puntos de corte para la interpretación de los resultados de una PPN en AA. Un aspecto innovador y que forma parte de uno de los objetivos, es la búsqueda de dichos puntos de corte en la evaluación de obstrucción nasal (dpVNM2-6cm), síntomas nasales (EVA nasal, T4NSS) y pruebas intraepidérmicas con Pru

p 3 con la concentración de nPru p 3 (25 µg/mL), que permitan diagnosticar a cada paciente de acuerdo con el fenotipo que pertenece. Los resultados muestran puntos de corte en todos los parámetros evaluados que son capaces de identificar si el paciente pertenece al grupo C (control sano), al grupo A o B (alérgicos a melocotón con reacción sistémica dependiente y no dependiente de AINE) sin discriminar en cual de ellos y al grupo B. Sin embargo, los valores encontrados en el grupo X (sensibilizados asintomáticos o con reacción local) y A no permiten discriminar si un paciente pertenece a dichos grupos. Con el propósito de identificar a los pacientes del grupo X y A, de forma empírica se realizó una puntuación combinada de los valores de los distintos parámetros. La puntuación obtenida de la combinación de 3 de los 4 parámetros evaluados, con independencia de cuáles son, identifican a los pacientes de acuerdo a los 3 fenotipos (A, B y X), con una sensibilidad del 68% y especificidad del 58%, aumentando la especificidad al 100% si se analiza grupo A y B de forma conjunta.

En el presente, solo hay un estudio publicado en alergia respiratoria en el que encuentran un punto de corte óptimo para establecer una PPN positiva en la RAc (dpVNM2-6 de $\geq 24.48\%$), siendo un meta-análisis publicado en enero 2021 por Eguiluz-Gracia et al. (2). En AA ningún estudio que ha utilizado la PPN ha establecido puntos de corte para su diagnóstico. Según los resultados de nuestro estudio, en la dpVNM2-6 en RAc y el aumento de síntomas en la EVA nasal y el T4NSS, observamos que los resultados no son comparables con los criterios de positividad actualmente establecidos en alergia respiratoria según EAACI y los puntos de corte según Eguiluz-Gracia et al. Por ejemplo, los valores de disminución del % del VNM (2-6 cm) en la PPN en rinitis alérgica, se muestran valores con mayor disminución, es decir, más obstrucción nasal que los observados en los pacientes de nuestro estudio. Sin embargo, para validar los resultados encontrados se requerirá de un mayor número de pacientes.

Una limitación en el objetivo 2 es el hecho de no comparar la PPNp con la PPODCCP siendo la prueba *gold standard* en el diagnóstico de AA (53,56). No realizamos las PPO porque los pacientes del grupo A y grupo B presentaban una historia compatible con anafilaxia, o riesgo de presentarla, con la ingesta de melocotón. Las diferentes guías de consenso de diagnóstico de AA refieren que si existe una historia compatible e inequívoca de anafilaxia con el alimento implicado en la reacción y se corrobora con estudio complementario (prueba cutánea y/o IgE específica), se diagnostica de AA sin necesidad de la realización de la PPO debido al riesgo vital del paciente, especialmente en aquellos que hayan presentado un episodio reciente de anafilaxia (5,7). Aunque no hemos comparado la PPNp con la PPODCCP esta nueva herramienta,

puede permitir la posibilidad de estratificar los riesgos antes de la realización de una PPO, con especial consideración en aquellos pacientes con reacción sistémica grave como anafilaxia en contexto de alergia a melocotón mediada por LTP.

Otra de las limitaciones del estudio en referencia al objetivo 2 fue la selección del *grupo FDNH-LTP* (grupo A), el cual no fue fácil de seleccionar. En primer lugar, por el hecho de que un mismo paciente en un contexto de síndrome de LTP puede presentar una combinación de diferentes fenotipos dependiendo del alimento implicado y, en segundo lugar, un mismo paciente puede presentar una combinación de más de 1 cofactor, en una misma reacción o diversos cofactores en diferentes reacciones (50,76). 4 de los 10 pacientes reclutados en el grupo A, también presentaban reacción sistémica con otros alimentos vegetales en ausencia de cofactor. Todo ello pone de manifiesto la complejidad de la AA por LTP y la heterogeneidad de ésta.

Además de la dificultad previamente descrita en el reclutamiento del grupo A, también lo fue el reclutamiento del grupo X. Inicialmente uno de nuestros objetivos de este proyecto era la selección de pacientes del grupo X, es decir, prueba cutánea intraepidérmica y/o sIgE a Pru p 3 positiva y tolerancia de la ingesta de piel de melocotón, para evaluar su comportamiento en la PPNp; dicha selección no fue posible. De los 9 pacientes reclutados, un 55% (5/9 pacientes) presentaban UC con piel de melocotón y evitaban la ingesta de piel de melocotón, aunque todos ellos toleraban la pulpa de melocotón. En la edad adulta, a diferencia de la edad pediátrica, de acuerdo a lo referido en la literatura, es difícil encontrar pacientes sensibilizados asintomáticos a Pru p 3. Diversos estudios refieren que los rangos de sensibilización asintomática a Pru p 3 dependiendo del estudio van del 33% al 62% (25,45,46,150), siendo los rangos de sensibilización asintomática mayores en la edad pediátrica. Sin embargo, muchos de estos estudios no especifican si la tolerancia al melocotón es con piel o con pulpa. Un estudio español recientemente publicado por M Ruano-Zaragoza et al. (50) en pacientes adultos, comentan que solo una minoría de pacientes sensibilizados a Pru p 3, toleraban melocotón sin especificar si la tolerancia era con piel de melocotón.

Finalmente, una gran fortaleza de este estudio es el abrir una puerta para futuros proyectos de investigación en los cuales se pueda utilizar la PPN en evaluación de la AA. Una prueba que en el ámbito de la AA por sensibilización a LTP dependiente y no dependiente de AINEs ha demostrado ser segura y de fácil realización, requiriendo una dosis mínima del alérgeno y

demostrando ser capaz de discriminar, con una sensibilidad y especificidad aceptables, los pacientes de los diferentes fenotipos incluidos que permiten, por lo menos, estratificar el riesgo para una provocación oral.

7. Conclusiones

Las conclusiones que se desprenden son:

1. En la anafilaxia en contexto con la toma de un AINE, si el AINE no es una pirazolona, el diagnóstico más probable es una FDNIH, siendo la LTP el alérgeno mayoritariamente implicado.
2. Debido a la alta prevalencia de sensibilización a LTP en nuestra área geográfica, su evaluación debe formar parte del algoritmo diagnóstico de la hipersensibilidad aguda por AINEs.
3. No incluir el estudio de sensibilización a LTP en el algoritmo diagnóstico de la hipersensibilidad aguda por AINEs, puede inducir a falsos diagnósticos, con los consiguientes errores en los consejos terapéuticos.
4. La PPNp en el diagnóstico de la AA por melocotón secundaria a sensibilización a LTP, es una técnica de exposición *in vivo* con una mínima dosis de alérgeno, segura y de fácil realización y evaluación.
5. De acuerdo con los criterios de positividad descritos en la provocación nasal específica en alergia respiratoria, los síntomas valorados mediante el T4NSS demuestran ser una herramienta útil para fenotipar los diferentes grupos de pacientes con alergia a melocotón en contexto de sensibilización a LTP.
6. Los puntos de corte identificados a partir de los resultados de dpVNM2-6, de la EVA de síntomas nasales y del T4NSS obtenidos en la provocación nasal y de las pruebas intraepidérmicas con Pru p 3, permiten estratificar el riesgo de la provocación oral en pacientes con sospecha de alergia a melocotón por sensibilización a Pru p 3 dependiente y no dependiente de AINE.
7. Los datos obtenidos deben ser validados con futuros estudios en los que se comparen los resultados de la provocación nasal con Pru p 3 con la prueba de exposición oral, con la finalidad de incorporar la PPN en el algoritmo diagnóstico de la alergia a melocotón en contexto de sensibilización a Pru p 3.

8. Bibliografía

1. Augé J, Vent J, Agache I, Airaksinen L, Campo Mozo P, Chaker A, et al. EAACI Position paper on the standardization of nasal allergen challenges. *Allergy*. 2018;73(8):1597–608.
2. Eguiluz-Gracia I, Testera-Montes A, Salas M, Perez-Sanchez N, Ariza A, Bogas G, et al. Comparison of diagnostic accuracy of acoustic rhinometry and symptoms score for nasal allergen challenge monitoring. *Allergy*. 2021;76(1):371–5.
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. Johansson SGO, Hourihane JOB, Bousquet J, Brujnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*. 2001;56(9):813–24.
5. Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, Jaffe R, et al. Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Report of the NIAID-Sponsored Expert Panel. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(0):1–58.
6. Sampson HA, Aceves S, Bock SA, James J, Jones S, Lang D, et al. Food allergy: A practice parameter update - 2014. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(5):1016-1025.
7. Boyce JA, Assa'a 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. *Nutrition*. 2011;27(2):253–67.
8. Sicherer SH, Allen K, Lack G, Taylor SL, Donovan SM, Oria M. Critical Issues in Food Allergy: A National Academies Consensus Report. Vol. 140, *PEDIATRICS*. 2017.
9. Scurlock AM, Jones SM. Advances in the approach to the patient with food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;141(6):2002–14.
10. Grundy J, Matthews S, Bateman B, Dean T, Arshad SH. Rising prevalence of allergy to peanut in children: Data from 2 sequential cohorts. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(5):784–9.
11. Gupta R, Sheikh A, Strachan D, Anderson HR. Increasing hospital admissions for systemic allergic disorders in England: Analysis of national admissions data. *Br Med J*. 2003;327(7424):1142–3.
12. Fernández Rivas M. Food allergy in *Alergológica*-2005. *J Investig Allergol Clin Immunol*.

- 2009;19(SUPPL. 2):37–44.
13. Rona RJ, Keil T, Summers C, Gislason D, Zuidmeer L, Sodergren E, et al. The prevalence of food allergy: A meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120(3):638–46.
 14. 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*. 2014;69(8):992–1007.
 15. Ojeda PM, Sastre J, Olaguibel JM, Chivato T. Alergológica 2015: A national survey on allergic diseases in the adult Spanish population. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2018;28(3):151–64.
 16. Cuesta-Herranz J, Lazaro M, Figueredo E, Igea JM, Umpierrez A, De-Las-Heras M. Allergy to plant-derived fresh foods in a birch- and ragweed-free area. *Clin Exp Allergy*. 2000;30(10):1411–6.
 17. Rodrigues-Alves R, Lopez A, Pereira-Santos MC, Lopes-Silva S, Spínola-Santos A, Costa C, et al. Clinical, anamnestic and serological features of peach allergy in Portugal. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009;149(1):65–73.
 18. 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.
 19. Zuidmeer L, Goldhahn K, Rona RJ, Gislason D, Madsen C, Summers C, et al. The prevalence of plant food allergies: A systematic review. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(5).
 20. Asero R, Piantanida M, Pinter E, Pravettoni V. The clinical relevance of lipid transfer protein. *Clin Exp Allergy*. 2018;48(1):6–12.
 21. Gao ZS, Yang ZW, Wu SD, Wang HY, Liu ML, Mao WL, et al. Peach allergy in China: A dominant role for mugwort pollen lipid transfer protein as a primary sensitizer. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(1).
 22. Ma S, Nie L, Li H, Wang R, Yin J. Component-Resolved diagnosis of peanut allergy and its possible origins of sensitization in China. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016;169(4):241–8.
 23. Singh AB, Mathur C. An aerobiological perspective in allergy and asthma. *Asia Pac Allergy*. 2012;2(3):210.
 24. Faber MA, Van Gasse AL, Decuyper II, Uyttendaele A, Sabato V, Hagendorens MM, et al.

- IgE-reactivity profiles to nonspecific lipid transfer proteins in a northwestern European country. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(2):679–82.
25. Mothes-Luksch N, Raith M, Stingl G, Focke-Tejkl M, Razzazi-Fazeli E, Ziegelmayer R, et al. Pru p 3, a marker allergen for lipid transfer protein sensitization also in Central Europe. *Allergy*. 2017;72(9):1415–8.
 26. 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.
 27. Fernández-Rivas M, Cuevas M. Peels of Rosaceae fruits have a higher allergenicity than pulps. *Clin Exp Allergy*. 1999;29(9):1239–47.
 28. García-Casado G, Crespo JF, Rodríguez J, Salcedo G. Isolation and characterization of barley lipid transfer protein and protein Z as beer allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Oct;108(4):647–9.
 29. Schäd SG, Trcka J, Vieths S, Scheurer S, Conti A, Bröcker EB, et al. Wine anaphylaxis in a German patient: IgE-mediated allergy against a lipid transfer protein of grapes. *Int Arch Allergy Immunol*. 2005;136(2):159–64.
 30. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, De Vries SC, Gautier MF, Ciurana CLF, et al. Lipid transfer protein: A pan-allergen in plant-derived foods that is highly resistant to pepsin digestion. *Int Arch Allergy Immunol*. 2001;124(1–3):67–9.
 31. Van Ree R. Clinical importance of non-specific lipid transfer proteins as food allergens. *Biochem Soc Trans*. 2002;30(6):910–3.
 32. 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.
 33. Sánchez-Monge R, Lombardero M, García-Sellés FJ, Barber D, Salcedo G. Lipid-transfer proteins are relevant allergens in fruit allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;103(3 II):514–9.
 34. 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.
 35. 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.
36. Pastorello EA, Robino AM. Clinical role of lipid transfer proteins in food allergy. *Mol Nutr Food Res*. 2004;48(5):356–62.
 37. Pastorello EA, Pravettoni V, Farioli L, Ispano M, Fortunato D, Monza M, et al. Clinical role of a lipid transfer protein that acts as a new apple- specific allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;104(5):1099–106.
 38. 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.
 39. Asero R, Antonicelli L, Arena A, Bommarito L, Caruso B, Crivellaro M, et al. EpidemAAITO: Features of food allergy in Italian adults attending allergy clinics: A multi-centre study. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(4):547–55.
 40. Asero R. Peach-induced contact urticaria is associated with lipid transfer protein sensitization. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;154(4):345–8.
 41. Romano A. Possible interaction among hypersensitivity to lipid transfer proteins, chronic urticaria, and hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2011;43(1):3–4.
 42. 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*. 2018;50(4):156–62.
 43. Fernández-Rivas M, González-Mancebo E, Rodríguez-Pérez R, Benito C, Sánchez-Monge R, Salcedo G, et al. Clinically relevant peach allergy is related to peach lipid transfer protein, Pru p 3, in the Spanish population. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112(4):789–95.
 44. Ciprandi G, del Barba P, Silvestri M, Barberi S, Tosca MA. Pru p 3 sensitization in children with allergy to *Parietaria pollens*. *Acta Biomed*. 2019;90(2):265–8.
 45. Skypala IJ, Cecchi L, Shamji MH, Scala E, Till S. Lipid Transfer Protein allergy in the United Kingdom: Characterization and comparison with a matched Italian cohort. *Allergy*. 2019;74(7):1340–51.
 46. Pascal M, Vazquez-Ortiz M, Folque MM, Jimenez-Feijoo R, Lozano J, Dominguez O, et al. Asymptomatic LTP sensitisation is common in plant-food allergic children from the Northeast of Spain. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2016;44(4):351–8.
 47. Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Scibilia J, Mascheri A, Borgonovo L, et al. Pru p 3-

- sensitized italian peach-allergic patients are less likely to develop severe symptoms when also presenting ige antibodies to pru p 1 and pru p 4. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011;156(4):362–72.
48. González-Mancebo E, Fernández-Rivas M. Outcome and safety of double-blind, placebo-controlled food challenges in 111 patients sensitized to lipid transfer proteins. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(6):1507–8.
49. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S. Relationship between peach lipid transfer protein specific IgE levels and hypersensitivity to non-Rosaceae vegetable foods in patients allergic to lipid transfer protein. *Ann Allergy, Asthma Immunol.* 2004 Feb;92(2):268–72.
50. Ruano-Zaragoza M, Somoza ML, Jiménez-Rodríguez TW, Soriano-Gomis V, González-Delgado P, Esteban-Rodríguez A, et al. Lipid Transfer Protein Sensitization: Risk of Anaphylaxis and Molecular Sensitization Profile in Pru p 3-Sensitized Patients. *Int Arch Allergy Immunol.* 2021;182(5):425–32.
51. Decuyper II, Pascal M, Van Gasse AL, Mertens C, Díaz-Perales A, Araujo G, et al. Performance of basophil activation test and specific IgG4 as diagnostic tools in nonspecific lipid transfer protein allergy: Antwerp-Barcelona comparison. *Allergy.* 2020 Mar;75(3):616–24.
52. Jankiewicz A, Aulepp H, Baltés W, Bögl KW, Dehne LI, Zuberbier T, et al. Allergic sensitization to native and heated celery root in pollen-sensitive patients investigated by skin test and ige binding. *Int Arch Allergy Immunol.* 1996;111(3):268–78.
53. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;141(1):41–58.
54. Sampson HA, Albergo R. Comparison of results of skin tests, RAST, and double-blind, placebo-controlled food challenges in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1984;74(1):26–33.
55. Carnés J, Fernández-Caldas E, Gallego MT, Ferrer A, Cuesta-Herranz J. Pru p 3 (LTP) content in peach extracts. *Allergy.* 2002;57(11):1071–5.
56. 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.* 2012;130(6):1260–74.
57. Anvari S, Miller J, Yeh C, Davis CM. IgE-Mediated Food Allergy. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2018;52(2):244–60.
58. Rø AD, Saunes M, Smidesang I, Storrø O, Øien T, Moen T, et al. Agreement of specific IgE and skin prick test in an unselected cohort of two-year-old children. *Eur J Pediatr.* 2012;171(3):479–84.
59. Sampson HA, Ho DG. Relationship between food-specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;100(4):444–51.
60. Cromwell O, Häfner D, Nandy A. Recombinant allergens for specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(4):865–72.
61. Santos AF, Alpan O, Hoffmann HJ. Basophil activation test: Mechanisms and considerations for use in clinical trials and clinical practice. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2021;76(8):2420–32.
62. Lester MR. Basophil Activation Test Discriminates Between Allergy and Tolerance in Peanut-Sensitized Children. Vol. 136, *Pediatrics.* 2015. p. S245–S245.
63. Kleine-Tebbe J, Erdmann S, Knol EF, MacGlashan DW, Poulsen LK, Gibbs BF. Diagnostic tests based on human basophils: Potentials, pitfalls and perspectives. *Int Arch Allergy Immunol.* 2006;141(1):79–90.
64. 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.
65. 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.* 2015;135(4):977–84.
66. Niggemann B, Beyer K. Pitfalls in double-blind, placebo-controlled oral food challenges. *Allergy.* 2007;62(7):729–32.
67. Manea I, Ailenei E, Deleanu D. Overview of food allergy diagnosis. *Clujul Med.* 2016;89(1):5–10.
68. 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.
69. 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.
70. Simons FER, Ebisawa M, Sanchez-Borges M, Thong BY, Worm M, Tanno LK, et al. 2015 update of the evidence base: World Allergy Organization anaphylaxis guidelines. *World Allergy Organ J*. 2015;8(1):1–16.
71. Worm M, Eckermann O, Dölle S, Aberer W, Beyer K, Hawranek T, et al. Triggers and treatment of anaphylaxis: An analysis of 4000 cases from Germany, Austria and Switzerland. *Dtsch Arztebl Int*. 2014;111(21):367–75.
72. Kim SY, Kim MH, Cho YJ. Different clinical features of anaphylaxis according to cause and risk factors for severe reactions. *Allergol Int*. 2018;67(1):96–102.
73. 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.
74. 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.
75. Wölbing F, Fischer J, Köberle M, Kaesler S, Biedermann T. About the role and underlying mechanisms of cofactors in anaphylaxis. *Allergy*. 2013 Aug;67(11):1085–92.
76. Bogas G, Muñoz-Cano R, Mayorga C, Casas R, Bartra J, Pérez N, et al. Phenotyping peach-allergic patients sensitized to lipid transfer protein and analysing severity biomarkers. *Allergy*. 2020;75(12):3228–36.
77. Bartra J, Araujo G, Muñoz-Cano R. Interaction between foods and nonsteroidal anti-inflammatory drugs and exercise in the induction of anaphylaxis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2018;18(4):310–6.
78. Worm M, Francuzik W, Renaudin JM, Bilo MB, Cardona V, Scherer Hofmeier K, et al. Factors increasing the risk for a severe reaction in anaphylaxis: An analysis of data from The European Anaphylaxis Registry. *Allergy*. 2018;73(6):1322–30.
79. Cardona V, Luengo O, Garriga T, Labrador-Horrillo M, Sala-Cunill A, Izquierdo A, et al. Co-factor-enhanced food allergy. *Allergy*. 2012;67(10):1316–8.

80. Scherf KA, Brockow K, Biedermann T, Koehler P, Wieser H. Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2016;46(1):10–20.
81. Dua S, Ruiz-Garcia M, Bond S, Durham SR, Kimber I, Mills C, et al. Effect of sleep deprivation and exercise on reaction threshold in adults with peanut allergy: A randomized controlled study. *J Allergy Clin Immunol*. 2019;144(6):1584–94.
82. Romano A, di Fonso M, Giuffreda F, Quaratino D, Papa G, Palmieri V, et al. Diagnostic work-up for food-dependent, exercise-induced anaphylaxis. *Allergy*. 1995;50(10):817–24.
83. Muñoz-Cano R, San Bartolome C, Casas-Saucedo R, Araujo G, Gelis S, Ruano-Zaragoza M, et al. Immune-Mediated Mechanisms in Cofactor-Dependent Food Allergy and Anaphylaxis: Effect of Cofactors in Basophils and Mast Cells. *Front Immunol*. 2021;11(February):1–8.
84. Matsuo H, Morimoto K, Akaki T, Kaneko S, Kusatake K, Kuroda T, et al. Exercise and aspirin increase levels of circulating gliadin peptides in patients with wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2005;35(4):461–6.
85. 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.
86. Doña I, Pérez-Sánchez N, Eguiluz-Gracia I, Muñoz-Cano R, Bartra J, Torres MJ, et al. Progress in understanding hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy*. 2019;0–3.
87. Kowalski ML, Asero R, Bavbek S, Blanca M, Blanca-Lopez N, Bochenek G, et al. Classification and practical approach to the diagnosis and management of hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy*. 2013;68(10):1219–32.
88. Ortega N, Doña I, Moreno E, Audicana MT, Barasona MJ, Berges-Gimeno MP, et al. Practical guidelines for diagnosing hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2014;24(5):308–23.
89. Szczeklik A, Nizankowska E, Mastalerz L, Szabo Z. Analgesics and asthma. *Am J Ther*. 2002;9(3):233–43.
90. Szczeklik A, Gryglewski RJ, Czaizniawska-Mysik G. Relationship of Inhibition of Prostaglandin Biosynthesis by Analgesics to Asthma Attacks in Aspirin-sensitive Patients. *Br Med J*. 1975;1(5949):67–9.

91. Sampson AP, Cowburn AS, Sladek K, Adamek L, Nizankowska E, Szczeklik A, et al. Profound overexpression of leukotriene c4 synthase in bronchial biopsies from aspirin-intolerant asthmatic patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 1997;113(1–3):355–7.
92. Roca-Ferrer J, Garcia-Garcia FJ, Pereda J, Perez-Gonzalez M, Pujols L, Alobid I, et al. Reduced expression of COXs and production of prostaglandin E2 in patients with nasal polyps with or without aspirin-intolerant asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(1):66–72.
93. Campo P, Ayuso P, Salas M, Plaza MC, Cornejo-García JA, Doña I, et al. Mediator release after nasal aspirin provocation supports different phenotypes in subjects with hypersensitivity reactions to NSAIDs. *Allergy*. 2013;68(8):1001–7.
94. Farooque SP, Lee TH. Aspirin-sensitive respiratory disease. *Annu Rev Physiol*. 2009;71:465–87.
95. Mullol J, Boyce J, Dahlén SE, Dahlén B, Picado C, Bobolea I. Eicosanoid dysregulation and type 2 inflammation in AERD. *J Allergy Clin Immunol*. 2021;148(5):1157–60.
96. Gómez E, Blanca-Lopez N, Torres MJ, Requena G, Rondon C, Canto G, et al. Immunoglobulin E-mediated immediate allergic reactions to dipyrone: Value of basophil activation test in the identification of patients. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(8):1217–24.
97. Rutkowski K, Nasser SM, Ewan PW. Paracetamol hypersensitivity: Clinical features, mechanism and role of specific IgE. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;159(1):60–4.
98. Posadas SJ, Pichler WJ. Delayed drug hypersensitivity reactions - New concepts. *Clin Exp Allergy*. 2007;37(7):989–99.
99. Rozieres A, Vocanson M, Saïd B Ben, Nosbaum A, Nicolas JF. Role of T cells in nonimmediate allergic drug reactions. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009;9(4):305–10.
100. Gomes ER, Demoly P. Epidemiology of hypersensitivity drug reactions. *Curr Opin Intern Med*. 2005;4(5):487–94.
101. Kowalski ML, Makowska JS, Blanca M, Bavbek S, Bochenek G, Bousquet J, et al. Hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) - classification, diagnosis and management: review of the EAACI/ENDA(®) and GA2LEN/HANNA*. *Allergy*. 2011 Jul;66(7):818–29.
102. Stevenson DD, Sanchez-Borges M, Szczeklik A. Classification of allergic and pseudoallergic reactions to drugs that inhibit cyclooxygenase enzymes. *Ann Allergy*,

- Asthma Immunol. 2001 Sep;87(3):177–80.
103. Kowalski ML, Woessner K, Sanak M. Approaches to the diagnosis and management of patients with a history of nonsteroidal anti-inflammatory drug-related urticaria and angioedema. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(2):245–51.
 104. Caimmi S, Caimmi D, Bousquet PJ, Demoly P. How can we better classify NSAID hypersensitivity reactions? - Validation from a large database. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;159(3):306–12.
 105. Arikoglu T, Aslan G, Yildirim DD, Batmaz SB, Kuyucu S. Discrepancies in the diagnosis and classification of nonsteroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity reactions in children. *Allergol Int*. 2017;66(3):418–24.
 106. Viola M, Rumi G, Valluzzi RL, Gaeta F, Caruso C, Romano A. Assessing potential determinants of positive provocation tests in subjects with NSAID hypersensitivity. *Clin Exp Allergy*. 2011;41(1):96–103.
 107. Nissen C V., Bindslev-Jensen C, Mortz CG. Hypersensitivity to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Classification of a danish patient cohort according to EAACI/ENDA guidelines. *Clin Transl Allergy*. 2015;5(1).
 108. MONERET-VAUTRIN D. Facteurs de risque d’anaphylaxie alimentaire sévère Rôle confirmé de certaines classes de médicaments. *MS Médecine Sci*. 2010;26:719–23.
 109. Kohno K, Matsuo H, Takahashi H, Niihara H, Chinuki Y, Kaneko S, et al. Serum gliadin monitoring extracts patients with false negative results in challenge tests for the diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Allergol Int*. 2013;62(2):229–38.
 110. Matsukura S, Aihara M, Sugawara M, Kunimi Y, Matsuki M, Inoue Y, et al. Two cases of wheat-dependent anaphylaxis induced by aspirin administration but not by exercise. *Clin Exp Dermatol*. 2010;35(3):233–7.
 111. Paul E, Gall HM, Müller I, Mölle R. Dramatic augmentation of a food allergy by acetylsalicylic acid. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;105(4):844.
 112. Muñoz-Cano RM, Casas R, Araujo G, de la Cruz C, Martin M, Roca-Ferrer J, et al. Prostaglandin E2 decreases basophil activation in patients with food-induced anaphylaxis. *Allergy*. 2021 May 21;76(5):1556–9.
 113. Aschan G, Ettner B. Nasal obstruction at provocation experiments in patients with Hay-fever. *Acta Otolaryngol*. 1958;49(S140):91–100.

114. Malm L, Van Wijk RG, Bachert C. Guidelines for nasal provocations with aspects on nasal patency, airflow, and airflow resistance. *Rhinology*. 2000;38(1):1–6.
115. Scadding G, Hellings P, Alobid I, Bachert C, Fokkens W, Van Wijk RG, et al. Diagnostic tools in Rhinology EAACI position paper. *Clin Transl Allergy*. 2011;1(1):1–39.
116. Dordal MT, Lluch-Bernal M, Sánchez MC, Rondón C, Navarro A, Montoro J, et al. Allergen-specific nasal provocation testing: Review by the rhinoconjunctivitis committee of the Spanish society of allergy and clinical immunology. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(1):1–12.
117. Shamji MH, Kappen JH, Akdis M, Jensen-Jarolim E, Knol EF, Kleine-Tebbe J, et al. Biomarkers for monitoring clinical efficacy of allergen immunotherapy for allergic rhinoconjunctivitis and allergic asthma: an EAACI Position Paper. *Allergy*. 2017;72(8):1156–73.
118. Yepes-Nuñez JJ, Bartra J, Muñoz-Cano R, Sánchez-López J, Serrano C, Mullol J, et al. Assessment of nasal obstruction: Correlation between subjective and objective techniques. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2013;41(6):397–401.
119. Bousquet PJ, Combescure C, Neukirch F, Klossek JM, Méchin H, Daures JP, et al. Visual analog scales can assess the severity of rhinitis graded according to ARIA guidelines. *Allergy*. 2007;62(4):367–72.
120. Demoly P, Bousquet PJ, Mesbah K, Bousquet J, Devillier P. Visual analogue scale in patients treated for allergic rhinitis: An observational prospective study in primary care. *Clin Exp Allergy*. 2013;43(8):881–8.
121. Garcia GJM, Hariri BM, Patel RG, Rhee JS. The relationship between nasal resistance to airflow and the airspace minimal cross-sectional area. *J Biomech*. 2016;49(9):1670–8.
122. NATHAN R, ECCLES R, HOWARTH P, STEINSVAG S, TOGIAS A. Objective monitoring of nasal patency and nasal physiology in rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2005 Mar;115(3):S442–59.
123. Carney AS, Bateman ND, Jones NS. Reliable and reproducible anterior active rhinomanometry for the assessment of unilateral nasal resistance. *Clin Otolaryngol Allied Sci*. 2000;25(6):499–503.
124. Vogt K, Wernecke KD, Behrbohm H, Gubisch W, Argale M. Four-phase rhinomanometry: a multicentric retrospective analysis of 36,563 clinical measurements. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2016;273(5):1185–98.

125. Agache I, Bilò M, Braunstahl GJ, Delgado L, Demoly P, Eigenmann P, et al. In vivo diagnosis of allergic diseases - Allergen provocation tests. *Allergy*. 2015;70(4):355–65.
126. Amlot PL, Urbanek R, Youlten LJ., Kemeny M, Lessof MH. Type I Allergic to milk and egg proteins: Comparison of Skin Prick test with Nasal, Bucca and Gastric Provocation Test. *Int Arch Allergy Immunol*. 1985;77:171–3.
127. Marcucci F, Frati F, Sensi L, Cara GD, Novembre E, Bernardini R, et al. Evaluation of food-pollen cross-reactivity by nose-mouth cross-challenge in pollinosis with oral allergy syndrome. *Allergy*. 2005;60(4):501–5.
128. Clark A, Mangat J, King Y, Islam S, Anagnostou K, Foley L, et al. Thermographic imaging during nasal peanut challenge may be useful in the diagnosis of peanut allergy. *Allergy*. 2012;67(4):574–6.
129. Pelikan Z. Nasal Response to Food Ingestion Challenge. *Arch Otolaryngol Neck Surg*. 1988;114(5):525–30.
130. Sastre J, Lluch-Bernal M, Quirce S, Arrieta I, Lahoz C, Del Amo A, et al. A double-blind, placebo-controlled oral challenge study with lyophilized larvae and antigen of the fish parasite, *Anisakis simplex*. *Allergy*. 2000;55(6):560–4.
131. Krane Kvenshagen B, Jacobsen M, Halvorsen R. Can conjunctival provocation test facilitate the diagnosis of food allergy in children? *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2010;38(6):321–6.
132. Lindvik H, Lødrup Carlsen KC, Mowinckel P, Navaratnam J, Borres MP, Carlsen KH. Conjunctival provocation test in diagnosis of peanut allergy in children. *Clin Exp Allergy*. 2017;47(6):785–94.
133. Ruëff F, Friedl T, Arnold A, Kramer M, Przybilla B. Release of mast cell tryptase into saliva: A tool to diagnose food allergy by a mucosal challenge test? *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;155(3):282–8.
134. Vazquez-Ortiz M, Ludman S, Aston A, Noimark L, Turner PJ. Lip Dose Challenges in Food Allergy: Current Practice and Diagnostic Utility in the United Kingdom. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7(8):2770–4.
135. Pickert CN, Lorentz A, Manns MP, Bischoff SC. Colonoscopic allergen provocation test with rBet v 1 in patients with pollen-associated food allergy. *Allergy*. 2012;67(10):1308–15.
136. Bischoff SC, Mayer J, Wedemeyer J, Meier PN, Zeck-Kapp G, Wedi B, et al. Colonoscopic

- allergen provocation (COLAP): a new diagnostic approach for gastrointestinal food allergy. *Gut*. 1997 Jun 1;40(6):745–53.
137. Reiman H, Ring J, Ultsch B, Wendt P. Intra-gastral provocation under endoscopic control (IPEC) in food allergy: mast cell and histamine changes in gastric mucosa. *Clin Allergy*. 1985 Mar;15(2):195–202.
 138. Arslan G, Ødegaard S, Elsayed S, Florvaag E, Berstad A. Food allergy and intolerance: response to intestinal provocation monitored by endosonography. *Eur J Ultrasound*. 2002;15(1–2):29–36.
 139. Vidal C, Bartolomé B, Rodríguez V, Armisén M. Prawns , Barnacles , and Nonsteroidal Anti- In fl ammatory Drugs : Effect Modi fi ers or Interaction ? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007;17(2):113–8.
 140. Asero R. Hypersensitivity to lipid transfer protein is frequently associated with chronic urticaria. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2011;43(1):19–21.
 141. Cant AJ, Gibson P, Dancy M. Food hypersensitivity made life threatening by ingestion of aspirin. *Br Med J*. 1984;288(6419):755–6.
 142. Skypala JJ, Asero R, Barber D, Cecchi L, Diaz Perales A, Hoffmann-Sommergruber K, et al. Non-specific lipid-transfer proteins: Allergen structure and function, cross-reactivity, sensitization, and epidemiology. *Clin Transl Allergy*. 2021;11(3).
 143. Demir S, Olgac M, Unal D, Gelincik A, Colakoglu B, Buyukozturk S. Evaluation of hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs according to the latest classification. *Allergy*. 2015;70(11):1461–7.
 144. Pérez-Sánchez N, Doña I, Bogas G, Salas M, Testera A, Cornejo-García JA, et al. Evaluation of Subjects Experiencing Allergic Reactions to Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: Clinical Characteristics and Drugs Involved. *Front Pharmacol*. 2020;11(April):1–10.
 145. Lyons SA, Burney PGJ, Ballmer-Weber BK, Fernandez-Rivas 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.
 146. Doña I, Blanca-López N, Cornejo-García JA, Torres MJ, Laguna JJ, Fernández J, et al. Characteristics of subjects experiencing hypersensitivity to non-steroidal anti-inflammatory drugs: Patterns of response. *Clin Exp Allergy*. 2011;41(1):86–95.
 147. Röseler S, Balakirski G, Plange J, Wurpts G, Baron JM, Megahed M, et al. Anaphylaxie auf PR-10-Proteine (Bet v1-Homologe). *Hautarzt*. 2013;64(12):890–2.

148. 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.
149. Borges JP, Jauneau A, Brulé C, Culerrier R, Barre A, Didier A, et al. The lipid transfer proteins (LTP) essentially concentrate in the skin of Rosaceae fruits as cell surface exposed allergens. *Plant Physiol Biochem*. 2006;44(10):535–42.
150. Codreanu F, Collignon O, Roitel O, Thouvenot B, Sauvage C, Vilain AC, et al. A novel immunoassay using recombinant allergens simplifies peanut allergy diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;154(3):216–26.

9. Anexos

Received: 9 January 2020 | Revised: 10 October 2020 | Accepted: 19 October 2020
 DOI: 10.1111/all.14689



ORIGINAL ARTICLE

Food Allergy and Gastrointestinal Disease



Food-dependent NSAID-induced hypersensitivity (FDNIH) reactions: Unraveling the clinical features and risk factors

Jaime Sánchez-López^{1,2} | Giovanna Araujo^{1,2} | Victoria Cardona^{3,4,5} |
 Alba García-Moral^{1,2} | Rocío Casas-Saucedo^{1,2,5} | Mar Guilarte^{3,4,5} |
 María José Torres^{5,6,7} | Inmaculada Doña^{5,6,7} | Cesar Picado^{1,2,8} |
 Mariona Pascal^{2,5,9} | Rosa Muñoz-Cano^{1,2,5} | Joan Bartra^{1,2,5}

¹Department of Pulmonology and Respiratory Allergy, Allergy Section, Hospital Clinic Barcelona, Barcelona, Spain

²Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

³Department of Internal medicine, Allergy Section, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

⁴Vall d'Hebron Research Institute, Allergy Research Unit, Barcelona, Spain

⁵Spanish Network for Allergy—RETIC de Asma, Reacciones adversas y Alérgicas (ARADyAL), Madrid, Spain

⁶Allergy Unit, Hospital Regional Universitario de Málaga, Málaga, Spain

⁷Allergy Research Group, Instituto de Investigación Biomédica de Málaga-IBIMA, Málaga, Spain

⁸CIBERES, CIBER of Respiratory Diseases, Madrid, Spain

⁹Immunology Department, Centre de Diagnòstic Biomèdic (CDB), Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain

Correspondence

Rosa Muñoz-Cano, Department of Pulmonology and Respiratory Allergy, Allergy Section, Hospital Clinic Barcelona, Carrer de Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Spain.
 Email: rmunoz@clinic.cat

Funding information

Ministerio de Economía y Competitividad – Instituto de Salud Carlos III, Grant/Award Number: FIS-PI11/01326 and FIS-PI16/00696

Abstract

Background: In up to 70%–80% of patients with a suspected non-steroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity (NSAIDH), challenge tests with the culprit drug yield negative results. On the other hand, there could be a NSAIDH overdiagnosis when anaphylaxis is the clinical manifestation. We hypothesize that some negative NSAID challenge tests and an overdiagnosis of NSAIDH occur in patients with food-dependent NSAID-induced hypersensitivity (FDNIH).

Methods: We studied 328 patients with a suspected acute NSAIDH. FDNIH was diagnosed in patients meeting all the following: (1) tolerance to the food ingested more temporarily closed before the reaction, later the episode, (2) respiratory or cutaneous symptoms or anaphylaxis related to NSAID, (3) positive skin prick test to foods and/or specific IgE to food allergens (Pru p 3, Tri a 19, Pen a 1) involved in the reaction, and (4) negative oral provocation test to the culprit NSAID.

Results: 199 patients (60%) were diagnosed with NSAIDH and 52 (16%) with FDNIH. Pru p 3 was involved in 44 cases (84.6%) and Tri a 19 in 6 cases (11%). FDNIH subjects were younger ($p < .001$), with a higher prevalence of rhinitis ($p < .001$)

Abbreviations: EAACI, European Academy of Allergy and Clinical Immunology; ENDA, European Network for Drug Allergy; FA, food allergy; FDNIH, food-dependent NSAID-induced hypersensitivity; LTP, lipid transfer protein; NECD, NSAID-exacerbated cutaneous disease; NERD, NSAID-exacerbated respiratory disease; NIUA, NSAID-induced urticaria/angioedema; NSAID, non-steroidal anti-inflammatory drug; NSAIDH, non-steroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity; OPT, oral provocation test; OR, odds ratio; sIgE, specific immunoglobulin E; SNIRD, single NSAID-induced delayed hypersensitivity; SNIUAA, single NSAID-induced urticaria/angioedema or anaphylaxis; SPT, skin prick test; WDEIA, wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis.

© 2020 EAACI and John Wiley and Sons A/S. Published by John Wiley and Sons Ltd.

Allergy. 2020;00:1–13.

wileyonlinelibrary.com/journal/all | 1

and previous food allergy ($p < .001$), together with a higher proportion of subjects sensitized to pollens ($p < .001$) and foods ($p < .001$). Using just four variables (Prup 3 sensitization, Tri a 19 sensitization, anaphylaxis, and any NSAID different from pyrazolones), 95.3% of cases were correctly classified, with a sensitivity of 92% and specificity of 96%.

Conclusion: Evaluation of FDNIH should be included in the diagnostic workup of NSAIDH.

KEYWORDS

drug allergy, food allergy, non-steroidal anti-inflammatory drug

1 | INTRODUCTION

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are considered the most common drugs involved in hypersensitivity reactions in susceptible individuals.^{1,2} According to the latest classification for NSAID hypersensitivity from the European Network for Drug Allergy (ENDA),^{1,2} NSAID hypersensitivity is classified as follows: (1) non-immunologically mediated (cross-reactive), hypersensitivity reactions to NSAIDs which includes NSAID-exacerbated respiratory disease (NERD), NSAID-exacerbated cutaneous disease (NECD), and NSAID-induced urticaria/angioedema (NIUA), and (2) immunologically mediated (non-cross-reactive) hypersensitivity reactions to NSAIDs, which include the single NSAID-induced urticaria/angioedema or anaphylaxis (SNIUAA) and the single NSAID-induced delayed hypersensitivity (SNIRD) reactions.^{1,2}

Diagnosis of hypersensitivity reactions to NSAIDs is based on carefully obtained information of the patient's history with description of symptoms, timing of reaction, previous episodes potentially related to NSAIDs, and underlying chronic comorbidities (rhinosinusitis, nasal polyps, asthma, and urticaria). In most cases, a drug provocation test remains the gold standard to confirm the diagnosis of NSAID hypersensitivity. However, provocation tests are not recommended in case of severe anaphylaxis.^{1,2}

Interestingly, in most studies, only 20%–30% of patients with a previous history suggesting a NSAID-induced hypersensitivity reaction are finally classified according to the ENDA workup approach.^{3–8} The clinical history has a low predictive value because it may not include factors that can contribute to the reaction. This may be the case of FDNIH patient.

Food allergy (FA) has a prevalence of 2%–5% of the general population^{9,10} and accounts for one-third to one-half of anaphylaxis cases.^{11–13} FA frequently depends on other concomitant factors (cofactors) such as the intake of NSAIDs or exercise. The World Allergy Organization, American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, American College of Allergy, Asthma and Immunology, and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) Guidelines highlight the relevance of these cofactors in FA.^{10,14} Indeed, cofactors in general are reported to be relevant in 20%–30%

of anaphylactic episodes.^{15–18} NSAID intake has been reported to be present in up to 22% of food-induced anaphylactic shocks, representing a risk factor with an odds ratio higher than 11.¹⁹ In some FDNIH reactions, NSAID is the only co-factor required to trigger or enhance the symptoms, such as urticaria or anaphylaxis.^{20–26} The spectrum of foods involved in FDNIH is wide (wheat, nuts, seeds, vegetables, shellfish, peanut),^{19–29} highlighting wheat, plant foods, and shellfish as the most prevalent foods involved. Foods involved in FDNIH also seem to have a geographical pattern. Whereas in Japan gliadins from wheat are involved in most cases,^{20,26,27} lipid transfer proteins (LTPs) from plant foods have been recently reported as major culprit allergens in the Mediterranean area.^{21–24}

The aims of this study were (1) to unravel FDNIH when NSAID hypersensitivity is suspected, (2) to define the clinical characteristics / clinical phenotype of FDNIH, and (3) to establish risk factors involved in FDNIH to differentiate these cases among all patients with suspected NSAID hypersensitivity.

2 | PATIENTS AND METHODS

2.1 | Patients

A prospective multicenter study was carried out in the Hospital Clinic and Hospital Vall d'Hebron, both in Barcelona, Spain. The study was approved by the Hospital Clinic and the Hospital Vall d'Hebron Ethics Committees, and written informed consent was obtained from all patients. All consecutive adults ($n = 328$) with a suspicion of acute NSAID hypersensitivity referred to our allergy departments from June 2012 to July 2015 were recruited. Recommendations from ENDA guidelines were followed to diagnose NSAID hypersensitivity.^{1,2} In order to identify FDNIH, all patients underwent a thorough evaluation of food allergy as shown in Figure 1. As an exception to ENDA guidelines, patients referred for anaphylaxis were challenged with the NSAID involved in the reaction when FDNIH was suspected based on the detection of IgE sensitization to any food ingested before the reaction. At the end, patients were diagnosed with FDNIH when they met all the following criteria:

- Mild reaction (oral allergy syndrome or contact urticaria) or tolerance to the foods involved in the reaction—after the episode—in the absence of the NSAID.
 - Systemic allergic reaction—urticaria, angioedema, bronchospasm, or anaphylaxis; the latter, according to EAACI guideline definition²—in the context of food and NSAID intake (maximum interval of 6 h between food ingestion and reaction and 8 h between NSAID intake and reaction).
 - Positive skin prick test (SPT) and/or specific IgE (sIgE) to any food ingested before the reaction and/or gliadin, LTP, or tropomyosin.^{20–22,25}
 - Negative oral provocation test (OPT) to the NSAID/NSAIDs involved in the reaction/s.
- In the cases identified as FDNIH, it was also investigated whether patients had full tolerance to the suspected food involved in the

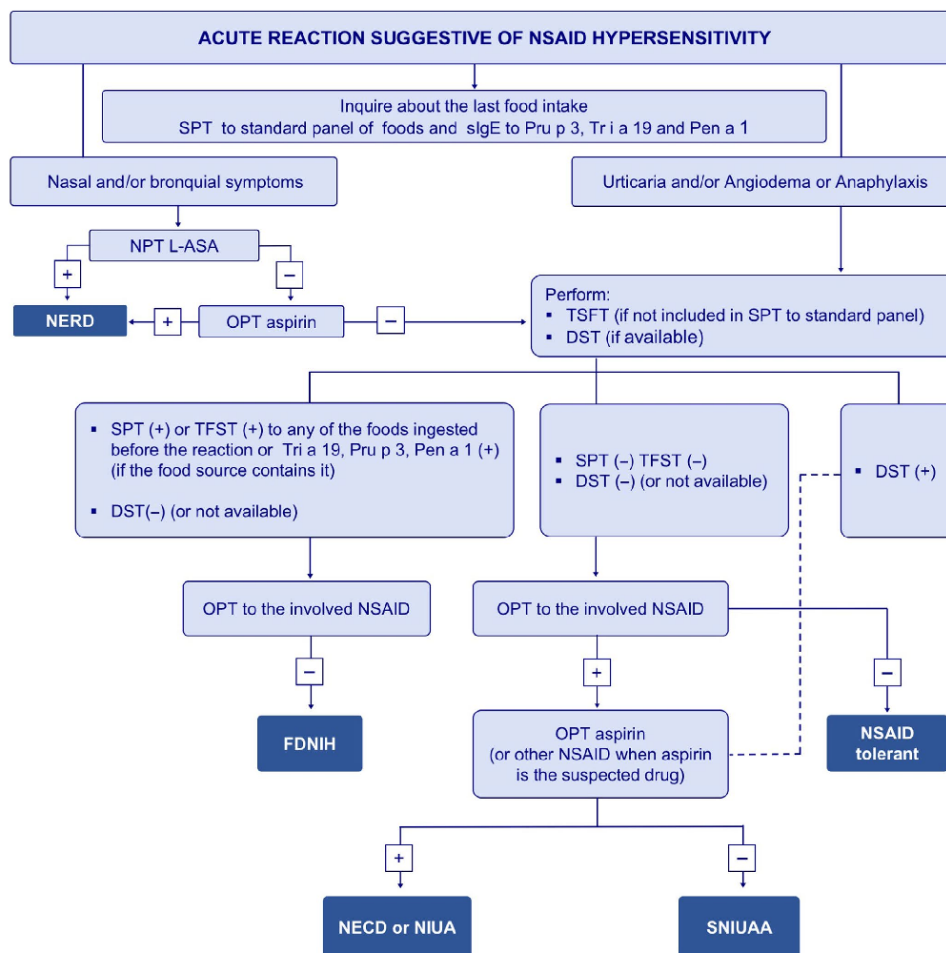


FIGURE 1 Diagnostic algorithm. DST, drug skin test; FDNIH, food-dependent NSAID-induced hypersensitivity; NECD, NSAID-exacerbated cutaneous disease; NERD, NSAID-exacerbated respiratory disease; NIUA, NSAID-induced urticaria/angioedema; NPT, nasal provocation test; NSAID, non-steroidal anti-inflammatory drug; OPT, oral provocation test; Pru p 3 (peach lipid transfer protein); Pen a 1 (shrimp tropomyosin); SNIUAA, single NSAID-induced urticaria/angioedema or anaphylaxis; SPT, skin prick test; Tri a 19, w-5 gliadin; TFST, targeted food skin prick test

absence of an NSAID. These cases were considered as "ON/OFF effect," that is, in the presence of a cofactor, a systemic reaction occurs, while in the absence of it there is full tolerance of the same food.

For the purpose of the study, all patients in whom FDNIH was ruled out were considered as the control group.

Demographic data, previous food allergy based on a consistent clinical history, previous reactions related to NSAIDs, eliciting NSAID, and reported symptoms with the NSAID and related comorbidities (chronic rhinosinusitis, asthma, urticaria) were collected. Reported symptoms were classified as urticaria and/or angioedema, rhinitis, and/or asthma and anaphylaxis, grouping them into 3 categories, cutaneous, respiratory, and anaphylaxis to facilitate interpretation of data. In the clinical evaluation of any suspected reaction with an NSAID, patient was asked about different time intervals around the reaction: (a) time between NSAID and reaction, (b) time between last food intake and reaction, and (c) time between NSAID and last food intake were also evaluated. In the case of patients with multiple episodes, all the available data were considered for the evaluation of frequencies and time interval means. In cases where the patient could not remember the data, it was not taken into account.

2.2 | Skin prick tests

SPTs were performed with a panel of commercial allergenic extracts (Laboratorios LETI, Madrid, Spain), of the most prevalent food allergens in adults in our area (peach, apple, melon, kiwifruit, walnut, hazelnut, peanut, maize, wheat, soy, chickpea, lentil, mustard, lettuce, tomato, green bean, cod, shrimp, anisakis), gliadin (5 mg/ml) (Laboratorios LETI, Madrid, Spain), and Pru p 3 (100 µg/ml) (Bial-Aristegui, Bilbao, Spain). Foods not included in the standard panel and involved in the reaction were also tested with a commercial extract if available or by prick-prick. SPTs were also performed with a panel of commercial glycerinated allergenic extracts of the most prevalent aeroallergens in our area, including biologically standardized allergenic extracts of *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum*, *Blatella orientalis*, *Lolium perenne*, *Parietaria judaica*, *Artemisia vulgaris*, *Olea europea*, *Platanus acerifolia*, *Cupressus arizonica*, *Betula verrucosa*, dog and cat dander (Laboratorios LETI, Madrid, Spain), and palm profilin (Pho d 2, 50 µg/ml) (ALK-Abelló, Madrid, Spain). SPTs were performed on the volar surface of the forearm using a 1-mm single-peak lancet (ALK-Abelló, Spain). Histamine hydrochloride (10 mg/ml) and saline solution were used as positive and negative controls, respectively. The SPT was considered positive if the diameter was greater than 3 mm compared with the negative control.

2.3 | Specific IgE determination

The individual sera of all recruited patients were tested for IgE to rTri a 19, rPru p 3, and rPen a 1/nPen m 1 by means of immunoassay

(ImmunoCAP; Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Sweden) or allergen microarray immunoassay (ImmunoCAP ISAC; Thermo Fisher scientific, Uppsala, Sweden). The cutoff value for sIgE was 0.10 kU/L (ImmunoCAP) and 0.3 ISAC Standardized Unit (ISU) (ImmunoCAP ISAC). These allergens were chosen for their implication as cofactors in FDNIH.

2.4 | NSAID evaluation tests

Skin tests with the drugs involved were carried out, if available, following ENDA recommendations.^{1,2} In case of a negative skin test, an oral provocation test (OPT) with the drug involved was performed according to ENDA recommendations.^{1,2} In the case that different NSAIDs were involved in different episodes, the patient was challenged with all of them with at least 1-week interval.

2.5 | Statistical analysis

Continuous variables were expressed as means and standard deviations (SD), and categorical variables were expressed as frequencies (percentages). Continuous data were compared using the Mann-Whitney *U* test, and categorical data were compared using the chi-square test (and Fisher's exact test when appropriate). A logistic regression analysis was used to examine the relationships between the presence of FDNIH and multiple risk factors. All variables collected in the database were analyzed as potential risk factors in the logistic regression analysis. Statistical significance was taken as a 2-sided *p*-value of less than .05. SPSS software (version 18.0; SPSS, Chicago, Ill) was used in the analyses.

3 | RESULTS

Following the current ENDA recommendations and our specific approach to explore FDNIH, the 328 patients were finally diagnosed as follows: 97 NIUA (29.6%), 20 NECD (6.1%), 40 SNIUAA (12.2%), 42 NERD (12.8%), and 52 FDNIH (15.9%). In 77 cases (23.5%), both FDNIH and NSAID hypersensitivity were ruled out. As indicated before, all patients in whom FDNIH was ruled out were considered as the control group. Demographic characteristics showed that FDNIH subjects were significantly younger than the control group ($p < .001$), with a higher prevalence of rhinitis ($p < .001$) and previous history of food allergy ($p < .001$), together with a higher proportion of subjects sensitized to pollens ($p < .001$), animal dander ($p = .013$), and foods ($p < .001$; Table 1).

Sixty-seven patients were initially considered as candidates to be FDNIH due to the potential implication of both food and NSAID in the reaction. Among them, 15 cases were ruled out because of a positive test (cutaneous or OPT) with the culprit NSAID. LTP (14 cases, 93.3%) and gliadin (1 case, 6.7%) were the food allergens involved in these patients.

TABLE 1 Demographic characteristics of FDNIH subjects and comparison with the control group

	FDNIH		Control		p-value
	n	%	n	%	
Total no	52	19	276	81	
Gender, female	35	67.3	173	62.7	>.05
Age (y), mean (SD)	42.31 (11)		47.95 (15)		<.001
Rhinitis	38	73.1	136	49.8	<.001
Asthma	10	19.2	68	24.9	>.05
Previous diagnosis of FA ^a	45	86.5	29	10.6	<.001
SPT sensitization	53	100	139	50.9	<.001
Inhalants, any	44	82.7	131	48	<.001
Pollen	35	67.3	74	27.4	<.001
HDM	26	50	97	35.9	>.05
Animal dander	15	28.8	39	14.4	.013
Moulds	5	9.6	12	4.4	>.05
Food, any	51	98.1	52	19	<.001
Positive food SPTs, mean (SD)	4.94 (3)		0.42 (1.3)		<.001

Abbreviations: FDNIH, food-dependent NSAID-induced hypersensitivity; SD, standard deviation; SPT, skin prick test; FA, food allergy. These bold values correspond to the statistically significant ones.

^aBy consistent clinical history.

3.1 | Food elicitors

The food elicitors were varied, mainly fruits, vegetables, and wheat. Overall, LTP was involved in 44/52 cases (84.6%) and gliadin in 6/52 cases (11%). Additionally, among the LTP-sensitized subjects, 75% were sensitized to 3 or more LTP-containing foods and 50% were also sensitized to plane tree and/or mugwort pollen, pointing out the importance that LTP syndrome may have in FDNIH. Pru p 3 and gliadin sensitization were detected by SPT in all cases except for one gliadin case that was detected by serum sIgE. Although in 16 cases food was not clearly identified by the patient, LTP sensitization was detected in 15, and in 5 of them the clinical manifestation was anaphylaxis. Additionally, these patients did not introduce any change in their diet and did not present any new reaction in the absence of NSAID, and according to the inclusion criteria, all of them tolerated later the NSAID involved in the reaction. Although Pen a 1 sensitization was detected in 15 out of 328 patients included, none of them were related to FDNIH in our population. A full description of all FDNIH cases, including the NSAID/s and foods involved, the symptoms during the reaction, and the individual sensitization profile, is provided in Table 2.

3.2 | ON/OFF effect

The "ON/OFF effect" refers to the situation where patients fully tolerate a food when ingested alone but manifest a systemic reaction after its ingestion in the presence of a cofactor. Data about the food/s involved were available in 36 out of 52 patients. Among them, twenty-five (69.4%) were ON/OFF, while the others had mild

symptoms when ingesting the causative food alone. Among the ON/OFF-effect group, six (24%) were induced by gliadin and 18 cases (72%) by an LTP-containing food. In one case, neither gliadin nor LTP was the responsible allergen. It is important to note that all patients allergic to gliadin behaved as ON/OFF. On the other hand, most LTP-allergic patients that had an ON/OFF effect with a certain plant food had also mild symptoms (oral and contact urticaria) with other plant foods.

3.3 | NSAIDs involved

Propionic acids were the NSAIDs most frequently involved in FDNIH reactions (79%), followed by aspirin (25%). Aryl acetic acids, pyrazolone, and paracetamol were significantly less involved in FDNIH than in the control group ($p = .018$, $p < .001$, and $p = .016$, respectively) (Table 3). Regarding the number of different NSAID families involved in the reactions per patient, it was significantly lower in FDNIH (1.25 ± 0.6) compared with the control group (1.95 ± 1 ; $p < .001$).

3.4 | Symptoms

Regarding symptoms, 27/52 (52%) of FDNIH cases presented with anaphylaxis, while in the control group anaphylaxis only represented 9.4% (26/276; $p < .001$). These episodes of anaphylaxis were mediated by LTP in 23 cases (85.2%) and by gliadin in 2 (7.4%). No FDNIH patients had respiratory symptoms as isolated manifestation (Table 2). On the other hand, the most frequent manifestations in the

TABLE 2 Clinical characteristics of FDNIH patients: NSAID involved, food involved, symptoms, and IgE sensitizations

Patient	NSAIDs	No. of episodes	Symptoms	Foods involved	'ON/OFF effect'	Previous food allergy	Food SPTs	Aeroallergen SPTs	Pru p 3 sIgE ^a	Tri a 19 sIgE ^b	Pen a 1 /Pen m 1 sIgE ^c
1	Aspirin	1	AF	pn	No	Yes	Pru p 3, pe, pn	hdm, gr, ol	4.54	0.01	0.01
2	Aspirin	1	AF	mz-based snack	Yes	Yes	Pru p 3, mz, cp	hdm	3.45	0.01	0.01
3	Ibuprofen	1	AF	gb, ap	No	Yes	Pru p 3, ap	hdm, gr, ol, cd	0.24	0.01	0.01
4	Ibuprofen	1	U	wh, wm	Yes	Yes	Pru p 3, hz, kw, mz, pn, mu, wm, wh	mw	12.90	0.01	0.01
5	Ibuprofen	1	AF	le	Yes	Yes	Pru p 3, kw, le, mz, gb	pl, cy	1.09	0.01	0.01
6	Dexketoprofen	1	U	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, mz, cp, wh, pn	hdm	3.22	0.02	0.01
7	Ibuprofen, aspirin	2	U	wh	Yes	No	Sh, gl	hdm	0.02	0.75	0.01
8	Diclofenac	1	AF	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, pe, hz, mz, mu	mw, pl, ol, cy	0.27	0.01	0.01
9	Ibuprofen	1	U	ap	Yes	Yes	Pru p 3, ap	-	0.35	0.01	0.01
10	Aspirin	1	AF	Veggies	No	Yes	Pru p 3, mz, kw, hz, pe, le	-	0.26	0 ISU	0 ISU
11	Naproxen	4	AE	Veggies	No	Yes	Pru p 3, mz, le	hdm	na	na	n/a
12	Aspirin	1	AE	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, hz, kw, pe, mz, wh, pn, mu	hdm, dd, cd, gr, wp, mw, pl	17.7	na	0.01
13	Ibuprofen	2	U/AE	wh	Yes	Yes	gl, ak, sh	hdm	na	0.5	0.01
14	Ibuprofen	4	AE	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, pe, hz, pn, gb	-	4.44	0.01	0.01
15	Ibuprofen	1	AF	to, le	No	Yes	Pru p 3, hz, kw, pe, mz, cp, pn, gb, le, sh	hdm, ol, cd, dd	5.3 ISU	0 ISU	0 ISU
16	Ibuprofen, aspirin, paracetamol, diclofenac	4	AF	wh	Yes	Yes	gl	-	0.01	30.8	0.01
17	Ibuprofen, pyrazolone	2	U/AE	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, pe, kw	gr, pl, wp	0.29	0.01	0.01
18	Aspirin	1	U/AE	ch	Yes	Yes	Pru p 3, ch, pe, ml, sh	hdm	0.46	0.01	0.01
19	Ibuprofen	1	U/AE	wn	Yes	Yes	Pru p 3, hz, pn, wn, pe, so, gb	pl, wp, gr, cd, dd, ol, mw	0.6 ISU	0 ISU	0 ISU
20	Dexketoprofen	1	U	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, wh, mz, hz, pn, wn	mw	13	0.01	0.01

(Continues)

TABLE 2 (Continued)

Patient	NSAIDs	No. of episodes	Symptoms	Foods involved	"ON/OFF effect"	Previous food allergy	Food SPTs	Aeroallergen SPTs	Pru p 3 sIgE ^a	Tri a 19 sIgE ^a	Pen a 1 /Pen m 1 sIgE ^a
21	Aspirin	1	U	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, pe, kw, mz, pn, sh, gb	-	11.30	0.01	0.01
22	Ibuprofen	2	AE	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, sh	hdm, alt, ol	1.79	0.01	0.11
23	Ibuprofen, dextetopropfen	2	AF	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, hz, pe	hdm, mw, pl	1.19	0.01	0.01
24	Ibuprofen, dextetopropfen	2	AF	wh	Yes	No	gl	hdm, pl	0.01	0.41	0.01
25	Ibuprofen	1	AF	ch	No	No	Pru p 3, pn, ap, ch, pe, gb	hdm, dd, cd	na	na	0.01
26	Ibuprofen, diclofenac	2	U	wh	Yes	No	gl	dd, ol, pl, gr	0.01	3.73	0.01
27	Ibuprofen	1	AF	le, to	Yes	Yes	Pru p 3, hz, wn, pe, pn, cp, le, to	hdm, dd, cd, pl, wp	2.2 ISU	0 ISU	0 ISU
28	Ibuprofen	1	AF	le, to	No	Yes	Pru p 3, sf, wn, to, ln	pl, mw	0.3 ISU	0 ISU	0 ISU
29	Diclofenac	1	AF	le, gr	Yes	Yes	Pru p 3, hz, pn, wn, pe, cp, ml, le, to, wh, mu, ln	hdm, pl, dd, gr	1.9 ISU	0 ISU	0 ISU
30	Aspirin	1	AF	pe	Yes	No	Pru p 3, hz, pe, av, le, to, wh, gl, cd, mu, alk, wn, pn	-	na	na	na
31	Ibuprofen	2	U/AE	ap	Yes	No	Pru p 3, hz, wn, ap, pe, gb	dd, cd, cy, ol, pl, gr	na	na	na
32	Ibuprofen	1	U/AE	le	Yes	No	Pru p 3, hz, pn, wn, ml, kw, pe, le, ln	dd, pl	2.14	0.01	0.01
33	Ibuprofen, aspirin	3	AF	pe	No	Yes	Pru p 3, wn, pn, pe, ap, mu	pl, mw	12.5	0.01	0.01
34	Naproxen	1	AF	le, ba	Yes	Yes	Pru p 3, hz, pn, pe, le	-	na	na	na
35	Ibuprofen, aspirin	2	AF	gluten-free pasta	No	Yes	Pru p 3, hz, pn, kw, pe, mz, wh, mu, sh, ml, gb	hdm, gr, mw, ol, pl, cy, alt, cla, cd, dd, bi, Pho d 2	16.30	0.02	0.01
36	Ibuprofen	2	AF	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, hz, kw, pe, mz, wh, cp, pn, mu, gb	hdm, mw, pl, cy	>100	0.02	0.01

(Continues)

TABLE 2 (Continued)

Patient	NSAIDs	No. of episodes	Symptoms	Foods involved	"ON/OFF effect"	Previous food allergy	Food SPTs	Aeroallergen SPTs	Pru p 3 sIgE ^a	Tri a 19 sIgE ^a	Pen a 1 / Pen m 1 sIgE ^a
37	Ibuprofen, aspirin	3	U/AE	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, sh, pe, mz	wp, cd, dd, Pho d 2	0.70	0.01	0.01
38	Ibuprofen	3	U/AE	to	Yes	Yes	Pru p 3, hz, kw, pe, pn, gb, le, mz, cp, to	hdm, gr, wp, mw, ol, pl	23.8	0.05	0.01
39	Ibuprofen	1	AF	pe	Yes	Yes	Pru p 3, hz, pe, mz, wh, sh, ml	pl, cy, alt, Pho d 2	1.35	0.01	0.01
40	Ibuprofen, aspirin	3	U/AE	le	Yes	Yes	Pru p 3, le, pe, mz, sh	wp, cd, dd, Pho d 2	0.70	0.01	0.01
41	Naproxen	1	U	cp	Yes	Yes	Pru p 3, cp, kw, pn	-	0.01	0.01	0.01
42	Dexketoprofen	1	AF	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, pe, mz, pn, mu, cd	hdm, gr, mw, ol, pl, cd, dd	9.89	0.01	0.01
43	Naproxen	5	U/AE	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, hz, kw, pe, wh, pn, mu, ml, gb	hdm, gr, pl, wp, cd, dd	4.3 ISU	0.15	0.15
44	Diclofenac	20	U/AE	wh	Yes	Yes	-	wp, ol, pl, cy	0.08	13.70	0.01
45	Ibuprofen	3	U	n/a	n/a	Yes	Pru p 3, kw, mz, wh, pn, gb	-	n/a	n/a	n/a
46	Dexketoprofen	1	AF	le	Yes	Yes	Pru p 3, hz, pe, mz, cp, pn, mu, gb	hdm, gr, mw, Pho d 2	14.20	0.01	0.01
47	Ibuprofen	1	AF	le, to	No	Yes	Pru p 3, hz, kw, le, pe, mz, wh, cp, pn, mu, ml, gb	mw, pl, cy	11.10	0.01	0.01
48	Pyrazolone	2	U	n/a	n/a	Yes	Pru p 3	wp, pl, cd	2.13	0.09	0.01
49	Ibuprofen	1	AF	ba, av	Yes	Yes	ba, av	hdm	0.01	0.01	0.01
50	Ibuprofen	2	AF	le, ln, gr	Yes	Yes	Pru p 3, hz, kw, le, pe, mz, pn, mu, sh, gb, mu, ml	hdm, gr, wp, ol, cy, alt, da, dd, bi, Pho d 2	14.80	0.01	0.01
51	Ibuprofen	3	AF	n/a	n/a	Yes	hz, kw, mz, wh, pn, mu, ml	hdm, wp, cy, alt, cla	0.01	0.01	0.01
52	Ibuprofen	1	AF	pe	No	Yes	Pru p 3, hz, kw, pe, mz	hdm	21.70	0.01	0.01

Symptoms: AE, angioedema; AF, anaphylaxis; U, urticaria. **Aeroallergens, alt, Alternaria spp;** bi, birch; cla, *Clostridium* spp; cy, cypress; cd, cat dander; dd, dog dander; gr, grass; hdm, house dust mites; mw, mugwort; ol, olive; pl, plane tree; wp, wall pellitory. **Foods, ak, anisakis; ap, apple; av, avocado; ba, banana; cd, cod; ch, cherry; cp, chickpea; gb, green bean; gl, gluten; hz, hazelnut; kw, kiwi; le, lettuce; ln, lentil; ml, melon; mu, mustard; mz, maize; pe, peach; pn, peanut; sf, sunflower seed; sh, shrimp; so, soy; to, tomato; wh, wheat; wm, watermelon; wn, walnut.**

Abbreviations: NSAID, non-steroidal anti-inflammatory drug; SPT, skin prick test; n/a, not available.

^aExpressed in IU/L unless indicated.

control group were cutaneous (203/276, 73.5%), followed by respiratory (47/276, 17%) symptoms. Anaphylaxis in the control group (26/276, 9.4%) occurred mainly in single NSAID hypersensitivity (15 cases), followed by cross-reactive NSAID hypersensitivities (10 cases). One reaction was finally classified as idiopathic anaphylaxis, as neither the NSAID nor any other factor could be identified as the elicitor.

3.5 | Time intervals

The analysis of the time intervals between the intake of the NSAID, last food ingestion, and the onset of the reaction is shown in Table 4. In most FDNIH cases, NSAID administration took place within 2 hours prior to the reaction (81%). Mean time was 92 ± 75 min, not different to the control group (94 ± 135 min); however, stratification of time intervals showed that most reactions in the control group appeared in the first 30 min after drug intake (52.2% vs. 27.7%; $p = .002$). Regarding the time elapsed between the last food ingestion and the reaction, mean time was 110 ± 83 min for FDNIH, while in the control group it was more than double (248 ± 211 min; $p < .001$); most reactions in the FDNIH appeared in the first 2 h after food ingestion (Table 4). In most FDNIH cases, food ingestion was prior to NSAID intake (82%), similar to the control group (86%). Food ingestion and NSAID intake were very close to each other in FDNIH, with a mean time of 14 ± 77 min. In fact, both events were separated by an interval of 2 h or less in 97.7% of FDNIH cases. This finding clearly contrasts with that found in the control group, where the mean time between food and NSAID intake was 132 ± 200 min ($p < .001$).

3.6 | Risk factors for FDNIH: univariate and multivariate logistic regression analysis

In the univariate logistic regression analysis (Table 5A), FDNIH was found to be mainly associated with LTP (OR = 83.8; $p < .001$) and gliadin sensitization (OR = 21.3; $p < .001$). Other risk factors were pollen sensitization and anaphylactic reaction, while cutaneous

TABLE 3 NSAIDs involved in the FDNIH reactions

NSAID	FDNIH (n = 52) n (%)	Control (n = 276) n (%)	p-value
Propionic acids	41 (78.8)	192 (69.6)	>.05
Aspirin	13 (25)	102 (37)	>.05
Aryl acetic acids	5 (9.6)	67 (24.3)	.018
Pyrazolone	2 (3.8)	85 (30.8)	<.001
Paracetamol	1 (1.9)	37 (13.4)	.016
Coxibs	0	13 (4.7)	>.05
Oxicams	0	11 (4)	>.05

Abbreviations: NSAID, non-steroidal anti-inflammatory drug; FDNIH, food-dependent NSAID-induced hypersensitivity. These bold values correspond to the statistically significant ones.

reaction or being the NSAID involved an aryl acetic or a pyrazolone resulted protective (Table 5A). The rest of variables analyzed were not significant.

In the multivariate logistic regression analysis (Table 5B), pollen sensitization and aryl acetic implication in the reaction lost significance, so they were excluded by using a forward stepwise procedure. Having an anaphylactic reaction was exclusive to having a cutaneous reaction, so only anaphylactic reaction was left in the multivariate analysis. Using 4 variables, LTP sensitization, gliadin

TABLE 4 Characteristics of the time intervals between drug administration, food ingestion, and onset of the reaction in FDNIH and control group (A) Time intervals between drug administration and onset of the reaction in FDNIH and control group. (B) Time intervals between last food ingestion and onset of the reaction in FDNIH and control group. (C) Time intervals between last food ingestion and drug administration in FDNIH and control group

	FDNIH	Control group	p
(A)			
Mean \pm SD, min	93 \pm 76	94 \pm 135	>.05
\leq 30 min; n (%)	13 (27.7)	107 (52.2)	.002
31–60 min; n (%)	12 (25.5)	37 (18)	>.05
61–120 min; n (%)	13 (27.7)	25 (12.2)	.008
121–180 min; n (%)	5 (10.6)	11 (5.4)	>.05
181–240 min; n (%)	1 (2.1)	8 (3.9)	>.05
241–300 min; n (%)	3 (6.4)	1 (0.5)	.021
301–360 min; n (%)	0	2 (1)	>.05
>360 min; n (%)	0	14 (6.8)	>.05
(B)			
Mean \pm SD, min	110 \pm 83	248 \pm 211	<.001
\leq 30 min; n (%)	11 (24.4)	16 (14)	>.05
31–60 min; n (%)	7 (15.6)	21 (18.4)	>.05
61–120 min; n (%)	15 (33.3)	18 (15.8)	.014
121–180 min; n (%)	8 (17.8)	10 (8.8)	>.05
181–240 min; n (%)	1 (2.2)	3 (2.6)	>.05
241–300 min; n (%)	2 (4.4)	5 (4.4)	>.05
301–360 min; n (%)	1 (2.2)	5 (4.4)	>.05
>360 min; n (%)	na	36 (31.6)	<.001
(C)			
Mean \pm SD, min	14 \pm 77	132 \pm 200	<.001
\leq 30 min; n (%)	32 (72.7)	51 (44.7)	.002
31–60 min; n (%)	4 (9.1)	10 (8.8)	>.05
61–120 min; n (%)	7 (15.9)	18 (15.8)	>.05
121–180 min; n (%)	0	4 (3.5)	>.05
181–240 min; n (%)	0	4 (3.5)	>.05
241–300 min; n (%)	1 (2.3)	5 (4.4)	>.05
301–360 min; n (%)	0	2 (1.8)	>.05
>360 min; n (%)	0	20 (17.5)	.003

Abbreviation: FDNIH, food-dependent NSAID-induced hypersensitivity. These bold values correspond to the statistically significant ones.

TABLE 5 Univariate (A) and multivariate (B) logistic regression for diagnosing FDNIH when an acute NSAID hypersensitivity reaction is suspected ($n = 328$)

(A) Univariate analysis			
Risk factors	Odds ratio	95% CI	p-value [*]
LTP sensitization	83.8	34–206	<.001
Gliadin sensitization	21.3	4.3–106	<.001
Anaphylactic reaction	10.4	5.2–20.5	<.001
Pollen sensitization	5.5	2.9–10.3	<.001
Cutaneous reaction	0.33	0.19–0.61	<.001
Involved NSAID group:			
Aryl acetics	0.33	0.13–0.87	.025
Pyrazolones	0.09	0.02–0.38	.001
(B) Multivariate analysis			
Risk factors	Adjusted odds ratio	95% CI	p-value ^{**}
LTP sensitization	205	51–819.8	<.001
Gliadin sensitization	117	15–917	<.001
Anaphylactic reaction	8.54	1.9–37.3	.004
Involved NSAID group:			
Pyrazolones	0.034	0.004–0.28	.002

Abbreviations: CI, confidence interval; LTP, lipid transfer protein; NSAID, non-steroidal anti-inflammatory drug. These bold values correspond to the statistically significant ones.

*Wald's test. Only p-values <.05 are reported.

**Wald's test. Risk factors associated with FDNIH in the univariate analysis ($p < .05$) are included in the multivariate analysis. Automatic forward stepwise procedure was used for model selection. As anaphylaxis and cutaneous reaction were exclusive to each other, and cutaneous reaction was removed from the selected model.

sensitization, anaphylaxis, and NSAID involved other than pyrazolones, our model was capable of correctly classifying 95.3% of patients into the FDNIH group, with a sensitivity of 92% and specificity of 96%.

4 | DISCUSSION

Previous studies have shown that the application of ENDA's diagnostic approach to NSAID hypersensitivity results in the exclusion of NSAIDs as the trigger in up to 80% of assessed patients.^{3–8}

We hypothesized that some of the excluded cases are patients with FDNIH that are not diagnosed because the ENDA protocol does not consider that NSAIDs may act as a cofactor (and not as a sole trigger), and therefore does not include the assessment of food allergy in their workup.

In this study, we have carried out a characterization of FDNIH, searching for markers that could help in the diagnosis and management of these patients. An initial remarkable finding is that 16% of patients suspected of NSAID hypersensitivity were finally diagnosed as FDNIH, with LTP being the main food allergen involved. The potentially relevant role of the association between hypersensitivity to LTP and NSAID had already been suggested by A. Romano.²⁴ The main consequence that may follow from not considering this entity is that patients are still at risk of a new reaction. Because food allergy

has not been considered and NSAID hypersensitivity has been ruled out, neither the food nor the NSAID is avoided and therefore new hypersensitivity reactions may occur.

The characterization of the population studied shows that in our area, LTP is the main responsible/elicitor of FDNIH, with gliadin following far behind. The key role played by LTP in our patients is in line with previous studies that have shown the high prevalence of plant food allergy associated with NSAIDs as cofactors in the Mediterranean area,^{21–23} but contrasts with other articles where gliadin is the most frequent responsible allergen.^{20,26,27} The systematic use of both SPT and sIgE to Pru p 3 (LTP) and Tri a 19 (gliadin) in our study showed that both methods are similarly valid in the detection of these sensitizations. Although tropomyosin has been identified as one of the responsible for FDNIH,²⁵ in our series there were no cases involving that protein.

Although the LTP syndrome (considered when an LTP-sensitized patient displays reactivity to several taxonomically unrelated plant foods containing LTP) has rarely been reported in patients from other geographical regions, recent studies have shown that the prevalence of patients diagnosed with LTP syndrome is much higher than previously reported, when the Pru p 3 is systematically included in the workup of patients with history of food-induced allergic reactions.^{29–36} The spectrum of food allergens involved in FDNIH may vary depending on the ecological characteristics and dietary habits of the studied populations.^{19–29} Moreover, the potential implication

in FDNIH of other predominant pan-allergens, such as profilins or PR-10, frequently present in other geographical areas, should not be overlooked. Allergic reactions caused by these proteins are usually mild, but they can also precipitate anaphylaxis when associated with a cofactor such as exercise.³⁷ Whether severe allergic reactions can also result from the combined effect of these allergens and NSAIDs remains to be thoroughly explored.

Although less frequently than in the case of profilin, most individuals sensitized to Pru p 3 are asymptomatic or paucisymptomatic^{21–23,38} and only the intake of an NSAID reveals the key role played by food sensitization in the hypersensitivity reaction.^{21–23} The limited clinical expression of food sensitization can easily lead the evaluating physician to discard its role in the reaction.

Considering the time intervals is also important in the suspicion of FDNIH, because most of the FDNIH reactions (>90%) occur within the first 3 h after food and NSAID ingestion, and no reaction was detected after the 5th hour.

Interestingly, almost 70% of FDNIH patients experienced an ON/OFF effect in which the offending food was perfectly tolerated in the absence of NSAID intake. This phenomenon is well-known in wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis (WDEIA).³⁹ It is likely that both entities share common pathophysiologic pathways. Currently, two main hypotheses have been proposed to explain FDNIH. One theory suggests that NSAIDs increase the permeability of the intestinal barrier causing a major absorption of the culprit allergen with mast cells playing a complementary role.^{8,37} Another hypothesis suggests that NSAIDs have a direct effect on mast cells and basophils, amplifying their degranulation/activation.^{39,40} Interestingly, aspirin potentiates the effect of exercise in WDEIA, a finding that further supports a common underlying pathophysiologic mechanism in WDEIA and FDNIH.^{41,42}

Numerous NSAIDs were involved in FDNIH, and in some patients, more than one NSAID triggered the hypersensitivity reaction; this could be considered as a class effect. These observations indicate that the underlying mechanism may be related to some characteristic shared by all NSAIDs, such as cyclooxygenase inhibition. Interestingly, true NSAID hypersensitivity is also present in patients with food allergy. This is not an unexpected finding given the high prevalence of NSAID hypersensitivity and food allergy in the population. This observation supports the individualized assessment of both NSAIDs and food allergens in patients with history of NSAID hypersensitivity.

The percentage of patients with NSAID hypersensitivity resulting from an IgE-mediated mechanism is relatively low compared with some^{6,8} but not all studies.^{3,7} These differences can be explained, at least in part, by differences in the demographic (children vs adults) and clinical conditions of the studied populations. That could explain why pyrazolone derivatives are much more prevalent in the control group than in the FDNIH, since this group is the most frequently involved in single NSAID hypersensitivity reactions in Spain.^{43,44}

The multivariate analysis has helped to identify some risk factors for FDNIH. With 4 variables, LTP or gliadin sensitization, anaphylactic reaction, and the NSAID involved in the reaction different from a

pyrazolone, we correctly classified 95.3% of cases, with a sensitivity of 92% and specificity of 96%. Thus, in the evaluation of hypersensitivity reactions, the presence of these risk factors should alert about the risk of suffering FDNIH.

Our study has some limitations. The high frequency of LTP sensitization in our population may limit the extrapolation of our findings beyond the Mediterranean area. However, sensitization to Pru p 3 has recently been reported in other geographical areas,^{30,32,34–36,45} and whether FDNIH also occurs associated with LTP in these other regions remains to be thoroughly assessed. Indeed, gliadin has also been considered a food allergen with limited geographical distribution. Interestingly, our study shows that gliadin can be involved in FDNIH in a region with apparently low prevalence of sensitization. These findings support the notion that the involvement of some food allergens in FDNIH cannot be excluded on the basis of their low prevalence in the studied population. Another limitation of our study is the lack of food challenge in combination with the NSAID. The diagnosis of FDNIH has been based on a thorough assessment of clinical history supported by SPTs and/or sIgE analysis. Previous reported studies, using challenge with food and cofactor in WDEIA, show that diagnosis is only reached in 30% of the cases, and it implies many risks for the patient.^{39,46} In fact, several cofactors may be necessary to elicit the reaction in challenge tests, and a high concentration of plasma gliadin is required to trigger symptoms.^{41,42,47} Since these patients may be at a high risk of anaphylaxis, our development of an evidence-based diagnostic algorithm (Figure 1) can greatly support the diagnosis of FDNIH.

In summary, FDNIH accounts for a considerable percentage of patients with clinical history of NSAID hypersensitivity. LTP and gliadin have been identified as the main risk factors to consider, and for that reason, FDNIH must be considered and food allergy tests must be included in the diagnostic workup of patients with clinical history of NSAID hypersensitivity. Our proposed algorithm provides a comprehensive way to tackle the differential diagnosis of NSAID hypersensitivity and helps to identify FDNIH patients among them.

ACKNOWLEDGMENTS

RM-C is a recipient of a Juan Rodes fellowship (Carlos III Health Institute JR16/00016). This work was supported by the Ministerio de Economía y Competitividad—Instituto de Salud Carlos III (FIS—PI11/01326 and FIS—PI16/00696), Spain.

CONFLICT OF INTEREST

Dr. Sánchez-Lopez, Dr. Araujo, Dr. Cardona, Dr. García-Moral, Dr. Casas-Saucedo, Dr. Guillarte, Dr. Torres, Dr. Doña, Dr. Picado, Dr. Pascal, Dr. Muñoz-Cano, and Dr. Bartra have nothing to disclose.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

JSL, RMC, and JB designed the study. JSL and JB wrote the protocol and applied for ethical approval. JSL, GA, AGM, RCS, VC, MG, and MP were involved in acquisition of data. JSL and JB wrote the first draft. RMC, MJT, ID, VC, and CP were involved in critical

review of the manuscript. JSL and JB are responsible for the final version. All authors revised and approved the submitted version of the manuscript.

ORCID

Victoria Cardona  <https://orcid.org/0000-0003-2197-9767>
 María José Torres  <https://orcid.org/0000-0001-5228-471X>
 Inmaculada Doña  <https://orcid.org/0000-0002-5309-4878>
 Cesar Picado  <https://orcid.org/0000-0001-7400-4993>
 Mariona Pascal  <https://orcid.org/0000-0003-0549-9720>
 Rosa Muñoz-Cano  <https://orcid.org/0000-0001-8566-8285>
 Joan Bartra  <https://orcid.org/0000-0001-7767-4730>

REFERENCES

- Kowalski ML, Makowska JS, Blanca M, et al. Hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) classification, diagnosis and management: review of the EAACI/ENDA and GA2LEN/HANNA. *Allergy*. 2011;66:818-829.
- Kowalski ML, Asero R, Bavbek S, et al. Classification and practical approach to the diagnosis and management of hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy*. 2013;68:1219-1232.
- Caimmi S, Caimmi D, Bousquet PJ, Demoly P. How can we better classify NSAID hypersensitivity reactions?—validation from a large database. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;159:306-312.
- Arikoglu T, Aslan G, Yildirim DD, Batmaz SB. Discrepancies in the diagnosis and classification of nonsteroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity reactions in children. *Allergol Intern*. 2017;66:418-424.
- Cavkaytar O, Yilmaz EA, Karaatmaca B, et al. Different phenotypes of non-steroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity during childhood. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;167:211-221.
- Demir S, Olgac M, Unal D, Gelinçik A, Colakoglu B, Buyukozturk S. Evaluation of hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs according to the latest classification. *Allergy*. 2015;70:1461-1467.
- Nissen CV, Bindslev-Jensen C, Mortz C. Hypersensitivity to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): classification of a Danish patient cohort according to EAACI/ENDA guidelines. *Clin Transl Allergy*. 2015;5:10.
- Viola M, Rumi G, Valluzzi RL, Gaeta F, Caruso C, Romano A. Assessing potential determinants of positive provocation tests in subjects with NSAID hypersensitivity. *Clin Exp Allergy*. 2010;41:96-103.
- Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014;69:992-1007.
- Lyons SA, Burney PGJ, Ballmer-Weber BK, 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.
- Panesar SS, Javad S, de Silva D, et al. The epidemiology of anaphylaxis in Europe: a systematic review. *Allergy*. 2013;68:1353-1361.
- Tejedor Alonso MA, Moro Moro M, Mugica Garcia MV. Epidemiology of anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2015;45:1027-1039.
- Wang J, Sampson HA. Food anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2007;37:651-660.
- Simons FE, Arduo LR, Dimov V, et al. World Allergy Organization Anaphylaxis Guidelines: 2013 update of the evidence base. *Intern Arch Allergy Immunol*. 2013;162:193-204.
- Sampson HA, Aceves S, Bock SA, et al. Food allergy: a practice parameter update-2014. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134:1016-1025.
- Worm M, Edenharter G, Rueff F, et al. Symptom profile and risk factors of anaphylaxis in Central Europe. *Allergy*. 2012;67(5):691-698.
- Wolbing F, Fischer J, Koberle M, Kaesler S, Biedermann T. About the role and underlying mechanisms of cofactors in anaphylaxis. *Allergy*. 2013;68(9):1085-1092.
- Oropeza AR, Bindslev-Jensen C, Broesby-Olsen S, et al. Patterns of anaphylaxis after diagnostic work-up: A follow-up study of 226 patients with suspected anaphylaxis. *Allergy*. 2017;72(12):1944-1952.
- Moneret-Vautrin DA, Latache C. Drugs as risk factors of food anaphylaxis in adults: a case-control study. *Bull Acad Nat Med*. 2009;193:351-362.
- Matsukura S, Aihara M, Sugawara M, et al. Two cases of wheat-dependent anaphylaxis induced by aspirin administration but not by exercise. *Clin Exp Dermatol*. 2010;35:233-237.
- Cardona V, Luengo O, Garriga T, et al. Co-factor-enhanced food allergy. *Allergy*. 2012;67(10):1316-1318.
- Pascal M, Muñoz-Cano R, Reina Z, et al. Lipid transfer protein syndrome: clinical pattern, cofactor effect and profile of molecular sensitization to plant-foods and pollens. *Clin Exp Allergy*. 2012;42:1529-1539.
- Nucera E, Di Rienzo A, Ricci AG, Buonomo A, Mazzacappa S, Schiavino D. Adverse reactions to non-steroidal antiinflammatory drugs and hypersensitivity to lipid transfer proteins. *Adv Dermatol Allergol*. 2016;33:309-310.
- Romano A. Possible interaction among hypersensitivity to lipid transfer proteins, chronic urticaria, and hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy*. 2011;43:3-4.
- Vidal C, Bartolome B, Gonzalez-Quintela A, Rodriguez V, Armisen M. Prawns, barnacles, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs: effect modifiers or diagnostic confounders. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007;17(2):113-118.
- Matsuo H, Morimoto K, Akaki T, et al. Exercise and aspirin increase levels of circulating gliadin peptides in patients with wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2005;35:461-466.
- Shirai T, Matsui T, Uto T, Chida K, Nakamura H. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs enhance allergic reactions in a patient with wheat-induced anaphylaxis. *Allergy*. 2003;58:1071.
- Paul E, Gall HM, Muller I, Moller R. Dramatic augmentation of a food allergy by acetylsalicylic acid. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;105:844.
- Cant AJ, Gibson P, Dancy M. Food hypersensitivity made life threatening by ingestion of aspirin. *Br Med J*. 1984;288:755-756.
- Mothes-Luksch N, Raith M, Stingl G, et al. Pru p 3, a marker allergen for lipid transfer protein sensitization also in Central Europe. *Allergy*. 2017;72(9):1415-1418.
- Ma S, Nie L, Li H, Wang R, Yin J. Component-Resolved Diagnosis of Peanut Allergy and Its Possible Origins of Sensitization in China. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016;169:241-248.
- Murad A, Katelaris CH, Baumgart K. A case study of apple seed and grape allergy with sensitization to nonspecific lipid transfer protein. *Asia Pac Allergy*. 2016;6:129-132.
- Metz-Favre C, Pauli G, Bessot JC, De Blay F. Molecular allergology in practice: an unusual case of LTP allergy. *Allergy*. 2011;43:193-195.
- Flinterman AE, Akkerdaas JH, den Hartog Jager CF, et al. Lipid transfer protein-linked hazelnut allergy in children from a non-Mediterranean birch-endemic area. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121:423-428.
- Ebo DG, Ahrazem O, Lopez-Torres G, Bridts CH, Salcedo G, Stevens WJ. Anaphylaxis from mandarin (Citrus reticulata): identification of potential responsible allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;144:39-43.
- Faber MA, Van Gasse AL, Decuyper II, et al. IgE-reactivity profiles to nonspecific lipid transfer proteins in a northwestern European country. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139:679-682.
- Chen JY, Quirt J, Lee KJ. Proposed new mechanism for food and exercise induced anaphylaxis based on case studies. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2013;20:9-11.

38. González-Mancebo E, González-de-Olano D, Trujillo MJ, 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;21:278-282.
39. Scherf KA, Brockow K, Biedermann T, Koehler P, Wieser H. Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2016;46:10-20.
40. Pascal M, Munoz-Cano R, Mila 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;46:1111-1119.
41. Aihara M, Miyazawa M, Osuna H, et al. Food-dependent exercise-induced anaphylaxis: influence of concurrent aspirin administration on skin testing and provocation. *British J Dermatol*. 2002;146:466-472.
42. Motomura C, Matsuzaki H, Ono R, et al. Aspirin is an enhancing factor for food-dependent exercise-induced anaphylaxis in children. *Clin Exp Allergy*. 2017;47:1497-1500.
43. Doña I, Blanca-López N, Cornejo-García JÁ, et al. Characteristics of subjects experiencing hypersensitivity to Non-steroidal anti-inflammatory drugs: Patterns of response. *Clin Exp Allergy*. 2011;41:86-95.
44. Pérez-Sánchez N, Doña I, Bogas G, et al. Evaluation of subjects experiencing allergic reactions to non-steroidal anti-inflammatory drugs: Clinical characteristics and drugs involved. *Front Pharmacol*. 2020;11:503.
45. Skypala IJ, Cecchi L, Shamji MH, Scala E, Till S. Lipid Transfer Protein allergy in the United Kingdom: Characterization and comparison with a matched Italian cohort. *Allergy*. 2019;74(7):1340-1351.
46. Brockow K, Kneissl D, Valentini L, et al. Using a gluten oral food challenge protocol to improve diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135:977-984.
47. Kohno K, Matsuo H, Takahashi H, et al. Serum gliadin monitoring extracts patients with negative results in challenge test for the diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Allergol Intern*. 2017;62:229-238.

How to cite this article: Sánchez-López J, Araujo G, Cardona V, et al. Food-dependent NSAID-induced hypersensitivity (FDNIH) reactions: Unravelling the clinical features and risk factors. *Allergy*. 2020;00:1-13. <https://doi.org/10.1111/all.14689>