

Alergia a *Lipid transfer proteins* e omega-5-gliadina em doentes com cofatores

Allergy to Lipid transfer protein and omega-5-gliadine in patients with cofactors

Data de receção / Received in: 07/09/2022

Data de aceitação / Accepted for publication in: 23/01/2023

Rev Port Imunoalergologia 2023; 31 (2): 137-149

Joana Queirós Gomes¹ , Joana Barradas Lopes¹ , Maria João Sousa¹ , Susana Cadinha¹ , Ana Reis Ferreira¹ 

¹ Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Vila Nova de Gaia/Espinho, EPE, Vila Nova de Gaia, Portugal

Contribuição das autoras: As autoras declaram que participaram na conceção e desenho do trabalho, na obtenção e análise dos resultados e na sua redação, bem como na revisão do manuscrito.

2.º prémio de melhor comunicação oral na sessão de comunicações orais III “Alergia Alimentar | Cuidados de Saúde Primários”, na 42.ª Reunião Anual da Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica.

RESUMO

Fundamentos: Os alergénios envolvidos na alergia alimentar exacerbada por cofator (CEFA) variam geograficamente; no Sul da Europa, as *Lipid transfer proteins* (LTP) têm maior relevância e na Ásia a ómega-5-gliadina (ω 5G). As características clínicas parecem diferir consoante o alergénio envolvido. **Objetivos:** Comparação e caracterização dos doentes com CEFA a LTP (CEFA-LTP) e/ou ω 5G (CEFA- ω 5G). **Métodos:** Estudo observacional retrospectivo dos doentes com CEFA-LTP e/ou ω 5G, entre 01/2012 e 12/2020. Análise demográfica, sintomas, diagnóstico e seguimento. **Resultados:** Incluídos 49 doentes: 34 com CEFA-LTP e 15 a ω 5G. Grupo CEFA-LTP: média de idades de $30,0 \pm 14,7$ anos e 50,0% do sexo masculino. O alimento suspeito foi tolerado na ausência de cofatores em 32,4% dos doentes. Os testes cutâneos por picada (TCP) com LTP do pêssigo foram positivos em 80,2%. Grupo CEFA- ω 5G: média de idades de $40,7 \pm 15,9$ anos e 67,0% do sexo masculino. Todos toleravam trigo na ausência de cofatores. Os TCP com extrato de trigo foram positivos em 5/12 doentes (41,7%) e com gliadina

<http://doi.org/10.32932/rpia.2023.04.110>

em 10/12 (66,7%) [valor preditivo positivo (VPP): 90,9%]. O exercício foi o cofator mais frequente (74% CEFA-LTP e 87% CEFA- ω 5G). A anafilaxia foi manifestação em 62,0% dos doentes com CEFA-LTP (2 com choque) e em 80,0% dos com CEFA- ω 5G (5 com choque). Encontrou-se uma associação entre o alérgico envolvido e choque anafilático ($p=0,02$): os doentes com CEFA- ω 5G tiveram oito vezes mais *odd* de choque anafilático do que os com CEFA-LTP (OR=8,0, IC 95% [1,34-47,7] ($p=0,02$)). **Conclusões:** As LTP foram os alérgicos mais frequentes. Contudo, considerando a tolerância ao trigo na ausência de cofatores, o baixo VPP do TCP com extrato de trigo e associação a reações mais graves, a sensibilização a ω 5G deve ser ativamente pesquisada em todos os doentes com CEFA, para além da sensibilização a LTP.

Palavras-chave: Anafilaxia, alergia alimentar, gliadina, lipid transfer proteins.

© Author(s) (or their employer(s)) and Revista Portuguesa de Imunoalergologia 2023.
Re-use permitted under CC BY 4.0.(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ABSTRACT

Context: Co-factor-Enhanced Food Allergy (CEFA) varies geographically; Lipid Transfer Proteins (LTP) are the most relevant allergens in southern Europe and omega-5-gliadine (ω 5G) in Asia. CEFA characteristics may differ depending on the involved allergen. **Objective:** Comparison and characterization of patients with CEFA to LTP (CEFA-LTP) and/or ω 5G (CEFA- ω 5G). **Methods:** Observational retrospective study of patients with CEFA to LTP and/or ω 5G (1/2012-12/2020). Demographics, symptoms, workup and management were analyzed. **Results:** Forty-nine patients were included: 34 with CEFA-LTP and 15 with CEFA- ω 5G. CEFA-LTP group: mean age 30.0 ± 14.7 years; 50.0% males. The eliciting food was tolerated in the absence of cofactors in 32.4% of patients. Skin prick tests (SPT) with peach LTP were positive in 80.2%. CEFA- ω 5G group: mean age of 40.7 ± 15.9 years and 67.0% male. All patients tolerated wheat in the absence of cofactors. SPT with wheat extract were positive in 5/12 (42%) and with gliadin in 10/12 (67%) [Positive Predictive Value (PPV): 90.2%]. Exercise was the most frequent cofactor (74% CEFA-LTP and 87% CEFA- ω 5G). Anaphylaxis was reported in 62% of patients with CEFA-LTP (2 with shock) and in 80% of patients with CEFA- ω 5G (5 with shock). There was an association between the allergen involved and anaphylactic shock ($p=0.02$): patients with CEFA- ω 5G had 8 times the *odd* of having an anaphylactic shock of those with CEFA-LTP (OR=8.0, 95% CI [1.34-47.7] ($p=0.02$)). **Conclusion:** LTP were the most frequent allergen. However, considering the tolerance to wheat in the absence of CF, the severity of the reactions and the low PPV of the wheat SPT, ω 5G allergy should be actively searched in all patients with CEFA, along with LTP allergy.

Keywords: Anaphylaxis, food allergy, gliadin, lipid transfer proteins.

© Author(s) (or their employer(s)) and Revista Portuguesa de Imunoalergologia 2023.
Re-use permitted under CC BY 4.0.(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

INTRODUÇÃO

Em 1979, Maulitz *et al* descreveu o primeiro caso de anafilaxia em contexto de alergia alimentar dependente de exercício (1). A designação “anafilaxia induzida pelo exercício e dependente de alimentos”, em inglês *food-dependent, exercised-induced anaphylaxis* (FDEIA), surgiu anos mais tarde para descrever formas graves de alergia relacionadas com a ingestão de um alimento específico nas duas horas que precedem ou sucedem atividade física (2). Na literatura, são vários os alimentos envolvidos na FDEIA, sendo a “anafilaxia induzida pelo exercício dependente de trigo”, em inglês *wheat-dependent, exercise-induced anaphylaxis* (WDEIA), a síndrome melhor caracterizada (3,4,5,6).

A designação atualmente aceite, Alergia alimentar exacerbada por cofator ou em inglês *Co-factor enhanced food allergy* (CEFA), engloba as várias manifestações de alergia alimentar e não apenas a anafilaxia que são dependentes ou amplificadas na presença de determinadas circunstâncias (cofatores) (5,6).

Os cofatores podem ser definidos como circunstâncias do próprio doente ou externas a este, que se associam a maior gravidade das reações alérgicas ou diminuição do limiar de tolerância do doente ao alérgeno (doses mais baixas do alérgeno podem causar reações alérgicas 2-6 vezes mais graves na presença de cofatores, dependendo das séries) (3,4,7,8). O exercício foi dos primeiros cofatores identificados e é o principal em todas as faixas etárias (3,4). Contudo, outros cofatores foram identificados; em adultos, salientam-se os fármacos (principalmente anti-inflamatórios não esteroides [AINE]) e o álcool, e em crianças as intercorrências infecciosas. O stress, a menstruação e condições climáticas extremas (frio e/ou calor) estão também descritos como cofatores de reações alérgicas a alimentos (9).

A prevalência da CEFA varia entre estudos; em algumas séries, até 58% das anafilaxias a alimentos têm cofatores associados, e aproximadamente 30% das anafilaxias em adultos têm cofatores, comparativamente a 14%-18,3% das anafilaxias em idade pediátrica (3,4,5,6).

Existe evidência limitada sobre os mecanismos imunes subjacentes aos cofatores nas reações alérgicas a alimentos (2,3,4,9,10). No geral, os cofatores parecem ser responsáveis por aumentar a absorção intestinal do alérgeno e diminuir o limiar de resposta imune. Vários mecanismos foram propostos, mas a evidência que suporta cada um deles é limitada pelo baixo número de doentes avaliados e pela qualidade dos estudos (9).

A já mencionada WDEIA é a forma de CEFA mais bem descrita, sendo o trigo o alimento envolvido. Este é um dos cinco alimentos mais comuns a desencadear reações alérgicas em crianças. Já nos adultos a alergia a trigo é particularmente prevalente em países asiáticos, como o Japão (11). Desconhece-se contudo a prevalência desta alergia em adultos de populações europeias e a maioria dos dados relativos a esta patologia é fornecida pelo estudo inglês de Kennard *et al* (12). Nos adolescentes e adultos prevalecem as formas mais graves de alergia, podendo ocorrer sintomas de anafilaxia em 40%-50% dos casos (11,12,13,14). O exercício é o cofator mais frequentemente implicado na alergia a trigo dependente de cofatores, mas outros podem estar implicados (12).

As albuminas, globulinas e gliadinas são as proteínas mais relevantes na alergia a trigo (15). A molécula alérgica mais bem compreendida é a ω -5-gliadina (Tri a 19), uma proteína de armazenamento do trigo, identificada em quase 100% dos doentes com anafilaxia induzida pelo exercício após ingestão de trigo (16). O valor diagnóstico da IgE específica a Tri a 19 foi demonstrado em vários estudos, alguns dos quais mostrando que este doseamento pode dispensar provas de provocação (16,17). O valor de corte arbitrário utilizado por muitos laboratórios para o doseamento por imunoensaio de IgE-específica sérica é geralmente de 0,35 kU/L; contudo, vários estudos mostram que valores de IgE a Tri a 19 mais baixos podem ter significado clínico, traduzido no valor preditivo positivo (VPP) de 100% e valor preditivo negativo (VPN) de 88% para a alergia IgE mediada a trigo quando a IgE a Tri a 19 é $\geq 0,04$ kU/L (18,19,20).

Os testes cutâneos por picada (TCP) com extratos comerciais de farinha de trigo têm uma especificidade

muito baixa, sendo que esta poderia ser aumentada utilizando extratos de gliadina e, se possível, ω -5-gliadina, embora não se conheça a sua real aplicabilidade clínica.

Outros alimentos podem estar envolvidos na CEFA e geralmente estes são os mais prevalentes nas alergias alimentares na população portuguesa (5). A alergia a alimentos vegetais por *non-specific Lipid transfer proteins* (LTP) é um exemplo de alergia alimentar com alta prevalência em adultos no Sul da Europa, onde 70% da população está sensibilizada a estas proteínas (21,22,23). Portugal é um destes países e o pêsegue é geralmente o alimento mais implicado (5,22,24,25). Assim, na região do Mediterrâneo, cerca de 92% das CEFA devem-se a LTP (5,22,24). O exercício e os AINE parecem ser os cofatores mais frequentes (5,22).

As LTP são panalergénios presentes em frutos, incluindo frutos de casca rija e amendoim, vegetais, sementes, látex e pólenes de árvores e ervas, cuja sensibilização pode acontecer por via oral, inalatória ou cutânea, com possibilidade de reatividade cruzada entre os vários alimentos de origem vegetal e entre estes e pólenes (21,22,23,26,27). Apesar de serem proteínas muito estáveis, resistentes à temperatura e digestão enzimática, as LTP nem sempre causam reações sistémicas, podendo inclusivamente causar reações ligeiras como síndrome de alergia oral (23,24,26,27,28).

A Pru p 3, a LTP do pêsegue, é o principal marcador de alergia a LTP; contudo, é impossível prever se um dado doente terá alergia a alimentos de outras famílias que não a *Rosaceae* (família à qual pertence o pêsegue) com base apenas na IgE a Pru p 3 (27, 29). O diagnóstico molecular com LTP de outras fontes pode ajudar, contudo estão disponíveis apenas Ara h 9 (amendoim), Cor a 8 (avelã), Jug r 3 (noz), Mal d 3 (maçã) e Tri a 14 (trigo) (27). Como descrito para a Tri a 19, também o valor de corte da IgE a Pru p 3 vem sendo descrito como inferior ao convencionalmente usado 0,35 kU/L e em alguns estudos o valor de corte de 0,10 KU/L é apontado como tendo significado clínico (30,31,32).

A especificidade dos TCP com extratos comerciais de frutos frescos e secos é baixa, mas pode contudo

ser aumentada pela adição de extrato comercial de Pru p 3 (26).

O objetivo deste trabalho é caracterizar e comparar as características clínicas, demográficas e laboratoriais dos doentes diagnosticados com CEFA a LTP e dos com CEFA a ω 5G.

MATERIAIS E MÉTODOS

População e desenho do estudo

Estudo observacional retrospectivo em doentes seguidos em consulta de Alergia Alimentar de um hospital no Norte de Portugal, diagnosticados com CEFA a ω -5-gliadina (ω 5G) e/ou LTP, entre 01/2012 e 12/2020.

O diagnóstico foi estabelecido com base na história clínica sugestiva de CEFA após a ingestão de trigo e /ou alimentos contendo LTP, nomeadamente frutos frescos, secos e amendoim, e corroborada pela presença de IgE específicas para componentes moleculares, Tri a 19 (para o trigo, ω 5G) e Pru p 3 (LTP do pêsegue e principal marcador de sensibilização a LTP), medidos por método *singleplex* (ImmunoCAP™ Thermofisher, Uppsala, Suécia) ou *multiplex* (ImmunoCAP™ ISAC™, Thermofisher, Uppsala, Suécia). Valores de IgE a Tri a 19 e a Pru p 3 \geq 0,10 kU/L, medidos por método *singleplex*, ou \geq 0,3 ISU (ISAC Standardized Units), por método *multiplex*, foram considerados positivos (18-20,30-32).

Os doentes foram caracterizados de acordo com dados demográficos (idade e sexo), sintomatologia, gravidade e número de reações até ao diagnóstico, alimentos envolvidos, cofatores implicados, modificações na dieta após o diagnóstico e frequência de reações após as alterações dietéticas. Para caracterização do padrão sensibilização foram incluídos, quando disponíveis, os TCP para aeroalergénios (*Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*, gato, cão, bétula, parietária, gramíneas, *cynodon*, plátano, oliveira, profilina da palmeira, artemísia, *Cladosporium*, *Aspergillus fumigatus*, alternaria), farinhas (milho,

trigo, aveia, centeio, cevada, farinha de arroz, arroz inteiro, malte, glúten e gliadina), frutos frescos (kiwi, melão, banana, figo, ananás, abacate, papaia, manga, maracujá, laranja, melancia, uva branca, uva preta, pêssego (pele), pêssego (polpa), alperce (pele), nêspera, ameixa, cereja, maçã (pele), maçã (polpa), pera (pele), pera (polpa), romã, dióspiro, morango, bétula), secos e leguminosas (amêndoa, amendoim, avelã, pinhão, pistacho, noz, caju, soja) e extratos moleculares (LTP do pêssego e profilina da palmeira) [Roxall-Aristegui, Bilbao]. A metodologia retrospectiva deste trabalho justifica a ausência de resultados de TCP para todos os extratos em alguns doentes. Os TCP para aeroalergénios foram realizados em 78% dos doentes, para frutos frescos e secos esta percentagem é variável em ambos os grupos, embora todos os 34 doentes com CEFA-LTP tenham TCP para a LTP do pêssego e 85% para o pêssego, valores inferiores no grupo CEFA- ω 5G de 73% e 60% respetivamente. Os TCP com farinhas foram realizados em 80% dos doentes com CEFA- ω 5G e em aproximadamente 60% dos com CEFA-LTP.

A gravidade da reação foi classificada de acordo com a escala de Brown, Tabela 2 (33).

O estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsínquia e aprovado pela comissão de ética local.

Análise estatística

A análise estatística foi executada com o *software* IBM SPSS® v.20.0 (IBM Co, Armonk, EUA). As variáveis categóricas foram expressas como número e percentagem e comparadas usando o teste quiquadrado ou o teste exato de Fisher, conforme apropriado. As variáveis contínuas foram expressas como média e desvio-padrão, ou mediana e amplitude interquartil (AIQ) para variáveis com distribuição não normal. Para comparar variáveis contínuas foi usado o teste t-Student, para variáveis com distribuição normal, e o teste de Mann-Whitney, para variáveis de distribuição não normal.

Todos os valores p mencionados são bicaudais, com o valor de $p < 0,05$ indicando significância. Foi calculado o valor do coeficiente de concordância *kappa* de Cohen

(k) ajustado aos intervalos de confiança de 95%, sendo que os valores foram considerados significativos para $p < 0,05$.

RESULTADOS

Foram incluídos 49 doentes, 27 (55,1%) do sexo masculino, a idade mediana da amostra foi de 50 anos (14, 69; [AIQ] 15), relativamente ao período de análise de 9 anos. Destes, 34 doentes (69,4%) tinham diagnóstico de CEFA a LTP e 15 (30,6%) a ω 5G.

A descrição das características dos doentes, distribuídos de acordo com o tipo de CEFA, encontra-se na Tabela 3. Os resultados dos TCP a aeroalergénios e alimentos estão discriminados na Tabela 1.

CEFA a LTP (CEFA-LTP)

A média de idade no grupo dos 34 doentes com CEFA-LTP foi de 29 ± 9 anos, com igual distribuição por ambos os sexos. A mediana de tempo desde a primeira reação até ao diagnóstico foi de 2 anos, com um mínimo de 6 meses e máximo de 20 anos (AIQ 4,0).

Onze dos doentes com CEFA-LTP (32,4%) toleravam os alimentos implicados nas reações prévias, se ingeridos na ausência de cofatores. Os frutos frescos (sobretudo o pêssego) foram os principais alimentos envolvidos nas reações ($n=16$, 47,1%), seguidos dos frutos secos e amendoim em 10 (29,9%) e frutos frescos e secos em 6 doentes (17,6%). O exercício foi o cofator mais frequente neste grupo ($n=30$, 88,2%), seguido dos AINE e álcool ($n= 5$, 14,7%). Cinco doentes tinham reações com envolvimento de mais de um cofator (3 com AINE e exercício, 1 com álcool e exercício e 1 com os três cofatores referidos). Pela história clínica, nenhum outro cofator esteve implicado nas reações. A primeira manifestação clínica foi ligeira (grau I na escala de Brown) em 13 doentes (38,2%) e anafilaxia em 21 doentes (61,8%); destes, 19 (90,5%) apresentavam reação grau 2 na escala de Brown e 2 doentes (9,5%) tinham anafilaxia com choque à apresentação (grau 3).

Tabela 1. Perfis de sensibilização por grupo

TCP positivos a extrato de:	Grupo CEFA a LTP N=34		Grupo CEFA a ω5G N=15		Total N=49	
Ácaros	16/28	(57,1%)	6/11	(54,5%)	22/39	(56,4%)
Gramíneas	13/28	(46,4%)	3/11	(27,3%)	16/39	(41,0%)
Bétula	2/28	(7,1%)	0/11		2/39	(5,1%)
Profilina	5/28	(17,9%)	0/11		5/39	(12,8%)
Oliveira	2/28	(7,1%)	2/11	(18,2%)	4/39	(10,3%)
Artemísia	9/28	(32,1%)	0/11		9/39	(23,1%)
Parietária	2/28	(7,1%)	0/11		2/39	(5,1%)
LTP pêssego	30/34	(88,2%)	0/11		30/45	(66,7%)
Pêssego	19/29	(65,5%)	0/9		19/38	(50,0%)
Kiwi	7/29	(24,1%)	0/7		7/36	(19,4%)
Melão	1/29	(3,4%)	0/7		1/36	(2,8%)
Banana	4/29	(13,8%)	0/7		4/36	(11,1%)
Figo	3/28	(10,7%)	0/7		3/35	(8,6%)
Ananás	3/28	(10,7%)	0/7		3/35	(8,6%)
Abacate	1/28	(3,6%)	0/7		1/35	(2,9%)
Papaia	1/28	(3,6%)	0/7		1/35	(2,9%)
Manga	1/28	(3,6%)	0/7		1/35	(2,9%)
Maracujá	2/28	(7,1%)	0/7		2/35	(5,7%)
Laranja	1/29	(3,4%)	0/7		1/36	(2,8%)
Melancia	1/28	(3,6%)	0/7		1/35	(2,9%)
Uva	5/28	(17,9%)	0/7		5/35	(14,3%)
Alperce	13/28	(46,4%)	0/7		13/35	(37,1%)
Nêspera polpa	3/28	(10,7%)	0/7		3/35	(8,6%)
Nêspera pele	4/28	(14,3%)	0/7		4/35	(11,4%)
Ameixa	16/28	(57,1%)	0/7		16/35	(45,7%)
Cereja	12/28	(42,9%)	0/8		12/36	(33,3%)
Maçã	9/29	(31,0%)	0/8		9/37	(24,3%)
Pera pele	7/29	(24,1%)	0/7		7/36	(19,4%)
Pera polpa	6/29	(20,7%)	0/7		6/36	(16,7%)
Romã	11/28	(39,3%)	0/7		11/35	(31,4%)
Dióspiro	2/28	(7,1%)	0/7		2/35	(5,7%)
Morango	4/28	(14,3%)	0/7		4/35	(11,4%)
Milho	11/21	(52,4%)	0/12		11/33	(33,3%)
Trigo	6/20	(30,0%)	5/12	(41,7%)	11/32	(34,4%)
Aveia	6/21	(28,6%)	2/12	(16,7%)	8/33	(24,2%)
Centeio	2/21	(9,5%)	2/12	(16,7%)	4/33	(12,1%)

(continua)

(continuação)

TCP positivos a extrato de:	Grupo CEFA a LTP N=34		Grupo CEFA a ω5G N=15		Total N=49	
Cevada	5/21	(23,8%)	0/12		5/33	(15,2%)
Arroz	10/21	(47,6%)	0/12		10/33	(30,3%)
Malte	0/20		0/12		0/32	
Glúten	0/20		3/12	(25,0%)	3/32	(9,4%)
Gliadina	0/17		10/12	(83,3%)	10/29	(34,5%)
Sésamo	10/16	(62,5%)	0/7		10/23	(43,5%)
Girassol	5/16	(31,3%)	0/7		5/23	(21,7%)
Abóbora	6/15	(40,0%)	0/7		6/22	(27,3%)
Amêndoa	8/31	(25,0%)	0/6		8/37	(21,6%)
Amendoim	12/31	(38,7%)	0/6		12/37	(32,4%)
Avelã	20/31	(64,5%)	0/6		20/37	(54,1%)
Pinhão	6/30	(20,0%)	0/6		6/36	(16,7%)
Pistacho	8/30	(26,7%)	0/6		8/36	(22,2%)
Noz	17/31	(53,1%)	0/6		17/37	(45,9%)
Caju	1/30	(3,3%)	0/6		1/36	(2,8%)
Soja	4/30	(13,3%)	0/6		4/36	(11,1%)

Tabela 2. Classificação da gravidade da reação segundo a escala de Brown

Grau	Reação	Manifestações	
1	Ligeira (pele e tecido celular subcutâneo apenas)*	Eritema generalizado, urticária, edema periorbital, ou angioedema	
2	Moderada (alterações sugestivas de envolvimento respiratório, gastrointestinal ou cardiovascular)	Dispneia, estridor, pieira, náuseas, vômitos, tontura (pré-síncope), diaforese, aperto no peito ou orofaríngeo, ou dor abdominal	Anafilaxia
3	Grave (hipoxia, hipotensão ou compromisso neurológico)	Cianose ou saturação de oxigénio medida por oximetria de pulso ≤92%), hipotensão (tensão arterial sistólica < 90 mmHg em adultos), confusão, colapso, perda de consciência, ou incontinência	

* As reações ligeiras podem ainda ser subclassificadas mediante a presença/ausência de angioedema

A rinite, seguida de asma, foram as comorbilidades mais frequentes neste grupo, com 12 (35,3%) e 8 (23,5%) doentes, respetivamente.

Todos os doentes com CEFA-LTP tiveram doseamentos de IgE a Pru p 3 por método *singleplex*; a mediana da IgE a Pru p 3 de 4,49 (0,19; 38,70; [AIQ] 7,08) kU/L. Os

perfis de sensibilização a alimentos por testes cutâneos encontram-se na Tabela 1. Os TCP com a LTP do pêssego foram positivos em 30/34 (88,2%) doentes. Os TCP com extratos de frutos frescos com maior percentagem de positivos nos doentes testados foram os frutos da família *Rosaceae*, nomeadamente pêssego (55,9%), ameixa

Tabela 3. Características dos doentes: CEFA a LTP vs CEFA a ω 5G

Caraterísticas	Grupo CEFA a LTP*	Grupo CEFA a ω 5G*	Valor p
Número de doentes n(%)	34 (68,0%)	15 (30,0%)	-
Sexo masculino n(%)	17 (50,0%)	10 (66,7%)	0,280*
Idade ao diagnóstico anos) média \pm dp	29 \pm 9	41 \pm 16	0,016 #
Tempo até ao diagnóstico (anos) med (min;max;[AIQ])	2,0 (0,5;20,0;[4,0])	2,0 (1,0;15,0;[3,5])	0,841 \pm
Cofatores			
– AINEs n (%)	5 (14,7%)	5 (33,3%)	0,247*
– Exercício n (%)	30 (88,2%)	13 (86,7%)	0,605*
– Álcool n (%)	5 (14,7%)	–	0,306*
Tolerância ao alergénio na ausência de cofator n (%)	11 (32,4%)	15 (100%)	<0,01 *
Manifestações Clínicas			
– Anafilaxia n (%)	21 (61,8%)	12 (80,0%)	0,324*
– Grau 3 (escala de Brown) n (%)	2 (5,9%)	5 (33,3%)	0,022 *
Comorbilidades			
– Asma n (%)	8 (23,5%)	3 (20,0%)	0,550*
– Rinite n (%)	12 (35,3%)	5 (33,3%)	0,894*
– Urticária crónica n (%)	2 (5,9%)	6 (40,0%)	0,007 *
Reações acidentais após dieta de evicção n (%)	22 (64,7%)	7 (46,7%)	0,043 *
– N reações acidentais med (min, max; [AIQ])	1,5 (0;3;[2])	0 (0;4;[3])	0,231 \pm
Reações acidentais mais graves que a inicial n (%)	5 de 22 (22,7%)	2 de 7 (28,6%)	0,638*
Investigação diagnóstica			
TCP positivo: n (%)			
– LTP do pêssego	30 de 34 (88,2%)	–	–
– Trigo	–	5 de 12 (41,7%)	–
– Gliadina	–	10 de 12 (83,3%)	–
IgE específicas positivas: (KUA/L)			
– Pru p 3 med (min, max; [AIQ])	4,5 (0,2;38,7;[13,4])	–	–
– Tri a 19 med (min, max; [AIQ])	–	6,7 (0,5;54,9;[17,2])	–
IgE total	78,5 (9,6; 631,0;[122,9])	590,0 (25,1; 1333,0;[797,0])	–

AINE: Anti-inflamatórios não esteroides; AIQ: Amplitude interquartil; CEFA: *Co-factor enhanced food allergy*; dp: Desvio-padrão; FR: fatores de risco; IgEs: Imunoglobulinas E específicas; LTP: *Lipid transfer proteins*; max: máximo; med: mediana; min: mínimo; n: número; TCP: Testes cutâneos por picada; ω 5G: ómega 5 gliadina

*Teste quiquadrado; #Teste T-Student; \pm Testes de Mann-Whitney; * Teste de Fisher

(47,1%), alperce (38,2%) e cereja (35,3%), seguidos pela romã (32,4%). No que respeita aos extratos de frutos secos, a avelã (58,8%) e a noz (54,8%) foram os TCP com maior percentagem de positividade.

De acordo com a clínica, alimento envolvido e sensibilizações encontradas nos TCP, outras LTP foram pesquisadas em alguns doentes. A Jug r 3 (LTP da noz)

foi positiva em 6/6 doentes testados, com uma mediana de 0,98 (0,47; 23,80; [AIQ] 7,48) kU/L, a Cor a 8 (LTP da avelã) foi positiva em 21/25 testados, mediana de 0,74 (0; 8,3; [AIQ] 1,90) kU/L. O método multiplex ISAC™ foi usado em 3 doentes, em todos a Pru p 3 e a Jug r 3 foram positivas e em 2 a Cor a 8 foi também positiva.

Depois de estabelecido o diagnóstico, estes doentes iniciaram dieta de evicção dos alimentos implicados nas reações, mas não dos alimentos aos quais estavam apenas sensibilizados. Foram reportadas ingestões acidentais em 22 doentes (64,7%), sendo que em 5 esta foi mais grave do que a reação prévia ao diagnóstico.

CEFA a ω 5G (CEFA- ω 5G)

A média de idade no grupo de 15 doentes com diagnóstico de CEFA a ω 5G foi de 41 ± 16 anos, 66,7% do sexo masculino (n=10). A mediana de tempo desde a primeira reação até ao diagnóstico foi de 2 anos, com um mínimo de 1 ano e máximo de 15 anos (AIQ 3,5).

O pão foi o alimento mais frequentemente envolvido na reação (n=11, 73,3%); 2 doentes (13,3%) referiram as bolachas e massas e outros 2 (13,3%) não identificaram o alimento envolvido. O exercício e os AINEs foram os únicos cofatores apurados neste grupo. O exercício foi implicado em 86,7% (n=13 doentes) e os AINE em 33,3% (n=5 doentes), sendo que 3 destes doentes (30%) tinham reações na presença de exercício e de AINE. Nos 5 doentes com AINE como cofator, 3 toleraram posteriormente o mesmo AINE na ausência de alimentos contendo trigo e 2 suspenderam o consumo destes fármacos após a reação e foram posteriormente submetidos a provas de provocação com os fármacos suspeitos, negativas em ambos.

Todos os doentes toleravam a ingestão de trigo na ausência de cofatores.

A anafilaxia foi a manifestação clínica inicial em 12 doentes (80,0%), 5 destes (33,3% dos doentes com CEFA- ω 5G) com choque (grau 3 na escala de Brown); os restantes 3 doentes (20,0%) tiveram reações ligeiras, com um único sistema afetado à apresentação.

A urticária crónica (UC), seguida da rinite, foram as comorbilidades mais frequentes neste grupo, em 6 (40,0%) e 5 (33,3%) doentes, respetivamente. Foi encontrada uma associação entre o alérgénio envolvido na CEFA (LTP vs ω 5G) e UC ($p=0,007$); 8 doentes na amostra tinham UC, a maioria pertencente ao grupo CEFA- ω 5G (N=6, 75%).

Em todos os doentes com CEFA- ω 5G a IgE a Tri a I9 foi doseada por método *singleplex*; a mediana foi de 6,69 (0,53; 54,90; [AIQ] 14,17) kU/L, correspondente ao d (método *singleplex*).

Para caracterizar a alergia a ω 5G, os doentes com história sugestiva realizaram também TCP com extratos comerciais de farinhas. Os perfis de sensibilização encontram-se na Tabela 3. Os TCP com gliadina foram positivos em 10/12 (83,3%) doentes, a trigo em 5/12 (41,7%), a glúten em 3/12 (25,0%) e à aveia e centeio em 2/12 (16,7%). O VPP do TCP com gliadina foi de 90,9% e do TCP com trigo de 45,5%.

Após o diagnóstico de CEFA a ω 5G, foi proposto a todos os doentes que iniciassem uma dieta isenta de glúten (para facilidade de reconhecimento de ω 5G nos alimentos) nas 6 horas anteriores e 2 horas posteriores à prática de exercício, tão intenso tanto quanto o mínimo de atividade que causou reações e aquando da toma de AINE. Foram reportadas reações após as alterações alimentares referidas em 7 doentes (46,7%) e em 2 a reação durante a ingestão acidental foi mais grave do que as prévias ao diagnóstico.

DISCUSSÃO

Neste trabalho é possível comparar as características dos doentes com CEFA a ω 5G e a LTP. O grupo de doentes com CEFA-LTP tem maior representatividade nesta amostra (68,0% vs 30,0%), como esperado numa população de um país do Sul da Europa, com alta prevalência estimada de alergia a LTP (24,35). Apesar de muito descrita em populações asiáticas, desconhece-se a prevalência da alergia a ω 5G no Sul da Europa e este trabalho mostrou que a ω 5G terá particular importância enquanto alérgénio implicado na CEFA, mesmo numa população com grande sensibilização a LTP.

Não foi encontrada diferença na distribuição por sexo nos doentes com CEFA-LTP; já no grupo de doentes CEFA- ω 5G o sexo masculino foi ligeiramente mais pre-

valente (50,0% vs 66,7%), como no trabalho de Kennard L, *et al.* (12).

Nesta amostra, os doentes com CEFA- ω 5G são significativamente mais velhos ($p=0,016$), com uma idade média ao diagnóstico de cerca de 11 anos superior à dos doentes com CEFA-LTP (idade média de 41 ± 16 anos versus 29 ± 9 anos). Devem, porém, ser tidas em conta as limitações inerentes ao reduzido tamanho amostral, às diferenças na distribuição do número de doentes (2,3 vezes mais doentes no grupo CEFA-LTP), e à dificuldade na suspeição e diagnóstico, muitas vezes tardio, da CEFA- ω 5G.

Como esperado, o exercício foi o cofator mais frequente em ambos os grupos: 88,2% dos doentes do grupo CEFA-LTP e 86,7% dos do grupo CEFA- ω 5G (3,4). Ao contrário do clássico conceito de WDEIA, no qual o exercício é o único cofator na alergia a ω -5-gliadina, nesta amostra foram também identificados os AINE, em 3 doentes, como cofator isolado relevante. No grupo CEFA-LTP, além do exercício e AINE, o álcool foi também um cofator relevante (5,12).

A tolerância ao alergénio na ausência de cofatores associou-se com a CEFA- ω 5G ($p<0,01$); todos os doentes com CEFA- ω 5G toleravam trigo quando os cofatores estavam ausentes; já nos com CEFA-LTP, apenas uma minoria de doentes (32,4%) apresentava tolerância ao alimento na ausência de cofatores. Este dado poderá permitir dietas menos restritivas no grupo de doentes com CEFA- ω 5G.

A rinite, seguida da asma, foram as comorbilidades mais frequentes no grupo CEFA-LTP. A UC foi a principal comorbilidade nos doentes com CEFA- ω 5G, encontrando-se uma associação entre a estas duas entidades ($p=0,007$); este dado vai de encontro a estudos que abordam o papel da ω 5G na UC (34).

Foi descrita anafilaxia em 21 doentes (61,8%) com CEFA-LTP, 2 destes com choque anafilático, e em 12 doentes (80,0%) com CEFA- ω 5G, 5 dos quais com choque. Nesta amostra foi encontrada uma associação entre o alergénio envolvido na reação (LTP vs ω 5G) e a gravidade da reação ($p=0,02$). Na literatura, a alergia a ω 5G

está associada a reações mais graves do que a alergia a LTP, o que se verificou na presente população; os doentes com CEFA- ω 5G tiveram 8 vezes a *odd* de choque anafilático dos doentes do grupo CEFA-LTP (OR=8,0, IC 95% [1,34-47,7] ($p=0,02$)) (5,9,10).

Após instituição das dietas de evicção, verificaram-se diferenças no número de reações acidentais entre grupos; 64,7% dos doentes com CEFA-LTP e 46,7% dos com CEFA- ω 5G tiveram reações acidentais durante a dieta de evicção. Assim, as reações acidentais associaram-se com a CEFA-LTP ($p=0,043$). A reação acidental foi mais grave que a primeira em 22,7% e 28,6% dos doentes, respetivamente.

Quando avaliamos o valor diagnóstico dos TCP, na CEFA-LTP, os TCP com LTP revelaram-se particularmente importantes, sendo positivos em 30 dos 34 doentes com CEFA-LTP testados, apresentando assim uma sensibilidade de 88,2%. O mesmo não foi verificado para TCP com outros frutos frescos ou secos. No grupo de doentes com CEFA- ω 5G, os TCP com trigo não se mostraram particularmente úteis (positivos em 5 dos 12 testados, 41,7%), porém, os TCP com gliadina foram positivos em 10 dos 12 doentes testados (83,3%). O VPP do TCP com gliadina foi, assim, de 90,9%, sendo 45,5% com o extrato de trigo. Nesta amostra, o TCP com gliadina revelou-se o mais útil no diagnóstico de CEFA- ω 5G, corroborando o facto de o uso de gliadina aumentar a rentabilidade diagnóstica dos TC na CEFA- ω 5G (15).

Apesar de não haver significância estatística, os doentes com CEFA-LTP tiveram medianas de IgEs a Pru p 3 mais baixas que as IgE a Tri a 19 dos doentes com CEFA- ω 5G (4,5 kU/L vs 6,7 kU/L), também refletida na IgE específica mínima e máxima (ver Tabela 3). É importante referir que, se utilizado *cutt-off* arbitrário de 0,35 kU/L falharíamos o diagnóstico de apenas um doente com CEFA-LTP, embora em ambos os grupos os valores de IgE específica a ω 5G e a LTP sejam baixos (medianas de 4,5 e 6,7 kU/L). Este doente, com IgE específica para Pru p 3 $<0,35$ kU/L e clínica da anafilaxia a noz com exercício como cofator, apresentava valores de IgE específica para

Jug r 3 e Cor a 8 de 0,47 e 0,35 kU/L, respetivamente, confirmando o diagnóstico de CEFA-LTP, apesar de o “marcador” de alergia a LTP (Pru p 3) ter o valor mais baixo de entre os três alérgenos moleculares da família LTP doseados (27,29).

Existem várias limitações ao presente estudo que devem ser referidas, começando pelo reduzido tamanho amostral e análise retrospectiva. Outra importante limitação, alvo de alguma controvérsia, reside no facto de não terem sido realizadas provas de provocação com os alimentos suspeitos na presença e na ausência dos cofatores. Neste trabalho, o diagnóstico baseou-se na deteção de IgE específicas a Tri a 19 e Pru p 3, corroborado por alguns trabalhos que discutem a necessidade de provas de provocação nestes doentes, considerando o risco associado à sua realização (particularmente na alergia a ω 5G), os custos diretos e indiretos e o elevado VPP da IgE específica a Tri a 19 e Pru p 3 no contexto de CEFA (16,17,30,31,32).

A tolerância aos alimentos na ausência dos cofatores em questão, bem como a tolerância dos cofatores na ausência destes alimentos, corroboram também o diagnóstico.

O único doente com CEFA a ambos os alérgenos não apresentava reações mais graves do que os restantes e tolerava cofatores e alimentos quando ingeridos em separado. A limitada descrição na literatura sobre CEFA a múltiplos alimentos não permite inferir comparações.

CONCLUSÕES

O diagnóstico de CEFA exige um alto índice de suspeição clínica, pois a tolerância posterior a um alimento suspeito não permite excluir o diagnóstico e a identificação de cofatores pode ser difícil. Deste modo, a anamnese cuidada com alto índice de suspeição é o primeiro passo para aumentar a acurácia do diagnóstico. Na nossa população, as LTP foram o alérgeno mais frequente, e o exercício o cofator mais identificado. Contudo, a ω 5G foi identificado como o alérgeno envolvido na CEFA em

30% dos doentes e associou-se a reações mais graves (anafilaxia com choque). Assim, nos doentes com história clínica sugestiva de CEFA, mesmo em áreas com alta prevalência de sensibilização a LTP, deve ser considerado o trigo (ω 5G) como possível suspeito e a alergia a ω 5G deve ser ativamente pesquisada.

Neste trabalho, os TC a gliadina revelaram utilidade no diagnóstico de alergia a ω 5G, contrariamente ao TC com trigo; um teste negativo ao trigo não exclui a alergia a Tri a 19. O diagnóstico molecular com IgE específicas a Pru p 3 e Tri a 19 parece ser uma ferramenta essencial na abordagem diagnóstica de doentes com suspeita de CEFA. O elevado VPP da IgE a Tri a 19 permite estabelecer o diagnóstico definitivo de CEFA- ω 5G, evitando provas de provocação, que acarretam elevado risco e custos diretos e indiretos.

A relevância da ω 5G e da LTP na CEFA parece variar entre populações. Por oposição às LTP, pouco se sabe sobre a alergia a ω 5G no Sul da Europa e fica por determinar qual destes alérgenos é mais relevante nestas populações. Por estas razões, a alergia a Tri a 19 deve ser ativamente pesquisada, sobretudo quando na presença de cofatores.

Conflito de interesses

Os autores declaram que não existem conflitos de interesses.

ORCID

Joana Queirós Gomes  0000-0002-2228-2657

Joana Barradas Lopes  0000-0002-9798-5429

Maria João Sousa  0000-0003-1211-856X

Susana Cadinha  0000-0001-6259-6135

Ana Reis Ferreira  0000-0002-2446-8551

Autora correspondente:

Joana Queirós Gomes

R. Conceição Fernandes S/N

4434-502 Vila Nova de Gaia, Portugal

E-mail: joanarqueios@gmail.com

REFERÊNCIAS

1. Maulitz RM, Pratt DS, Schocket AL. Exercise-induced anaphylactic reaction to shellfish. *J Allergy Clin Immunol* 1979;63:433-4. doi: 10.1016/0091-6749(79)90218-5.
2. Ansley L, Bonini M, Delgado L, Del Giacco S, Du Toit G, Khaitov M, et al. Pathophysiological mechanisms of exercise-induced anaphylaxis: an EAACI position statement. *Allergy* 2015;70:1212-21. doi: 10.1111/all.12677.
3. Wölbing F, Fischer J, Köberle M, Kaesler S, Biedermann T. About the role and underlying mechanisms of cofactors in anaphylaxis. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol* 2013;68:1085-92. doi: 10.1111/all.121934.
4. 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;73:1322-30. doi: 10.1111/all.133805.
5. Cardona V, Luengo O, Garriga T, Labrador-Horrillo M, Sala-Cunill A, Izquierdo A, et al. Co-factor-enhanced food allergy. *Allergy* 2012;67:1316-8. doi: 10.1111/j.1398-9995.2012.02877.x.
6. Oropeza AR, Bindslev-Jensen C, Broesby-Olsen S, Kristensen T, Møller MB, Vestergaard H, et al. Patterns of anaphylaxis after diagnostic workup: A follow-up study of 226 patients with suspected anaphylaxis. *Allergy* 2017;72:1944-52. doi: 10.1111/all.13207.
7. Worm M, Moneret-Vautrin A, Scherer K, Lang R, Fernandez-Rivas M, Cardona V, et al. First European data from the network of severe allergic reactions (NORA). *Allergy* 2014;69:1397-404. doi: 10.1111/all.124756.
8. 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. doi: 10.1111/all.12272.
9. Muñoz-Cano R, Bartolome CS, 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. *C Front. Immunol* 2021;11:1-8. doi: 10.3389/fimmu.2020.623071.
10. Benito-García F, Ansotegui IJ, Morais-Almeida M. Diagnosis and prevention of food-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Expert Rev Clin Immunol* 2019;15(8):849-56. doi: 10.1080/1744666X.2019.1642747.
11. Morita E, Chinuki Y, Takahashi H, Nabika T, Yamasaki M, Shiwaiku K. Prevalence of wheat allergy in Japanese adults. *Allergol Int* 2012;61:101-5. doi: 10.2332/allergolint.11-OA-0345.
12. Kennard L, Thomas I, Rutkowski K, Azzu V, Yong PFK, Kasternow B, et al. A multicenter evaluation of diagnosis and management of omega-5 gliadin allergy (also known as wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis) in 132 adults. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2018;6(6):1892-7. doi: 10.1016/j.jaip.2018.02.013.
13. Hei Li P, Thomas I, Wong J, Rutkowski K, Lau C. Differences in omega-5-gliadin allergy: East versus West. *Asia Pac Allergy* 2020;10(1):1-8. doi: 10.5415/apallergy.2020.10.e5.
14. Scherf KA, Brockow k, Biedermann T, Koehler P, Wieser H. Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 2015;46:10-20. doi: 10.1111/cea.12640.
15. Ferreira F, Inácio F. Patologia associada ao trigo: Alergia IgE e não IgE mediada, doença celíaca, hipersensibilidade não celíaca, FODMAP. *Rev Port Imunoalergologia* 2018;26(3):171-87.
16. Park HJ, Kim JH, Kim JE, Jin HJ, Choi GS, Ye YM, et al. Diagnostic value of the serum-specific IgE ratio of omega-5 gliadin to wheat in adults with wheat-induced anaphylaxis. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157:147-50. doi: 10.1159/000327549.
17. Jacquenet S, Morisset M, Battais F, Denery-Papini S, Croizier A, Baudouin E, et al. Interest of ImmunoCAP system to recombinant omega-5 gliadin for the diagnosis of exercise-induced wheat allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2008;149:74–80. doi: 10.1159/000176309.
18. Santos, Alexandra F, and Helen A Brough. Making the most of in vitro tests to diagnose food allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017;5(2):237-48. doi: 10.1016/j.jaip.2016.12.003.
19. Shibata R, Nishima S, Tanaka A, Borres MP, Morita E. Usefulness of specific IgE antibodies to omega-5 gliadin in the diagnosis and follow-up of Japanese children with wheat allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011;107:337-43.
20. Ebisawa M, Shibata R, Sato S, Borres MP, Ito K. Clinical utility of IgE antibodies to omega-5 gliadin in the diagnosis of wheat allergy: a pediatric multicenter challenge study. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;158:71-6.
21. Costa AC, Melo A, Duarte F, Pereira-Barbosa M, Pereira Santos MC. Eficácia e tolerância de imunoterapia sublingual com Pru p 3 em doentes com alergia grave ao pêssego – evolução clínica e imunológica ao longo de 12 meses. *Rev Port Imunoalergologia* 2015;23(1):11-9.
22. Egger M, Hauser M, Mari A, Ferreira F, Gadermaier G. The role of lipid transfer proteins in allergic diseases. *Curr Allergy Asthma Rep* 2010;10:326-35. doi: 10.1007/s11882-010-0128-9.
23. Skypala IJ, Asero R, Barber D, Cecchi L, Perales AD, Hoffmann-Sommergruber K, et al. Non-specific lipid-transfer proteins: Allergen structure and function, cross-reactivity, sensitization, and epidemiology. *Clin Transl Allergy* 2021;1-13. doi: 10.1002/ctt2.12010.
24. Rodrigues-Alves R, Lopes A, Pereira-Santos MC, Lopes-Silva S, Spinola-Santos A, Costa C, et al. Clinical, anamnestic and serological features of peach allergy in Portugal. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;149:65-73. doi: 10.1159/000176308.
25. Silva P, Pestana L, Costa A, Barbosa M. Frequency of lipid transfer protein (Pru p 3) and profilin (Pru p 4) sensitization in 1052 patients referenced to an Imunoalergologia Department in Lisbon. *Allergy* 2013;3(Suppl 3):59.

26. Aruanno A, Urbani S, Frati F, Nucera E. LTP allergy/sensitization in a pediatric population. *Allergol Immunopathol* 2020;48(6):763-70. doi: org/10.1016/j.aller.2020.03.004.
27. Asero R, Piantanida M, Pinter E, Pravettoni V. The clinical relevance of lipid transfer protein. *Clin Exp Allergy* 2018;48:6-12. doi: 10.1111/cea.13053.
28. Costa AC, Duarte F, Pedro E, Campos A, Pereira-Barbosa M, Pereira Santos MC. Imunoterapia sublingual com pêssego (Pru p 3) – Eficácia e segurança. *Rev Port Imunoalergologia* 2015;23(4): 211-22.
29. 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;112:789-95.
30. Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Scibilia J, Mascheri A, Bor-gonovo 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;156:362-72. doi: 10.1159/000324440.
31. 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* 2019;75:616-24. doi: 10.1111/all.14040.
32. Balsells-Vives S, San-Bartolomé C, Casas-Saucedo R, Ruano-Zaragoza M, Rius J, Torradeflot M, et al. Low levels matter: Clinical relevance of low Pru p 3 sIgE in patients with peach allergy. *Frontiers in Allergy* 2022;3:1-6. doi: 10.3389/falgy.2022.868267.
33. Brown SG. Clinical features and severity grading of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2004 Aug;114(2):371-6. doi: 10.1016/j.jaci.2004.04.029.
34. Xu Y, Jiang N, Wen L, Li H, Yin J. Wheat allergy in patients with recurrent urticaria. *WAO journal* 2019;12:1-6. doi:10.1016/j.wao-jou.2019.100013.