

# L'allergia secondaria alla soia in bambini con allergia al polline di betulla può causare sintomi sia cronici che acuti

Liliane F. A. De Swert<sup>1</sup>, Romy Gadisseur<sup>2</sup>, Sigrid Sjölander<sup>3</sup>, Marc Raes<sup>1</sup>, Jasmine Leus<sup>1</sup> & Erna Van Hoeyveld<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pediatric Allergy, Department of Pediatrics, University Hospital Gasthuisberg, Leuven, Belgium; <sup>2</sup>Department of Clinical Chemistry, University Hospital of Liège, Liège, Belgium; <sup>3</sup>Phadia AB, Uppsala, Sweden; <sup>4</sup>Laboratory Medicine, University Hospital Gasthuisberg, Leuven, Belgium

## Parole chiave

allergia secondaria alla soia; sintomi; test cutaneo; sIgE; Gly m 4

## Abstract

**Background.** L'allergia secondaria alla soia che si presenta in pazienti allergici ai pollini di alberi può dare luogo a sintomi acuti.

**Metodi.** Abbiamo selezionato bambini con allergia al polline di betulla sospettati di essere anche allergici alla soia (SA). L'allergia alla soia era dimostrata in base a: (i) una storia clinica suggestiva; (ii) un test di provocazione positivo; e (iii) eliminazione e reintroduzione della soia. Venivano realizzati prick test (SPT) con un estratto commerciale di soia e con farina di soia. IgE specifiche a Gly m 4, Gly m 5, e Gly m 6 erano determinate mediante ImmunoCAP e ISAC. Otto bambini atopici tolleranti alla soia con CAP a rGly m 4 negativo servivano da gruppo di controllo per i test cutanei.

**Risultati.** Di 15 soggetti con allergia al polline di betulla e sospettati di allergia alla soia, era dimostrato che 8 erano SA e che 7/15 erano tolleranti alla soia (ST). Oltre ai sintomi acuti in 8/8 soggetti SA, 3/8 soggetti riportavano sintomi cronici gravi a causa dell'allergia alla soia. SPT con estratti commerciali erano negativi in tutti i soggetti SA e ST. Gli SPT con farina di soia erano positivi in 8/8 soggetti SA e in 5/6 soggetti ST, ma negativi in tutti gli 8 controlli ( $p < 0.0001$ ); il diametro medio del pomfo era 7.7 mm nei soggetti SA, paragonato ai 3 mm dei soggetti ST ( $p < 0.01$ ). Il livello medio di IgE a rGly m 4 mediante CAP e ISAC era, rispettivamente, 32.4 kU/l e 4.0 ISU nei soggetti SA, paragonato a 6.2 kU/l e 0.4 ISU dei soggetti ST ( $p < 0.05$ ). L'analisi delle IgE a nGly m 5 e a nGly m 6, usando CAP o ISAC, non mostrava differenze significative tra i soggetti SA e i soggetti ST.

**Conclusioni.** L'allergia secondaria alla soia oltre a sintomi acuti può causare sintomi cronici gravi. L'SPT con farina di soia è uno strumento sensibile e specifico nell'individuazione della sensibilizzazione alla soia. L'SPT con farina di soia, il CAP per rGly m 4, e l'ISAC per rGly m 4 sono strumenti rilevanti nella diagnosi di allergia secondaria alla soia associata al polline di betulla.

L'allergia secondaria alla soia si può sviluppare nei pazienti con allergia al polline di betulla come conseguenza di una cross-reattività tra la soia e il polline di betulla (1). Gly m 4, una proteina della soia appartenente alla famiglia delle proteine PR-10, ha dimostrato di essere il maggiore allergene della soia per i pazienti allergici al polline di betulla con allergia alla soia (2). I sintomi presentati da questi pazienti all'assunzione di un alimento contenente soia

sono tipicamente acuti e possono variare da moderati a severi (1-3). Differenze nella severità dei sintomi possono in parte essere spiegate dalle diverse quantità di Gly m 4 contenute nei prodotti di soia, che possono dipendere dal processo di produzione alimentare (2). Si è rilevato che il grado di cross-reattività con Gly m 4 nei pazienti altamente sensibilizzati a Bet v 1 è del 70%. Circa il 10% di questi pazienti sensibilizzati a Gly m 4 riportano allergia

clinica alla soia. I prick test (SPT) eseguiti con un estratto commerciale e con farina di soia erano positivi nella maggioranza dei pazienti nei quali veniva testata l'allergia alla soia (2,3). Tuttavia non è stato fatto un confronto con i pazienti sensibilizzati alla soia in assenza di allergia clinica. In uno studio su pazienti allergici alla soia (SA), con o senza sensibilizzazione a Bet v 1, è stato recentemente osservato che la reattività delle IgE alle soy storage proteins Gly m 5 e Gly m 6 viene riscontrata più frequentemente nei soggetti con sintomi gravi o moderati collegati alla soia che nei soggetti con sintomi lievi (4). Nei bambini, l'allergia alla soia è conosciuta principalmente come una allergia alimentare primaria che si presenta in giovane età e che si risolve durante l'infanzia (5,6). L'allergia secondaria alla soia associata all'allergia al polline di betulla è stata descritta principalmente negli adulti (1,2). Tuttavia alcuni casi sono stati riportati in età pediatrica (3,7).

Lo scopo dello studio era descrivere la presentazione clinica dell'allergia alla soia in bambini con allergia al polline di betulla, e valutare i risultati dell' SPT e del sIgE a Gly m4, Gly m 5 e Gly m 6 in bambini allergici al polline di betulla con allergia alla soia, confrontati con bambini allergici al polline di betulla con sola sensibilizzazione alla soia.

## **Metodi**

### **Pazienti**

Nell'ambulatorio di allergologia del nostro dipartimento abbiamo selezionato soggetti con allergia al polline di betulla sospettati di essere allergici anche alla soia. L'allergia al polline di betulla era stata diagnosticata sulla base dei tipici sintomi allergici durante la stagione dei pollini di betulla in combinazione a una risposta IgE positiva alla betulla o a rBet v 1. Era stata registrata l'età in cui si erano presentati i sintomi per la prima volta. L'allergia alla soia era sospettata sulla base della storia clinica. Era considerata provata in caso di: (i) evidenza nella storia clinica di una reazione acuta alla soia; (ii) un test di provocazione positivo alla soia; (iii) eliminazione e reintroduzione della soia con conseguente e rispettiva scomparsa e ricomparsa di sintomi allergici. La provocazione alla soia era eseguita in soggetti con sintomi acuti sospettati di essere collegati alla soia. L'eliminazione e la reintroduzione della soia erano realizzate in soggetti con sintomi cronici sospettati di essere causati dalla soia. Venivano registrate anche altre documentate allergie alimentari o respiratorie. Abbiamo registrato in particolare segni e sintomi di sindrome orale allergica (OAS).

### **Provocazione alla soia**

Al momento del challenge i soggetti stavano seguendo da almeno 8 settimane una dieta priva di soia. Abbiamo realizzato un challenge in aperto con una bevanda a base di soia naturale del marchio Alpro® (Alpro, Wevelgem, Belgio). Il challenge cominciava con l'applicazione di una goccia di bevanda a base di soia nella parte interna del labbro inferiore. Se non si presentava alcuna reazione entro 15 minuti, venivano somministrate dosi crescenti di 1, 2, 5, 10, 20, 40, 80 ml di bevanda di soia a intervalli di 20 minuti, fino al comparire di oggettivi sintomi allergici o fino al raggiungimento della dose totale di 158 ml. Dopo il challenge i bambini erano tenuti sotto controllo per due ore. Se in questo intervallo di tempo non si presentavano sintomi, veniva chiesto ai genitori di somministrare ai figli un volume giornaliero di 120 ml di drink di soia nelle due settimane successive, mentre la loro dieta a parte questo rimaneva invariata. I bambini venivano rivalutati dopo due settimane, o prima in caso di problemi (8-10).

### **Eliminazione e reintroduzione della soia**

L'eliminazione della soia dalla dieta per almeno 8 settimane, seguita dalla sua reintroduzione, era realizzata fuori dalla stagione dei pollini, senza nessun altro cambiamento nella dieta o nell'approccio terapeutico. Per la reintroduzione della soia abbiamo proposto la bevanda di soia naturale Alpro® o della pasta contenente soia (Lotus Speculoospasta®; Lotus Bakeries, Lembeke, Belgio), in base alle precedenti abitudini alimentari del soggetto. Il contenuto di farina di soia nella bevanda di soia e nella pasta è rispettivamente di 6,4 g/100 ml e di 4,5 g/100 g. Si era a conoscenza del fatto che gli altri ingredienti della bevanda di soia e della pasta erano ben tollerati dai soggetti. La reintroduzione della soia era realizzata a casa attraverso dosi giornaliere crescenti di bevanda di soia o di pasta fino al comparire dei sintomi o fino a raggiungere la quantità che veniva assunta in precedenza. Queste quantità andavano mantenute per almeno due settimane. Le quantità introdotte erano registrate. Alla fine di questo periodo, o prima in caso di problemi, veniva pianificata una visita di controllo.

### **Prick test**

Gli SPT erano realizzati con una micro lancia (HAL pricklancet, The Netherlands) con un estratto commerciale di soia (HAL, The Netherlands) e con una dilui-

zione di farina di soia di 1/10 w/v (Sojameel, Biofresh, Genk, Belgium). Istamina difosfato (1mg/ml) e una soluzione di Coca in 50% di glicerolo erano usate rispettivamente come controllo positivo e negativo. I risultati erano valutati in accordo alle raccomandazioni della European Academy of Allergy and Clinical Immunology (11). In sintesi le reazioni cutanee erano registrate dopo 15 minuti; venivano misurati i diametri ortogonali e venivano calcolati diametri medi. Un SPT era considerato positivo quando il diametro medio del pomfo era di 3 mm o più, dopo sottrazione del diametro del pomfo prodotto dal controllo negativo. Per escludere risultati dell'SPT positivi non specifici, era incluso un gruppo di controllo di 8 bambini atopici ma che tolleravano la soia e che erano negativi al CAP con rGly m 4.

### **Determinazione delle IgE totali e specifiche**

Le IgE totali e specifiche per la soia, rGly m4 e rBet v 1, sono state determinate usando il sistema ImmunoCAP® FEIA (Phadia AB, Uppsala, Svezia) in accordo alle istruzioni dei produttori. Test ImmunoCAP con Gly m 5 e Gly m 6 purificati nativi sono stati sviluppati per coniugazione degli allergeni a una matrice ImmunoCAP CNBr attivata, in base al metodo standard di Phadia AB, come descritto altrove (12). Le risposte ImmunoCAP sia commerciali che sperimentali erano considerate positive se i valori di IgE erano  $\geq 0,10$  kU/l.

I livelli di IgE di rGly m 4, nGly m 5, nGly m 6 e rBet v 1 sono stati determinati anche usando i microarray ImmunoCAP ISAC (Phadia AB). I campioni sono stati analizzati in accordo alle raccomandazioni della casa produttrice. Pertanto, abbiamo usato i reagenti del "Assay Kit IgE" usando delle IgE anti-umane fluorescenti coniugate (anticorpo monoclonale murino) (13). I risultati erano espressi in unità standard ISAC e considerati positivi se  $\geq 0,3$  ISU. Da questo momento in poi ci si riferirà alla misurazione di sIgE con ImmunoCAP come a "CAP" e ci si riferirà all'analisi di sIgE mediante ImmunoCAP ISAC come a "ISAC".

### **Analisi statistica**

I risultati sono stati analizzati attraverso il Test di Fischer, il test U di Mann-Whitney o il rank test di Spearman. Per il calcolo della sensibilità, della specificità, del valore predittivo positivo (PPV), del valore predittivo negativo (NPV) e della performance dell'SPT, del CAP con rGly m 4 e dell'ISAC con rGly m 4, nel gruppo SA abbiamo preso il 25° percentile dei rispettivi valori come cutoff.

## **Risultati**

### **Soggetti e sintomi**

Quindici soggetti (nove bambini e sei bambine) sono entrati nello studio. L'età media della popolazione in studio era 10,2 anni (range 4,7-16 anni). L'età, la durata dell'allergia ai pollini di alberi, e i sintomi presentati all'arruolamento sono illustrati nella tabella 1. Otto soggetti su quindici erano allergici alla soia (SA). Da qui in avanti ci si riferirà a questi soggetti come a SA, mentre i soggetti tolleranti (ST) verranno chiamati ST. La tabella 1 riassume la modalità di diagnosi di allergia alla soia, i sintomi risolti tramite eliminazione o indotti tramite provocazione/reintroduzione della soia, così come la dose di induzione. Tutti gli otto soggetti con allergia alla soia hanno mostrato sintomi acuti oggettivi all'evento acuto o alla provocazione /reintroduzione di soia. Quattro di questi hanno avuto una anafilassi. Due degli otto soggetti SA hanno anche sperimentato sintomi soggettivi di OAS. Tre degli otto soggetti SA (soggetto C, F, e G) avevano sofferto di prurito cronico grave generalizzato durato 12-20 mesi. Di questi tre soggetti, due avevano anche sperimentato alcuni episodi di orticaria; il terzo soggetto aveva anche sofferto di diarrea cronica e dermatite atopica generalizzata. Era stato possibile controllare il prurito generalizzato in questi tre soggetti solo attraverso l'assunzione giornaliera di alte dosi di antistaminico per tutto l'anno. Questi problemi cronici sono scomparsi completamente nei soggetti C e G con la sola eliminazione della soia dalla dieta, mentre nel soggetto F persistevano solo lesioni eczematose nelle pieghe delle ginocchia. Inoltre, dopo l'eliminazione della soia dalla dieta, gli antistaminici sono stati sospesi al di fuori della stagione dei pollini in tutti e tre i soggetti. Rilevante è il fatto che prima dell'inizio della dieta di eliminazione della soia, tutti e tre i soggetti consumassero prodotti contenenti soia tutti i giorni: assunzione giornaliera di bevande di soia nel soggetto F e di pasta contenente soia nei soggetti C e G. In tutti gli otto soggetti SA, i sintomi collegati alla soia si presentavano e/o persistevano al di fuori della stagione dei pollini di betulla. L'età al momento dello studio, la durata dell'allergia ai pollini al momento dello studio e la frequenza di OAS non sono stati significativamente differenti nel gruppo SA in confronto al gruppo ST (Tabella 2).

### **Prick test**

I risultati degli SPT nei soggetti SA e in quelli ST sono mostrati nella tabella 3. Gli SPT con farina di soia erano

**Tab. 1.** Et , durata dell'allergia ai pollini di albero, sintomi alla presentazione, modalit  di diagnosi di allergia/tolleranza alla soia, sintomi di allergia alla soia, e altre allergie documentate in quindici soggetti con allergia ai pollini di albero

Allergia alla soia									
Soggetto	Et� del soggetto/durata dell'allergia ai pollini di albero (anni)	Sintomi alla presentazione	Modalit� di diagnosi di allergia/tolleranza alla soia	Indotto dalla soia			Intervallo di tempo* (minuti)	Altre allergie documentate	
				Risoluzione alla eliminazione della soia	Sintomi alla reintroduzione	Evento acuto/ test di provocazione			Dose di induzione (soia, mg)
A	12,5/6,5	An;As;OAS;RhC	Storia clinica suggestiva	na	na	An (A;Ab;Dy;RhC;Wh)	2	GP;Fs	
B	5/2,5	RhC;OAS	Test di provocazione	na	na	RhC;T <sub>r</sub>	100	GP;HDM;Fs	
C	13/9	As;Ig;OAS;RhC;U	E/R	Ig;U	An (Ig;RhC;T <sub>r</sub> )	na	5	GP;pesce;Fs	
D	7,2/1	An;RhC	Storia allergica suggestiva	na	na	An (A;Sw)	5	GP	
E	8,2/1	OAS;RhC	Storia allergica suggestiva	na	na	OAS;Ho;Sw	2	Fs	
F	4,8/2,5	As;D <sub>ch</sub> ;E;Ig;OAS;RhC	E/R	Ig;D <sub>ch</sub> ;E	An (Ig;R;D)	na	20	HDM;GP;K;B;Fs	
G	12,9/5	As;Ig;OAS;RhC;U	E/R	Ig;U	I;U	na	20	GP;Fs	
H	15,6/7	OAS;RhC	Storia allergica suggestiva	na	na	OAS;Ls	2	HDM;GP;Fs	
I	14,5/10	As;E;OAS;RhC	E/R	nessuna	nessuna	na	na	CM;HDM;GP;Fs	
J	16/7	As;OAS;RhC	E/R	nessuna	nessuna	na	na	GP;P;Fs	
K	8,4/5	As;RhC;H <sub>ch</sub>	E/R	nessuna	nessuna	na	na	GP;WP	
L	4,7/2	As;E;RhC	Test di provocazione	na	na	nessuna	na	CM;uovo;HDM;GP	
M	11,5/1	RhC;U	Test di provocazione	na	na	nessuna	na	HDM;GP	
N	8,8/6	As;E;OAS;RhC	E/R	nessuna	nessuna	na	na	Clad;GP;P;Fs	
O	10,1/3,5	As;E;OAS;RhC;U	E/R	nessuna	nessuna	na	na	HDM;GP;Fs	

\*A, angioedema; Ab, dolore addominale; An, anafilassi; As, asma; D, diarrea; D<sub>ch</sub>, diarrea cronica; Dy, dispnea; E, eczema; H<sub>ch</sub>, cefalea cronica; Ho, raucedine; I, prurito; Ig, prurito generalizzato; Ls, edema delle labbra; OAS, sindrome allergica orale; R, rashi; RhC, rinocongiuntivite; Sw, difficolt  nella deglutizione; T<sub>r</sub>, edema della laringe; U, orticaria; Wh, wheezing.

E/R, eliminazione/reintroduzione

Allergie documentate oltre a quella ai pollini di alberi e alla soia: GP, graminacee; HDM, acari della polvere; Fs, frutta, secondaria all'allergia ai pollini; K, kiwi (primaria); B, banana (primaria); CM, latte vaccino; P, animali domestici; WP, pollini di weed; Clad, ciadsporium.

na, non applicabile; ne, non eseguito

\*Intervallo di tempo tra l'inizio dell'ingestione di soia e l'apparire di sintomi.

**Tab. II.** Età, durata dell'allergia ai pollini di alberi, sindrome allergica orale (OAS), prick tests (SPT) con farina di soia, CAP alla soia, CAP a rGly m 4 e ISAC a rGly m 4 in soggetti allergici alla soia e in soggetti sensibilizzati alla soia ma tolleranti.

	Allergici alla soia (SA)	Tolleranti alla soia (ST)	p
Età (anni)			
Range	4,8–15,6	4,7–16	ns*
Mediana	10,3	10,1	
Durata dell'allergia ai pollini di alberi (anni)			
Range	1–9	1–10	ns*
Mediana	3,7	3,5	
Numero di soggetti con OAS	7/8	4/7	ns**
SPT con farina di soia: diametro medio del pomfo (mm)			
Range	5–11,5	2–5,5	< 0,01*
Mediana [IQR]	7,75 [7–8,75]	3 [3–4,5]	
CAP alla soia (kU/l)			
Range	< 0,10–10,50	< 0,10–2,83	ns*
Mediana [IQR]	0,27 [0,10–3,13]	0,40 [< 0,10–2,43]	
CAP a rGly m 4 (kU/l)			
Range	2,67–>100	0,30–17,20	< 0,01*
Mediana [IQR]	32,36 [17,6–49,05]	2,26 [1,00–16,70]	
ISAC a rGly m 4 (ISU)			
Range	0,9–62,00	< 0,3–2,1	< 0,05*
Mediana [IQR]	4,0 [1,0–21,0]	0,4 [< 0,3–0,7]	
CAP a rGly m 4/IgE totali			
Range	0,019–0,187	0,004–0,059	< 0,01*
Mediana [IQR]	0,069 [0,053–0,125]	0,007 [0,007–0,018]	

IQR, intervalli interquartile sono indicati tra parentesi quadre.

\*Mann-Whitney U.

\*\*Test di Fisher

positivi in 8 SA su 8 e in 5 ST su 6, mentre erano negativi in tutti i controlli (SA + ST confrontati con i controlli: Test di Fischer  $p < 0,0001$ ). Il diametro medio dei pomfi degli SPT con farina di soia era significativamente più grande nei soggetti SA confrontati ai soggetti ST (tabella 2). La capacità diagnostica degli SPT con farina di soia al cutoff di 7 mm è mostrato nella tabella 4.

### IgE totali e specifiche

La tabella 3 mostra i livelli totali di IgE e le risposte IgE determinate attraverso il CAP per la soia, rGly m 4,

nGly m 5, nGly m 6 e rBet v 1, e le risposte IgE determinate attraverso ISAC per rGly m 4, nGly m 5, nGly m 6. Il valore mediano e i range interquartili di risposte IgE alla soia e a rGly m 4 nel gruppo SA, confrontato col gruppo ST, sono illustrati nella tabella 2. Il rapporto del CAP per rGly m 4 e le IgE totali è stato calcolato in 8/8 nei soggetti SA e 5/7 nei soggetti ST; il range, la mediana, e il range interquartile di questo rapporto in entrambe i gruppi sono mostrati nella tabella 2. Abbiamo osservato una correlazione significativa tra le risposte IgE a rGly m 4 usando CAP e ISAC (Spearman rank:  $p < 0,05$ ). Non c'era correlazione tra CAP alla soia e CAP a rGly m 4. La capacità diagnostica di CAP a rGly m 4 al cutoff di 17,6 kU/l e di ISAC a rGly m 4 al cutoff di 1 ISU è mostrato nella tabella 4.

Il CAP a nGly m 5 e a nGly m 6 era positivo in 2/8 SA e in 2/6 ST (ns). Abbiamo osservato risposte IgE a nGly m 5 o nGly m 6 mediante ISAC in 4/7 e in 2/7 soggetti SA, rispettivamente, confrontati a 1/5 soggetti ST (ns). Il CAP a rBet v 1 era positivo in 7/7 soggetti SA e in 5/5 soggetti ST (tabella 3). I due soggetti nei quali il CAP a rBet v 1 non era determinato erano positivi al CAP con betulla, con valori > 100 kU/l (soggetto C) e 5,47 kU/l (soggetto I).

### Discussione

L'allergia secondaria alla soia dovuta alla cross-reattività tra Bet v 1 e Gly m 4 è stata descritta principalmente negli adulti ed è stato riportato che ha causato sintomi allergici acuti all'assunzione di soia (1-4). Qui descriviamo l'allergia secondaria alla soia in otto bambini. Accanto ai sintomi acuti alla soia, descritti in tutti gli otto soggetti, tre di loro hanno anche avuto sintomi cronici, da moderati a gravi, a causa dell'allergia secondaria alla soia. Infatti questi tre soggetti hanno registrato prurito severo generalizzato e orticaria ricorrente o dermatite atopica generalizzata e diarrea cronica, tutti sintomi spariti con la sola eliminazione della soia dalla dieta. A nostra conoscenza questo è il primo documento che descrive sintomi cronici causati da allergia secondaria alla soia. Degno di nota e in qualche misura sorprendente è il fatto che alla reintroduzione della soia tutti e tre i pazienti mostravano immediati sintomi di allergia, con segni di anafilassi da moderata a grave in due di loro. Questo pattern bimodale di reazione, con manifestazioni acute e croniche di allergia, potrebbe essere l'espressione di differenti vie di attivazione: i sintomi cronici potrebbero essere spiegati dall'attivazione di recettori IgE a bassa affinità sugli eosinofili o per il coinvolgimento di cellule T attivate, mentre i sintomi acuti

**Tab. III.** Risultati dei prick test con estratto di soia e farina di soia, IgE totali, risposte IgE all'immunoCAP a soia, rGly m 4, nGly m 5, nGly m 6 e Bet v 1, e risultati delle risposte IgE ottenute mediante ISAC a rGly m 4, nGly m 5, nGly m 6 in soggetti allergici alla soia (SA) e in soggetti tolleranti alla soia (ST).

Soggetti	prick test (mm)		IgE totali CAP		I S A C (ISU)							
	Soia		kU/l		Soia	rGly m 4	nGly m 5	nGly m 6	rBet v 1	rGly m 4	nGly m 5	nGly m 6
	Estratto	Farina										
Allergici alla soia												
A	0,0	6,5	41	0,10	2,67	< 0,10	< 0,10	5,83	0,9	0,7	< 0,3	
B	2,0	7,5	847	1,15	57,10	< 0,10	< 0,10	> 100,00	3,8	< 0,3	< 0,3	
C	0,0	8,5	2011	10,50	37,60	0,25	0,29	nd	17,0	0,8	0,4	
D	0,0	7,5	145	0,44	27,11	< 0,10	< 0,10	68,70	21,0	0,4	< 0,3	
E	1,5	5,0	89	< 0,10	15,40	< 0,10	< 0,10	67,10	4,0	< 0,3	< 0,3	
F	1,5	9,0	2504	5,11	> 100,00	0,57	1,50	> 100,00	62,0	0,9	1,0	
G	2,0	11,5	254	0,11	19,80	< 0,10	< 0,10	> 100,00	1,0	< 0,3	< 0,3	
H	1,0	8,0	574	0,10	41,00	< 0,10	< 0,10	87,70	nd	nd	nd	
Tolleranti alla soia												
I	2,0	4,5	nd	2,83	0,30	0,22	0,24	nd	0,4	0,6	0,4	
J	0,0	5,5	55	< 0,10	1,00	< 0,10	< 0,10	5,42	nd	nd	nd	
K	nd	nd	nd	0,39	16,70	< 0,10	< 0,10	98,90	0,7	< 0,3	< 0,3	
L	0,0	3,0	317	2,43	2,26	0,21	0,43	18,50	< 0,3	< 0,3	< 0,3	
M	0,0	2,0	173	0,94	10,20	< 0,10	1,40	8,24	2,1	< 0,3	< 0,3	
N	0,0	3,0	2518	0,40	17,20	< 0,10	< 0,10	99,20	< 0,3	< 0,3	< 0,3	
O	0,0	3,0	431	< 0,10	1,89	nd	nd	10,80	nd	nd	nd	

**Tab. IV.** Capacità diagnostica dei prick test (SPT), CAP con rGly m 4 e ISAC con rGly m 4 a specifici cutoff.

Cutoff	SPT 7 mm	CAP rGly m 4 17,6 kU/l	ISAC rGly m 4 1 ISU
Sensibilità (%)	75	75	86
Specificità (%)	100	100	80
Valore predittivo positivo (%)	100	100	86
Valore predittivo negativo (%)	75	78	80
Performance (%)	86	87	83

potrebbero essere dovuti all'attivazione IgE mediata di mast-cellule. Una deplezione dei mediatori delle mast-cellule, causata dalla continua assunzione di soia, può spiegare l'assenza di sintomi acuti durante il periodo dell'assunzione giornaliera di soia (14, 15).

Diversamente da un altro studio pediatrico che riportava sintomi legati alla soia che si presentavano durante la stagione dei pollini di betulla, i soggetti del nostro studio avevano sintomi acuti legati alla soia fuori dalla stagione dei pollini di betulla, il che, probabilmente, è una indicazione di sensibilizzazione allergica più grave (7, 16).

Questo è il primo studio che confronta i risultati degli SPT negli allergici alla soia e nei soggetti allergici al polline di betulla sensibilizzati alla soia. In contrasto con lo studio di Mittag et al. (2), gli SPT con estratto di soia davano luogo esclusivamente a reazioni locali in alcuni dei nostri soggetti, con un pomfo di misura inferiore ai 3 mm. Questa differenza nella positività degli SPT potrebbe essere spiegata da un contenuto diverso di Gly m 4 negli estratti usati per il test sulla cute e possibilmente collegati a procedure diverse di estrazione. In confronto, il contenuto di Gly m 4 nei prodotti alimentari a base di soia ha dimostrato di dipendere fortemente dal grado di lavorazione alimentare (2). Nel nostro studio, gli SPT con farina di soia erano positivi in 8/8 soggetti SA e in 6/7 soggetti sensibilizzati, mentre erano negativi in 8/8 bambini del gruppo di controllo. Pertanto gli SPT con farina di soia con un cutoff del diametro del pomfo di 3 mm fornisce uno strumento altamente specifico e sensibile nell'identificare la sensibilizzazione alla soia in pazienti con allergia al polline di betulla. Inoltre, dal momento che la mediana del diametro del pomfo dell'SPT con farina di soia era significativamente più grande nei soggetti SA che in quelli ST, gli SPT con farina di soia forniscono uno strumento

rilevante nella diagnosi dell'allergia secondaria alla soia nei pazienti con allergia al polline di betulla. Era eseguito anche un SPT condotto attraverso prick-to-prick con la bevanda di soia naturale Alpro® (Alpro) o con pasta contenente soia (Lotus Speculoospasta®; Lotus Bakeries), rispettivamente, in due soggetti SA che avevano reagito alla bevanda e in un soggetto SA che aveva reagito alla pasta, così come in due controlli atopici (dati non mostrati). Questo suggerisce che in casi selezionati, i test cutanei con un alimento specifico contenente soia possono essere usati per individuare la loro possibile implicazione nei sintomi allergici.

Le risposte IgE mediate a rGly m 4, determinate attraverso CAP o ISAC, erano significativamente più alte nel gruppo SA, confrontato al gruppo ST. Il fatto che il rapporto del CAP con rGly m 4 con le IgE totali fosse significativamente più alto nel gruppo SA che nel gruppo ST illustra ulteriormente che i due gruppi erano significativamente differenti nell'attività specifica delle IgE a rGly m 4 e non solo nella concentrazione specifica delle IgE (17, 18).

Nella popolazione del nostro studio la sensibilità e specificità dell'SPT con farina di soia a un cutoff di 7 mm erano, rispettivamente, 75% e 100%, mentre il CAP con rGly m 4  $\geq 17.6$  kU/l e ISAC con rGly m 4  $\geq 1$  ISU mostravano rispettivamente una sensibilità di 75% e 86% e una specificità rispettivamente di 100% e 80% per la diagnosi di allergia al polline di betulla associata a un'allergia secondaria alla soia. Tuttavia, prendendo in considerazione i piccoli numeri della coorte in studio, dobbiamo sottolineare che i nostri dati sulla specificità e sensibilità al cutoff dato potrebbero non essere applicabili in generale.

In studi precedenti è stato dimostrato che tra i pazienti altamente sensibilizzati a Bet v 1, la maggioranza di essi mostra sensibilizzazione a rGly m 4, e che il 10% di questi pazienti ha un'allergia clinica alla soia (2). Pertanto è importante distinguere i pazienti sensibilizzati alla soia da quelli con allergia alla soia. Questo diventa ancora più importante in caso di sintomi cronici, per non perdere il coinvolgimento dell'allergia clinica alla soia in questi pazienti. Quindi nei pazienti con allergia al polline di betulla con sintomi cronici, la performance

dell'SPT con farina di soia e la determinazione delle IgE per rGly m 4 usando valori specifici di cutoff potrebbe essere utile per individuare quei soggetti che possono beneficiare di un trial con una dieta priva di soia.

I livelli di IgE ottenuti mediante CAP e ISAC correlavano bene per Gly m 4 ( $p < 0.05$ ). Eccetto per il paziente tollerante "N", la concordanza tra le due tecniche era buona. Le discrepanze potrebbero forse essere spiegate con la differenza nella presentazione degli allergeni. Infatti gli allergeni, fissati alla matrice del CAP o fissati sui vetrini dell'ISAC non mostrano sempre l'epitopo nello stesso modo e i metodi basati su microchip come l'ISAC hanno una superficie limitata e ancora meno capacità antigene-anticorpo, ostacolando una buona identificazione attraverso gli anticorpi IgE. La mancanza di correlazione di risposte degli IgE al CAP con la soia e al CAP con rGly m 4 possono essere spiegate con un basso contenuto di Gly m 4 sull'immunoCAP della soia (3). È stato suggerito che la sensibilizzazione a Gly m 5 o Gly m 6 sia indicativa di reazioni severe allergiche alla soia (4).

Tuttavia, questo studio includeva soggetti positivi a Bet v 1 così come soggetti negativi a Bet v 1. Nel nostro studio su bambini con allergia al polline di betulla i livelli di risposta IgE a Gly m 5 e Gly m 6 mediante CAP o ISAC davano risultati negativi o modestamente positivi, senza differenze significative tra soggetti SA e ST. Questo suggerisce che questi allergeni non sono coinvolti in una allergia secondaria alla soia associata al polline di betulla.

In conclusione, abbiamo dimostrato che l'allergia secondaria alla soia nei bambini allergici al polline di betulla può essere responsabile di sintomi allergici cronici, oltre alle tipiche manifestazioni immediate. L'SPT con farina di soia è uno strumento specifico e sensibile per l'individuazione della sensibilizzazione alla soia in bambini con allergia al polline di betulla. SPT con farina di soia, CAP per rGly m 4 e ISAC per rGly m 4, ognuno a uno specifico cutoff, sono strumenti rilevanti nella diagnosi di allergia secondaria alla soia in pazienti con allergia al polline di betulla. Se i valori di cutoff applicati in questo caso siano utili generalmente, rimane da investigare su una popolazione in studio più ampia.

## Bibliografia

1. Kleine-Tebbe J, Wangorsch A, Vogel L, Crowell DN, Haustein UF, Vieths S. *Severe oral allergy syndrome and anaphylactic reactions caused by a Bet v 1-related PR-10 protein in soybean, SAM22*. J Allergy Clin Immunol 2002; 110: 797–804.
2. Mittag D, Vieths S, Vogel L, et al. *Soybean allergy in patients allergic to birch pollen: clinical investigation and molecular characterization of allergens*. J Allergy Clin Immunol 2004; 113: 148–54.
3. Ballmer-Weber BK, Holzhauser T, Scibilia J, et al. *Clinical characteristics of soybean allergy in Europe: a double-blind, placebocontrolled*

- food challenge study.* J Allergy Clin Immunol 2007; 119: 1489–96.
4. Holzhauser T, Wackermann O, Ballmer-Weber BK, et al. *Soybean (Glycine max) allergy in Europe: Gly m 5 (beta-conglycinin) and Gly m 6 (glycinin) are potential diagnostic markers for severe allergic reactions to soy.* J Allergy Clin Immunol 2009;123: 452–8.
  5. Matricardi PM, Bockelbrink A, Beyer K, et al. *Primary versus secondary immunoglobulin E sensitization to soy and wheat in the Multi-Centre Allergy Study cohort.* Clin Exp Allergy 2008; 38: 493–500.
  6. Savage JH, Kaeding AJ, Matsui EC, Wood RA. *The natural history of soy allergy.* J Allergy Clin Immunol 2010; 125: 683–6.
  7. Kosma P, Sjölander S, Landgren E, Borres MP, Hedlin G. *Severe reactions after intake of soy drink in birch pollen allergic children sensitized to Gly m 4.* Acta Paediatr 2011;100: 305–6.
  8. Niggemann B, Wahn U, Sampson HA. *Proposals for standardization of oral challenge tests in infants and children.* Pediatr Allergy Immunol 1994; 5: 11–3.
  9. Sampson HA. *Food allergy. Part 2: diagnosis and management.* J Allergy Clin Immunol 1999; 103: 981–9.
  10. Niggemann B. *When is an oral food challenge positive?* Allergy 2010; 65: 2–6.
  11. Dreborg S, Frew A. *Position paper: allergen standardization and skin tests. The European Academy of Allergology and Clinical Immunology.* Allergy 1993; 48 (suppl):48–82.
  12. Marknell DeWitt A, Niederberger V, Lehtonen P, et al. *Molecular and immunological characterization of a novel timothy grass (Phleum pratense) pollen allergen, Phl p 11.* Clin Exp Allergy 2002; 32: 1329–40.
  13. Harwanegg C, Laffert S, Hiller R, et al. *Microarrayed recombinant allergens for diagnosis of allergy.* Clin Exp Allergy 2003;33: 7–13.
  14. Wang J, Sampson HA. *Food Allergy.* J Clin Invest 2011; 121: 827–35.
  15. Osterballe M, Hansen TK, Mortz CG, Bindslev-Jensen C. *The clinical relevance of sensitization to pollen-related fruits and vegetables in unselected pollen-sensitized adults.* Allergy 2005; 60: 218–25.
  16. Magnarini M, Knowles A, Ventura A, Vita F, Fanti L, Zabucchi G. *A role for eosinophils in the pathogenesis of skin lesions in patients with food-sensitive atopic dermatitis.* J Allergy Clin Immunol 1995; 96: 200–8.
  17. Hamilton RG, MacGlashan DW Jr, Saini SS. *IgE antibody-specific activity in human allergic disease.* Immunol Res 2010; 47: 273–84.
  18. Di Lorenzo G, Mansueto P, Pacor ML, et al. *Evaluation of serum s-IgE/total IgE ratio in predicting clinical response to allergen specific immunotherapy.* J Allergy Clin Immunol 2009; 123: 1103–10.