

—II—

COMPOSICIÓN ALERGÉNICA DEL LÁTEX

DOMINGO BARBER HERNÁNDEZ,
MANUEL LOMBARDEO VEGA

INTRODUCCIÓN

Aunque la primera descripción bibliográfica de alergia al látex se remonta a 1927¹, es en la década de los ochenta cuando se produce un aumento espectacular de casos descritos de reacciones alérgicas al látex.

Hay varios factores que confluyen y que explican este incremento. El riesgo de contagio de nuevas enfermedades transmisibles hace que el empleo de guantes de látex se generalice, con el consiguiente aumento de la presión alérgica ambiental intrahospitalaria. El aumento en la demanda de guantes hizo necesario aumentar la productividad de las empresas fabricantes. Los cultivos de *Hevea brasiliensis* se perfeccionaron tanto por técnicas de mejora genética clásica como mediante la aplicación de técnicas biotecnológicas. Se utilizaron tratamientos hormonales²⁻⁵ para incrementar la producción de látex.

El proceso productivo se simplifica, en algunos casos se eliminan o reducen los lavados tras la formación del guante, la esterilización por calor húmedo se abandona y se sustituye por irradiación gamma.

Todos estos cambios hacen que la concentración alérgica en los guantes, principal elemento mediador en la sensibilización, se incremente en varios órdenes de magnitud⁶.

Por último, la sustitución del talco por almidón para evitar el riesgo de formación de granulomas, proporciona un vehículo muy eficaz para la difusión ambiental de los alergenos. Durante el tratamiento, el almidón solubilizado se contamina y la concentración de endotoxinas bacterianas se eleva. Tras la inmersión del guante y el posterior proceso de secado, los alergenos se incluyen en partículas de almidón junto con las endotoxinas. Estas partículas son probablemente las principales causantes de la sensibilización a látex. Un mecanismo similar se ha propuesto en el caso de las gramíneas poideas⁷. Existen ciertos alergenos de estas gramíneas (grupo 5) que, al parecer, se localizan principalmente en los gránulos de almidón del polen (amiloplastos). Cuando el polen se hidrata en un medio hipotónico (por ej. agua de lluvia), se produce la liberación brusca de material sub-

micrónico, incluyendo gránulos de almidón, que transportarían proteínas alergénicas del polen y que inducirían los síntomas de asma bronquial. Este modo de presentación de los alérgenos al sistema inmune representaría una amplificación masiva de la carga alérgica ambiental.

Como consecuencia de la alarma producida y ante el riesgo de sustitución del látex natural por polímeros sintéticos, en los años 90 se produce un proceso inverso. Los procesos de fabricación industrial se modifican a fin de conseguir guantes con contenidos alérgicos más bajos, ya que la baja alergenidad es un argumento de venta importante⁸⁻¹³. Solamente algunas moléculas alérgicas persistirán a niveles significativos en los guantes fabricados actualmente. Pueden existir, por tanto, pacientes con sensibilizaciones a alérgenos que ya no se encuentren presentes en los productos y, por lo tanto, carecerían de relevancia clínica en la actualidad.

COMPOSICIÓN PROTEICA Y ALERGÉNICA DEL LÁTEX

Aproximadamente entre el 2 y 3% del látex natural son proteínas. Si consideramos el porcentaje sobre peso seco, este tanto por ciento se duplica. Los productos procesados de látex, como los guantes, pueden contener aún hasta un 3% de proteína.

La mayor parte de los trabajos científicos publicados sobre la caracterización de alérgenos de látex se han realizado sobre látex natural. Este hecho es relevante porque, dado que la utilización industrial del látex implica siempre una estabilización previa, fundamentalmente por adición de amoníaco, y la centrifugación y concentración de las partículas de caucho natural, las composiciones proteica y alérgica del producto final sufren cambios significativos respecto al látex natural.

La adición de amoníaco desnaturaliza y precipita varios componentes proteicos. La centrifugación supone la eliminación de los lutoideos (en el llamado suero B) y la disminución de los componentes no asociados a las partículas de caucho.

Tal como se muestra en la figura 1, cuando comparamos los perfiles de proteínas de extracto amoniacado y de látex natural, mediante electroforesis en geles de acrilamida en presencia de SDS, se observan diferencias muy significativas. Mientras el extracto de látex natural presenta gran cantidad de bandas en un rango de pesos moleculares de 5 a >100 kDa de similar intensidad, en el extracto amoniacado no se detectan prácticamente bandas de alto peso molecular (> 60 kDa) y aparece una redistribución de bandas de bajo peso molecular con desapariciones de bandas de 20 kDa y aparición de nuevas proteínas de bajo peso molecular (alrededor de 6 kDa).

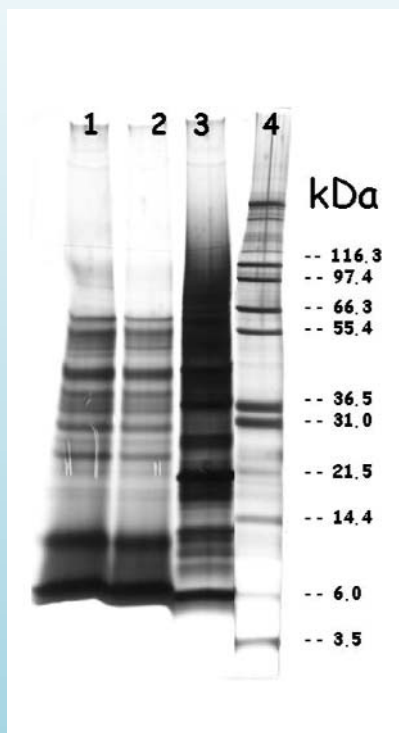


FIGURA 1. SDS-PAGE de extractos de látex. 1 y 2: extracto amoniacado. 3: látex natural. 4: Marcadores de peso molecular (se indica a la derecha en kDa).

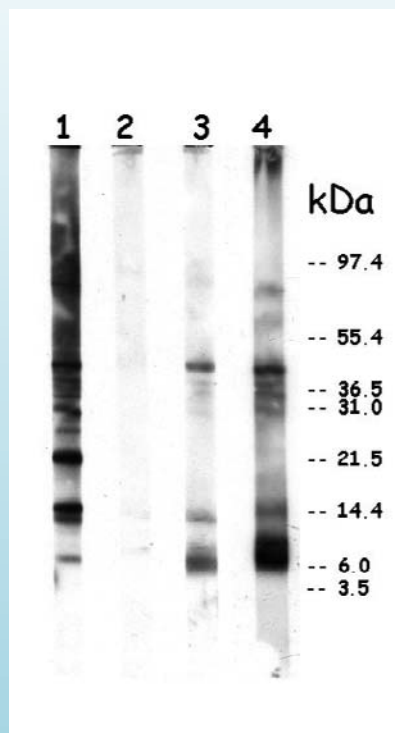


FIGURA 2. IgE-Inmunodetección de extractos de látex. 1: Látex natural. 2: Control negativo. 3: Extracto de guante de látex. 4: Extracto amoniacado.

Si se realiza una inmunodetección de IgE con un *pool* de sueros de pacientes alérgicos a látex en los mismos extractos y en un extracto de guante (figura 2), observamos también diferencias significativas. El perfil alergénico del extracto amoniacado y del guante son bastante coincidentes. De nuevo, la banda de bajo peso molecular (6 kDa) parece ser la más relevante en el extracto amoniacado. Además, observamos dos bandas significativas aproximadamente a 14 y 40 kDa respectivamente. En el caso del látex natural, el alérgeno de 6 kDa se detecta débilmente y aparece una banda de ≈ 20 kDa, que no aparece en el extracto amoniacado y guante, así como una serie continua de bandas de mayor peso molecular.

El estudio de los alérgenos del látex se complica aún más por la existencia de panalérgenos. Estas moléculas pueden actuar como sensibilizantes primarios

en el látex, pero también pueden inducir IgE a través de otras fuentes alérgicas (por ej. frutas y pólenes). Estos panalergenos comunes al látex y a otras fuentes pueden explicar casos de reactividad cruzada como por ej. el conocido síndrome látex-frutas.

ALERGENOS DEL LÁTEX

En el año 1986, el Subcomité de nomenclatura de alérgenos de la IUIS, de la OMS, propuso un sistema de nomenclatura para alérgenos inductores de reacciones de hipersensibilidad tipo I en humanos¹⁴. El sistema se revisó en el año 1994 y se incluyeron también en él los genes, mRNAs y cDNAs de los alérgenos, así como péptidos recombinantes y sintéticos de interés alérgico¹⁵. Actualmente existe una página de Internet (www.allergen.org) en la que se incluye la lista actualizada de alérgenos e isoalérgenos con nombre sistemático, así como un formulario para proponer el nombre sistemático de un nuevo alérgeno.

Los alérgenos se nombran de acuerdo al nombre taxonómico aceptado de la correspondiente fuente alérgica. Se utilizan las 3 primeras letras del género, espacio, la 1ª letra de la especie, espacio y un número arábigo correlativo. El número se asigna de acuerdo al orden de identificación del alérgeno y se intenta que el mismo número se use para designar a alérgenos homólogos de especies relacionadas, por ej. Hev b 1 corresponde al primer alérgeno identificado del látex (*Hevea brasiliensis*). En el caso de que se conozca, también es factible usar el nombre bioquímico del alérgeno, por ej. Hev b 1 se corresponde con el factor de elongación del látex.

Frecuentemente, un alérgeno de una determinada especie presenta microheterogeneidad, es decir, se compone de moléculas variantes con peso molecular muy parecido, función biológica idéntica y una gran homología de la secuencia de aminoácidos. Estas moléculas variantes se conocen como isoalérgenos. Éstos se nombran con números arábigos adicionales (2 ó 4 cifras) que se incluyen a continuación del número que designa al alérgeno. Por ej.: Hev b 8.01 y Hev b 8.02 se corresponden con 2 isoalérgenos diferentes de la profilina (Hev b 8) de látex.

La nomenclatura para los péptidos recombinantes y sintéticos de interés alérgico se basa en la nomenclatura del alérgeno natural, incluyendo un prefijo de una única letra (r, s ó n) para indicar el origen del alérgeno.

Actualmente (Septiembre 2001), hay 11 alérgenos del látex (tabla 1) con nombre sistemático dado (Hev b 1 a Hev b 11). Existen numerosos trabajos y

TABLA 1.
Alergenos del látex

| ALERGENO | NOMBRE | MW | AA* | FUNCIÓN | LOCALIZACIÓN SUBCELULAR | CLASIFICACIÓN ¹ CLÍNICA |
|----------|----------------------------|-----------|-----------|---|--|---|
| Hev b 1 | Factor de elongación | 14,6 | 137 | Biosíntesis de la molécula de polisopreno | Partículas de caucho | Mayoritario multiperados Relevante en trabajadores Hospital |
| Hev b 2 | β-1,3 glucanasa | 35,1 | 374 | Proteína de defensa β-1,3 glucanasa | Lutoídes | Relevante |
| Hev b 3 | Homólogo factor elongación | 23-27 | - | Homólogo a Hev b 1 Síntesis del polímero | Partículas de caucho de pequeño tamaño | Mayoritario multiperados. Relevante en trabajadores Hospital |
| Hev b 4 | Componente de Microhélice | 50-57 | - | Proteína estructural | Lutoídes | Minoritario |
| Hev b 5 | Proteína ácida | 16 | 151 | ? | Citoplasma | Mayoritario |
| Hev b 6 | Preheveína Heveína | 20 4,7 | 187 43 | Proteína de defensa Coagulación | Lutoídes | Mayoritario |
| Hev b 7 | Patatina | 42,9 | 389 | Proteína de defensa Esterasa | Citoplasma | Relevante |
| Hev b 8 | Profilina | 10,2-15,7 | - | Proteína del citoesqueleto Liga actina | Citoplasma | Minoritario |
| Hev b 9 | Enolasa | 51 | | Enolasa | Citoplasma | Minoritario |
| Hev b 10 | Superóxido dismutasa | 25,8 | 233 | Superóxido dismutasa | Mitocondria | Minoritario |
| Hev b 11 | Quitinasa clase I | | | Quitinasa | | Minoritario |

¹Mayoritario > 60% pacientes sensibilizados Relevante > 20% pacientes sensibilizados Minoritario < 20% pacientes sensibilizados
*Número de aminoácidos.

artículos de revisión sobre los mismos¹⁶⁻²¹. A continuación se presenta una discusión crítica de los datos actualmente disponibles, señalando los puntos que deben ser clarificados en el futuro.

Factor de elongación del caucho (Hev b 1)

El primer alérgeno de látex en identificarse es el factor de elongación. Czuppon y cols. lo señalaron como principal alérgeno del látex en 1993²².

Se trata de un péptido de 14,6 kDa que forma un homotetrámero de 58 kDa. Es fuertemente hidrofóbico y está íntimamente asociado a las partículas de caucho. Es una de las proteínas mayoritarias del látex (20-30% de la proteína total). Funcionalmente actúa como cofactor de la preniltransferasa. Esta enzima es también una proteína hidrofóbica de membrana y en presencia del factor de elongación produce polímeros de poliisopreno (en configuración *cis*) de hasta 10⁶ kDa^{23, 24}.

Se conoce la estructura primaria completa del alérgeno^{25, 26}. Las regiones C-terminal (residuos 121 al 137) y la comprendida entre el residuo 31 y 64 son las más alérgicas de la molécula²⁷. El Hev b 1 presenta dominios de homología con la papaína, especialmente en el epítipo 31-64. Este hecho podría dar lugar a reactividades cruzadas entre papaína y Hev b 1.

Al ser una proteína muy hidrofóbica, su solubilidad en agua es muy baja. No se detecta prácticamente en la fracciones de suero C durante el procesamiento del látex. Su baja solubilidad hace que su biodisponibilidad por vía inhalatoria sea muy limitada. Esta propiedad probablemente explica la prevalencia de IgE contra el alérgeno en diferentes grupos de pacientes. Para pacientes multioperados (muy estudiados en el caso de espina bífida), el factor de elongación es claramente el alérgeno más relevante. En el trabajo de Czuppon y cols.²², nueve de un total de trece pacientes presentaron altos niveles de IgE al alérgeno. Más recientemente^{28, 29}, diversos estudios permiten establecer prevalencias entre el 54 y el 100% de sensibilización a Hev b 1 en pacientes con espina bífida. Para el caso de la población alérgica a látex por vía inhalatoria (profesionales de hospital, principalmente), la prevalencia establecida oscila entre el 13 y el 32%.

La íntima asociación a partículas de caucho hace que el Hev b 1 sea probablemente el alérgeno más importante en derivados de látex obtenidos por la vía seca de procesamiento, como por ej. tapones para productos parenterales. Tanto en este caso como en pacientes multioperados, el alérgeno entraría en contacto con el paciente asociado a partículas caucho que se introducirían bien durante la administración de productos parenterales o bien durante las operaciones. El largo tiempo de residencia de estas partículas haría que la biodisponibilidad de la molécula de Hev b 1 fuera muy elevada a pesar de su baja solubilidad.

Es interesante señalar que en el grupo de trabajadores hospitalarios alérgicos a látex, la prevalencia (13-32%) es significativa, aunque no le confiera carácter de alérgico mayoritario. Este hecho es importante si, como parece, el Hev b 1 puede ser el alérgico más relevante en productos de látex fabricados por vía seca.

β-1,3-glucanasa (Hev b 2)

El Hev b 2 es una β-1,3-glucanasa, una enzima que hidroliza el enlace 1,3-β-D glucosídico en β-1,3-glucanos, polímeros esenciales de la pared celular de hongos y bacterias. Son enzimas de defensa vegetales y constituyen el grupo 2 de proteínas PR (PR-2 de "pathogenesis-related")³⁰.

Fisicamente es una proteína de 374 aminoácidos (41,3 kDa) que sufre un procesamiento post-traducciona para rendir una proteína madura de un peso molecular de 35,1 kDa³¹. Su punto isoeléctrico es de 10 y, por lo tanto, es una proteína básica. En el látex está asociada a los lutoideos, segregando fundamentalmente en el suero B durante el proceso de centrifugación³². Su concentración en el látex amoniacaado procesado es muy baja.

El Hev b 2 es un alérgico importante pero no mayoritario. El porcentaje de pacientes que presenta anticuerpos IgE reactivos a la molécula oscila entre el 20 y el 61%³³. No parecen existir diferencias entre el grupo de pacientes multiintervenido y el de trabajadores hospitalarios.

El Hev b 2 presenta homología estructural con otras β-1,3-glucanasas. Es sabido que los extractos de polen y los alimentos de origen vegetal tienen también β-1,3-glucanasas, que son reconocidas por IgE y que por lo tanto, podrían considerarse como panalérgicos. No está claro si la sensibilización a Hev b 2 en pacientes alérgicos a látex pudiera ser resultado de una sensibilización previa a este alérgico en polen. La baja concentración en el extracto amoniacaado plantea, asimismo, interrogantes sobre la relevancia clínica de la sensibilización a este alérgico.

Hev b 3

El Hev b 3 es una proteína que está estrechamente ligada a partículas de caucho de pequeño tamaño (menor de 70 nm)³⁴. Tiene un peso molecular entre 23 y 27 kDa y un punto isoeléctrico de 4,8. Es reconocida por el 80% de los pacientes alérgicos con espina bífida, presentando un perfil clínico prácticamente coincidente con Hev b 1³⁵.

El análisis de partes de la estructura primaria³⁶ permitió establecer una elevada homología con Hev b 1 que explicaba la reactividad cruzada entre ambas

moléculas. El Hev b 1 y el Hev b 3 deben considerarse por tanto parte del mismo complejo alergénico.

Hev b 4

La denominada "proteína componente de microhélice" es un dímero, unido por un puente disulfuro, de peso molecular entre 100 y 110 kDa. No presenta homología estructural con otras proteínas conocidas. Se fracciona en el suero B, por lo que su concentración en el látex amoniacado es muy baja. Su relevancia clínica parece ser no muy importante^{37, 38}.

Hev b 5

El Hev b 5 es un polipéptido de 151 aminoácidos, con un punto isoeléctrico de 3,5. El hecho de ser la proteína más ácida del extracto, explica que se la haya denominado proteína ácida. Es una proteína abundante en el extracto amoniacado y en extractos preparados a partir de guantes.

El 92% de los pacientes alérgicos a látex y el 56% de los pacientes alérgicos con espina bífida la reconocen³⁹. El Hev b 5 parece ser, por lo tanto, uno de los alérgenos mayoritarios más relevantes del látex en ambos grupos de pacientes.

La proteína ha sido clonada y expresada^{39, 40}. Presenta homología próxima al 40% con otras proteínas de kiwi y patata, pero este hecho no parece determinar una reactividad cruzada directa^{41, 42}. La mayor parte de los epítomos reconocidos por los pacientes alérgicos a Hev b 5 se encuentran en regiones de la molécula con baja homología con las proteínas del kiwi.

Proheveína y heveína (Hev b 6)

El conjunto alergénico formado por la proheveína (Hev b 6.01) y sus fragmentos derivados: dominio heveína (Hev b 6.02) y dominio C (Hev b 6.03), es sin duda el más complejo del látex y probablemente el más relevante desde un punto de vista clínico.

La proteína, clonada y expresada por Boekaert y cols.² en 1990, es una molécula de 187 aminoácidos de un peso molecular de 20 kDa y un punto isoeléctrico de 5,6. Su función principal es defensiva, presentando homología con la aglutinina de germen de trigo y con proteínas PR-3 y PR-4³⁰.

Topológicamente, consta de dos regiones muy diferenciadas (figura 3). La región N-terminal, que incluye 43 residuos aminoácidos, es el denominado dominio heveína. Desde un punto de vista estructural, presenta 4 puentes disulfuro. Lo

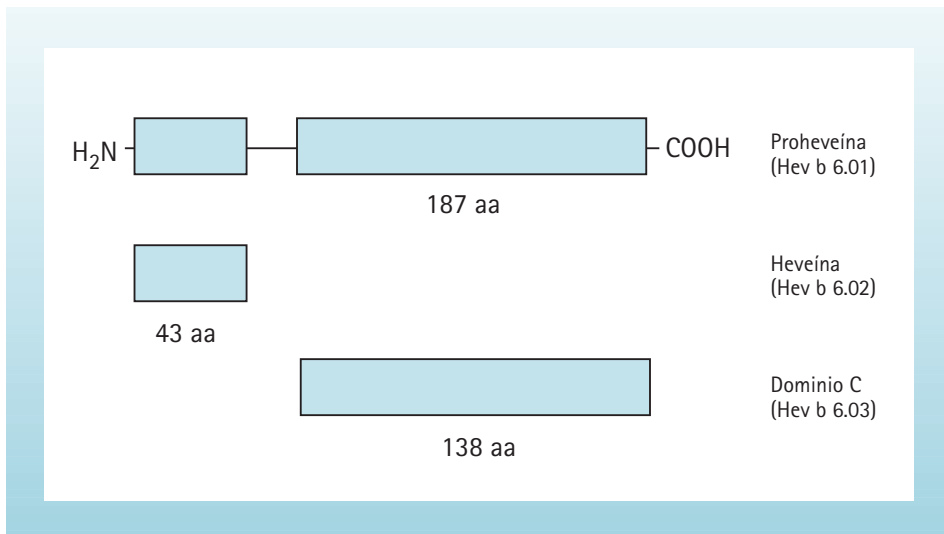


FIGURA 3. Representación de la proheveína y moléculas derivadas.

podemos visualizar como una estructura globular pequeña y extraordinariamente estable. Presenta afinidad por quitina, polisacárido estructural de hongos e insectos. La región C-terminal consta de 138 aminoácidos y se la conoce como dominio C.

El enlace peptídico entre ambos dominios es relativamente lábil. Durante el procesamiento industrial la proheveína se hidroliza y se genera una gran cantidad de heveína.

La proheveína, ligada a la fracción de lutoides, se encuentra prácticamente ausente en el látex concentrado amoniacoado y sus productos derivados. Por el contrario, el dominio heveína es la proteína mayoritaria del extracto y se cree que puede estar involucrada en el proceso de polimerización, favoreciendo la agregación de las partículas de caucho.

En las figuras 1 y 2, se ve como desaparece la banda de proheveína de látex natural durante el procesamiento industrial, y aparece la banda de heveína observable tanto en extractos amoniacoales como en extractos de guante. Este hecho probablemente sea la explicación de que la mayor reactividad IgE de la molécula de proheveína se localice en la región N-terminal (dominio heveína).

El alérgeno es claramente relevante desde un punto de vista clínico, tanto en pacientes con espina bífida como en el grupo de trabajadores hospitalarios⁴³⁻⁴⁵.

Las quitinasas clase I, presentes en frutas y alimentos vegetales, tienen un dominio N-terminal tipo heveína. La elevada homología estructural entre los dominios heveína de la proheveína y de las quitinasas clase I, determina la existencia de reactividad cruzada entre látex y frutas, y explica el denominado "síndrome látex-frutas"²¹. Los grupos liderados por G. Salcedo y C. Blanco han sido determinantes en el establecimiento de las causas moleculares e implicaciones clínicas de dicho síndrome, tal y como se detalla en los capítulos IX y X de este libro.

Como ya se ha señalado, el dominio C presenta una baja relevancia clínica, únicamente un 10-20% de los pacientes presentan IgE contra esta proteína⁴⁴.

Hev b 7

El Hev b 7 es una proteína citoplásmática de un peso molecular de 42,9 kDa y pl 4,82 que ha sido clonada y espesada^{46, 47}. Se encuentra presente en el látex amoniacado⁴⁸ y es reconocida por aproximadamente el 25% de los trabajadores hospitalarios alérgicos a látex^{49, 50}.

En el extracto amoniacado se observa una banda clara fijadora de IgE con un peso molecular concordante con el de Hev b 7 (figura 2). Presenta homología estructural en la región N-terminal con las patatinas^{46, 47}, glicoproteínas de almacenamiento de *Solanaceas*. Sin embargo, a pesar de esta homología, no parece existir reactividad cruzada directa importante entre pacientes sensibilizados a patatina y látex^{51, 52}.

Profilina (Hev b 8)

El Hev b 8, de peso molecular próximo a 15 kDa, es una proteína perteneciente a la familia de las profilinas, proteínas estructurales de los tejidos vegetales, y que han sido descritas como alérgenos en diversas especies^{53,54}.

La profilina de látex se encuentra presente en baja concentración tanto en extractos amoniacados como en el látex natural. Se trata de un alérgeno menor en los pacientes del medio hospitalario, pero podría ser relevante en pacientes con espina bífida^{53, 55}.

Recientemente se ha demostrado que la sensibilización a la profilina del látex, tanto en pacientes profesionalmente expuestos como con espina bífida, tiene lugar principalmente a través de profilinas de pólenes y de alimentos vegetales⁵⁶.

Hev b 9

El Hev b 9 es una proteína de 51 kDa con actividad enolasa. Su concentración en el látex es mínima y su relevancia clínica prácticamente nula.

El interés por este alérgeno radica en su homología con enolasas de hongos como la de *Cladosporium*, que ha sido caracterizada como un alérgeno en esta especie^{37, 57}. Aunque existe cierta homología estructural, no se ha demostrado reactividad cruzada.

Hev b 10

El Hev b 10 es una superóxido dismutasa (Mn SOD) de 26 kDa. De manera similar al Hev b 9 presenta similitud estructural con Mn SOD aisladas de *Aspergillus* y puede, por tanto, ser otra molécula que explique reactividades cruzadas entre hongos y látex. Su relevancia clínica en el grupo de pacientes alérgicos a látex es muy escasa y la concentración en el látex muy baja¹⁹.

Hev b 11

Recientemente se le ha dado nombre sistemático a la quitinasa clase I de látex (nº acceso AJ238579). Solamente el 19% de los pacientes alérgicos a látex o a frutas tienen IgE específica mediante inmunodetección. La heveína inhibe hasta el 85% la fijación de IgE a Hev b 11, mientras que en el ensayo simétrico sólo se produce una inhibición del 15%²¹, indicando que se trata de un alérgeno poco relevante desde el punto de vista clínico.

OTROS ALERGENOS

Es sabido que en el látex natural pueden identificarse alrededor de 200 proteínas.

Entre las proteínas identificadas podemos señalar, además de las indicadas anteriormente, la hevamina, quitinasas de clase II (sin dominio heveína), lisozima, trifosfato isomerasa, subunidades de proteosomas...²⁰

La posibilidad de utilización de técnicas de amplificación y clonación hace viable identificar componentes cuyos niveles son prácticamente inexistentes en el producto final, pero presentan homologías y posiblemente reactividad cruzada parcial con alérgenos de otras especies.

El interés clínico de estas moléculas es muy bajo y es muy poco probable que en los próximos años se identifiquen nuevos alérgenos clínicamente relevantes en el látex.

CONCLUSIONES

En los últimos años, la utilización de técnicas de biología molecular ha permitido la identificación y caracterización de más de 11 proteínas con actividad alérgica en el látex natural. La prevalencia a nivel de IgE varía ampliamente y lo que es más importante, varía también dependiendo del tipo de paciente: profesionalmente expuesto y multioperado. No está claro si estas diferencias se deben al modo de presentación del alérgeno, a una propiedad intrínseca de este o a una combinación de ambos. Quizás simplificando el panorama en exceso, el factor de elongación y su homólogo (Hev b 1/Hev b 3) se asocian principalmente con pacientes con espina bífida, mientras que la proheveína/heveína (Hev b 6) son más relevantes en pacientes hospitalarios. No obstante, existen alérgenos como el Hev b 2 (β -1,3 glucanasa) y Hev b 5 (proteína ácida) que parecen ser relevantes en ambos grupos.

La existencia de panalérgenos con secuencia conservada (principalmente quitinasas clase I y profilinas) en el látex natural y otras fuentes alérgicas de origen vegetal (pólenes y alimentos vegetales) ha permitido explicar la existencia de reactividad cruzada a nivel clínico en ciertos grupos de pacientes. Existe otro grupo de panalérgenos, (β -1,3 glucanasas, enolasa, ...) cuya importancia a nivel de reactividad cruzada no está todavía establecida.

BIBLIOGRAFÍA

1. STERN, G. *Uberempfindlichkeit gegen kautschuk als ursache von urticaria und quinckeschem odem klinische wochenschrift* 1927; 6: 1096-7.
2. BROEKAERT I, LEE HI, KUSH A, ET AL. *Wound-induced acumulation of mRNA containing a hevein sequense in laticifers of rubber tree (Hevea brasiliensis)*. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87:7633-7.
3. YAMAGI T, SATO M, NAKAMURA A, ET AL. *One of the rubber latex allergens is a lysozyme*. J Allergy Clin Immunol 1995; 96:677-86.
4. YAMAGI T, SATO M, NAKAMURA A, ET AL. *Plant defence-related enzymes as latex antigens*. J Allergy Clin Immunol 1998; 101:379-85.
5. HÄNNINEN AR, MIKKOLA J, KALKKINEN N, ET AL. *Increased production of Prohevein-like protein in turnip (Brassica rapa) by treatment with salicylic acid and ethephon [Abstract]*. J Allergy Clin Immunol 1999; 103:S398.
6. YUNGINGER JW, JONES RT, FRANSWAY AF, ET AL. *Extractable latex allergens an proteins in disposable medical gloves and other rubber products*. J Allergy Clin Immunol 1994; 93:836-42.
7. SINGH MB, HOUGH T, THEERAKULPISUT P, ET AL. *Isolation of cDNA encoding a newly identified major allergenic of rye-grass pollen: intracellular targeting to the amyloplast*. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88:1384-8.

8. MORALES C, BASOMBA C, CARREIRA J, ET AL. *Anaphylaxis produced by rubber glove contact. Case reports and immunological identification of the antigens involved.* Clin Exp Allergy 1989; 19:425-30.
9. LEYNADIER F, TRAN-XUAN T, DRY J. *Allergenicity suppression in natural latex surgical gloves.* Allergy 1991; 67:619-25.
10. DALRYMPLE SJ, AUDELEY BG. *Allergenic proteins in dipped products: factors influencing extractable protein levels.* Rubber Developments 1992; 45:51-60.
11. AZIZ NAA. *Chlorination of gloves.* The Latex Protein Workshop of the International Rubber Technology Conference. June 1993, Kuala Lumpur, Malaysia.
12. HASHIM MYA. *Effect of leaching on extractable protein content.* The Latex Protein Workshop of the International Rubber Technology Conference. June 1993, Kuala Lumpur, Malaysia.
13. PALHORIES G. *Reducing proteins in latex gloves. The industrial approach.* Clin Rev Allergy 1993; 11:391-402.
14. MARCH DG, GOODFRIEND L, KING TP, ET AL. *Allergen nomenclatura.* Bull WHO 1986; 64:767-70.
15. KING TP, HOFFMAN D, LÖWENSTEIN H, ET AL. *Allergen nomenclature.* Bull WHO 1994; 72:796-806.
16. TURJANMAA K, ALENIUS H, MÄJUBEB-KILJUNEN S, ET AL. *Natural rubber latex allergy.* Allergy 1996; 51:593-602.
17. BREITENEDER H, SCHEINER O. *Molecular and immunological characteristics of latex allergens.* Int Arch Allergy Immunol 1998; 116:83-92.
18. POLEY GE, SLATER JE. *Latex allergy.* J Allergy Clin Immunol 2000; 105:1054-62.
19. KURUP VP, FINK JN. *The spectram of immunologic sensitization in latex allergy.* Allergy 2001; 56:2-12.
20. EBO D. *IgE-mediated allergy from natural rubber latex.* The UCB Institute of Allergy.
21. SALCEDO G, DÍAZ-PERALES A, SÁNCHEZ-MONGE R. *The role of plant panallergens in sensitization to natural rubber latex.* Curr Opin Allergy Clin Immunol 2001; 1:177-83.
22. CZUPPON AB, CHEN Z, RENNERT S, ET AL. *The rubber elongation factor of rubber trees (Hevea brasiliensis) is the major allergen in latex.* J Allergy Clin Immunol 1993; 92:690-7.
23. LIGHT DR, DENNIS MS. *Purification of a prenyl transferase that elongates cis-polyisoprene rubber from the latex of Hevea brasiliensis.* J Biol Chem 1989; 264:18589-97.
24. D'AUZAC J, JACOB JL, PREVOT JC, ET AL. *The regulation of cis-polyisoprene production (natural rubber) from Hevea brasiliensis.* Rec Res Devel in Plant Physiol 1997; 1:273-332.
25. DENNIS MS, LIGHT DR. *Rubber elongation factor from Hevea brasiliensis.* J Biol Chem 1989; 264:18618-26.
26. ATTANYAKA DP, KEKWICK RG, FRANKLIN FC. *Molecular cloning and nucleotide sequencing of the rubber elongation factor gene from Hevea brasiliensis.* Plant Mol Biol 1991; 16:1079-81.
27. CHEN Z, VAN KAMPEN V, RAULF-HEIMSOETH M, ET AL. *Allergenic and antigenic determinants of latex allergen Hev b 1: Peptide mapping of epitopes recognised by human, murine, and rabbit antibodies.* Clin Exp Allergy 1996; 26:406-15.
28. CHEN ZP, CREMER R, POSCH A, ET AL. *On the allergenicity of Hev b 1 among health care workers and patients with spina bifida allergic to natural rubber latex.* J Allergy Clin Immunol 1997; 100:684-693.
29. JOHNSON BD, KURUP VP, SUSSMAN GL, ET AL. *Purified and recombinant latex proteins stimulate peripheral blood lymphocytes of latex allergic patients.* Int Arch Allergy Immunol 1999; 120:270-9.
30. HOFFMAN-SOMMERGRUBER K. *Plant allergens and pathogenesis-related proteins.* Int Arch Allergy Immunol 2000; 122:155-66.
31. CHYE ML, CHEUNG KY. *β -1,3-glucanase is highly expressed in latificers of Hevea brasiliensis.* Plant Mol Biol 1995; 29:397-402.

32. BRETON F, COUPÉ M, SANIER C, ET AL. *Demonstration of b-1,3-glucanase activities in lutoids from Hevea brasiliensis.* J Nat Rubber Res 1995; 10:37-45.
33. KURUP VP, YEANG HY, SUSSMAN GL, ET AL. *Detection of immunoglobulin antibodies in the sera of patients using purified latex allergens.* Clin Exp Allergy; 30:359-69.
34. YEANG HY, CHEONG KF, SUNDERASAN E, ET AL. *The 14.6 kd rubber elongation factor (Hev b1) and 24 kd (Hev b 3) rubber particle proteins are recognized by IgE from patients with spina bifida and latex allergy.* J Allergy Clin Immunol 1996; 98:628-39.
35. LU, L, KURUP V, HOFFMAN D, ET AL. *Characterization of a major latex allergen associated with hypersensitivity in spina bifida patients.* J Immunol 1995; 155:2721-8.
36. ALENIUS H, KALKKINEN N, LUKKA M, ET AL. *Purification and partial amino acid sequencing of a 27kDa natural rubber allergen recognised by latex allergic children with spina bifida.* Int Arch Allergy Immunol 1995; 106:258-62.
37. POSCH A, CHEN Z, WHEELER C, ET AL. *Characterization and identification of latex allergens by two-dimensional electrophoresis and protein microsequencing.* J Allergy Clin Immunol 1997; 99:385-95.
38. JOHNSON BD, KURUP VP, SUSSMAN GL, ET AL. *Purified and recombinant latex proteins stimulate peripheral blood lymphocytes of latex allergic patients.* Int Arch Allergy Immunol 1999;159:5724-32.
39. SLATER JE, VEDVICK T, ARTHUR-SMITH A, ET AL. *Identification, cloning and sequence of a major allergen (Hev b 5) from natural rubber latex (Hevea brasiliensis).* J Biol Chem 1996; 271:25394-99.
40. AKASAWA A, HSIEH L-S, MARTIN BM, ET AL. *A novel acidic allergen, Hev b 5, in latex.* J Biol Chem 1996; 271, 25389-93.
41. BEEZHOLD HD, HICKEY VL, SLATER JE, ET AL. *Human IgE-binding epitopes of the latex allergen Hev b 5.* J Allergy Clin Immunol 1999; 103:1166-72.
42. DE SILVA HD, SUTHERLAND MF, SUPHIOGLU C, ET AL. *Human T-cell epitopes of the latex allergen Hev b 5 in health care workers.* J Allergy Clin Immunol 2000; 105:1017-24.
43. ALENIUS H, REUNALA T, TURJANMAA K, ET AL. *Surgical glove latex glove allergy: characterization of rubber protein allergens by immunoblotting.* Int Arch Allergy Appl Immunol 1991; 96:376-80.
44. ALENIUS H, KALKKINEN N, REUNALA T, ET AL. *The main binding epitopes of a major latex allergen, prohevein is present in its 43 amino acid fragment hevein.* J Immunol 1996; 156:1618-25.
45. BANERJEE B, WANG X, KEELY KJ, ET AL. *IgE from latex-allergic patients binds to cloned and expressed B cell epitopes of prohevein.* J Immunol 1997; 159:5724-32.
46. SOWKA S, WAGNER S, KREBITZ M, ET AL. *cDNA cloning of the 43-kDa latex allergen Hev b 7 with sequence similitary to patatins and its expression in the yeast Pichia pastoris.* Eur J Biochem 1998; 255:213-9.
47. KOSTYAL DA, HICKEY V, NOTI JD, ET AL. *Cloning and characterization of a latex allergen (Hev b 7): homology to patatin, a plant PLA2.* Clin Exp Immunol 1998; 112:355-62.
48. TOMAZIC VJ, WITHROW TJ, HAMILTON RG. *Characterisation of the allergen(s) in latex protein extracts.* J Allergy Clin Immunol 1995; 96:635-42.
49. BEEZHOLD DH, SUSSMAN GL, KOSTYAL DS, ET AL. *Identification of a 46-kDa latex protein allergen in health care workers.* Clin Exp Immunol 1994; 98:408-13.
50. BEEZHOLD DH, SUSSMAN GL, LISS GM, ET AL. *Latex allergy can induce clinical reactions to specific foods.* Clin Exp Allergy 1996; 26:416-22.
51. SEPPÄLÄ U, PALOSUO T, KALKKINEN N, ET AL. *IgE reactivity to patatin-like latex allergen, Hev b 7; and to patatin of potato tuber, Sol t 1, in adults and children allergic to natural rubber latex.* Allergy 2000; 55:266-73.

52. SOWKA S, HAFNER C, RADAUER C, ET AL. *Molecular and immunologic characterization of new isoforms of the Hevea brasiliensis latex allergen Hev b 7: evidence of no cross-reactivity between Hev b 7 isoforms and potato patatin and proteins from avocado and banana.* J Allergy Clin Immunol 1999; 104:1302-10.
53. VALLIER P, BALLAND S, HARP R, ET AL. *Identification of profilin as an IgE-binding component in latex from Hevea brasiliensis: clinical implications.* Clin Exp Allergy 1995; 25:332-9.
54. VALENTA R, DUCHÊME M, EBNER C, ET AL. *Profilins constitute a novel family of functional plant panallergens.* J Exp Med 1992; 175:377-85.
55. NIETO A, MAZON A, ESTORNELL F, ET AL. *Profilin, a relevant allergen in latex allergy* [Abstract]. J Allergy Clin Immunol 1998; 101:S207.
56. GANGLBERGER E, RADAUER C, WAGNER S, ET AL. *Hev b 8, the Hevea brasiliensis latex profilin, is a cross-reactive allergen of latex, plant foods and pollen.* Int Arch Allergy Immunol 2001; 125:216-27.
57. ACHATZ G, OBERKOFER H, LECHENAUER E, ET AL. *Molecular cloning of major and minor allergens of Alternaria alternata and Cladosporium herbarum.* Mol Immunol 1995; 32:213-27.