

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



**ESTUDIO OBSERVACIONAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS
PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN ALERGÉNICA A PÓLENES EN EL
ÁREA SANITARIA DE TOLEDO. ESTABLECIMIENTO DEL GRADO
DE CONCORDANCIA ENTRE DIFERENTES TÉCNICAS
DIAGNÓSTICAS Y PAPEL DE LOS PANALÉRGENOS EN LA
INTERPRETACIÓN DIAGNÓSTICA DE LA ALERGIA A PÓLENES**

Tesis doctoral

Ricardo Abengózar Muela

Directores:

Profesor Doctor Don Luis Manzano Espinosa
Doctora Doña María Belén de la Hoz Caballer

2014

DEDICATORIA

A Ana, por dar sentido a mi vida, por su amor, desde siempre y para siempre.

A Ricardo, Ana, Jaime, Gonzalo, María y Fernando, nuestros hijos, porque hacen que cada día sea especial, y por todo el tiempo que les he robado para llevar a buen fin este trabajo, que me gustaría devolverles con creces.

A mis padres, a quienes les debo todo lo que soy.

A mis pacientes y a mis alumnos, a quienes me debo.

AGRADECIMIENTOS

A mis pacientes, a quienes me debo, por ellos y para ellos.

Al Dr. D. Carlos Senent Sánchez, mi maestro en esta especialidad, porque su labor y dedicación incondicional a la misma durante tantos años, ha hecho posible la realización de este trabajo de investigación.

Al Dr. Francisco Feo Brito y al Dr. Agustín Orovitz Cardona, que abrieron el camino de la investigación mediante técnicas de diagnóstico molecular en alergia a pólenes con aplicaciones prácticas a los pacientes, gracias a cuya orientación hemos podido superar muchas dificultades de este trabajo.

A los laboratorios ALK-Abelló y todo su grupo humano, muy especialmente a los doctores Fernando de la Torre Martínez y Lucía Jimeno Nogales, por la entera y perseverante disposición mostrada desde el principio a aportar todos los recursos técnicos y asesoramiento necesarios para la realización de este trabajo, y por los ánimos que me han dado.

A todo el personal del Servicio de Alergología y del laboratorio del Complejo Hospitalario de Toledo, por su ayuda prestada, especialmente a la Dra. Doña Paula Sánchez Sánchez por su entrega en su periodo de formación como médico interno residente, y a Doña María Luisa Ortega Moriana y a Doña Alicia Ramos Cabello, por su colaboración en la realización de las pruebas cutáneas y las extracciones sanguíneas.

A mis alumnos y al personal directivo y docente de la Universidad, por fomentar el sentido de búsqueda de la verdad que tiene que impregnar la actividad del médico, y por el estímulo que me han dado.

ÍNDICE

ÍNDICE

I. INDICE DE TABLAS.....	XXIII
II. INDICE DE FIGURAS.....	XXXIII
III. RESUMEN.....	1
IV. INTRODUCCIÓN.....	13
1. Aumento de la prevalencia de las enfermedades alérgicas en general y de la polinosis en particular.....	15
1.1.Aumento del conocimiento y mejora del diagnóstico.....	16
1.2.Susceptibilidad genética.....	18
1.3.Influencias psico-sociales.....	19
1.4.Exposición alérgica.....	19
1.5.Falta de estimulación del sistema inmune (hipótesis de la higiene).....	20
1.6.Polución ambiental.....	21
2. Alergia a alimentos de origen vegetal.....	24
3. Incremento de la polisensibilización.....	25

4. Procedimiento diagnóstico habitual en polinosis.	
Estandarización de extractos alergénicos.....	27
4.1.Estandarización biológica.....	29
4.2.Estandarización en unidades de masa (UM).....	31
4.3.Limitaciones actuales de los extractos estandarizados.....	32
4.4.Limitaciones actuales en el diagnóstico con técnicas habituales	35
5. Alérgenos de pólenes.....	39
6. Panalérgenos.....	40
6.1.Profilinas.....	43
6.2.Polcalcinas.....	47
6.3.Proteínas de transferencia de lípidos.....	50
7. Polinosis en el área sanitaria de Toledo.....	54
V. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO.....	79
VI. OBJETIVOS.....	85
VII. MATERIAL Y MÉTODOS.....	89
1. Selección de pacientes.....	91

1.1. Definición de la población en estudio: criterios de selección.....	91
1.2. Determinación del tamaño muestral.....	94
1.3. Diagnóstico de enfermedad alérgica.....	95
2. Variables e instrumentos de medida.....	96
2.1. Datos demográficos y clínicos de los pacientes.....	96
2.2. Pruebas cutáneas.....	96
2.3. Determinación de IgE específica.....	97
3. Realización de pruebas cutáneas.....	98
4. Diagnóstico de alergia a alimentos.....	101
5. Hoja de recogida de datos.....	101
6. Determinación en suero de inmunoglobulina E específica.....	102
7. Análisis estadístico.....	105
8. Aspectos éticos.....	107
8.1. Evaluación beneficio-riesgo para los sujetos en investigación.....	107
8.2. Hoja de información y formulario de consentimiento.....	107

8.3.Confidencialidad de los datos.....	108
VIII. RESULTADOS.....	109
1. Características generales de la muestra.....	111
2. Descripción de la enfermedad.....	113
3. Determinación de la prevalencia de sensibilización a los diferentes alérgenos.....	117
3.1.Determinación de la prevalencia de sensibilización a los extractos de pólenes completos, profilina, polcalcina y piel de melocotón mediante pruebas cutáneas.....	117
3.2.Determinación de la prevalencia de sensibilización a los extractos completos por IgE CAP (nivel de sensibilidad >0,35 kU/l).....	122
3.3.Determinación e la prevalencia de sensibilización a las diferentes moléculas alérgicas mediante el método Advia Centauro (AC).....	126
3.4.Comparación de la sensibilización a pólenes y a panalérgenos mediante pruebas cutáneas y el método Advia Centauro.....	131
4. Perfil de sensibilización de los pacientes por zonas de residencia.....	133
4.1.Perfil de sensibilización de los pacientes por zonas de residencia mediante pruebas cutáneas.....	133

4.2. Perfil de sensibilización de los pacientes por zonas de residencia por IgE Advia Centauro (nivel de sensibilidad >0,35).....	134
5. Perfil de sensibilización de los pacientes según grupos de edad..	135
5.1. Sensibilización de los pacientes pediátricos.....	135
5.1.1. Sensibilización de los pacientes pediátricos mediante prueba cutánea.....	135
5.1.2. Sensibilización de los pacientes pediátricos mediante determinación de IgE específica por Advia Centauro.....	136
5.2. Sensibilización de los pacientes adultos.....	138
5.2.1. Sensibilización de los pacientes adultos mediante pruebas cutáneas.....	138
5.2.2. Sensibilización de los pacientes adultos mediante IgE Advia Centauro (sensibilidad >0,35).....	140
5.3. Comparación de la sensibilización a alérgenos entre los grupos de edad	141
5.3.1. Comparación de la sensibilización a alérgenos entre los grupos de edad por pruebas cutáneas.....	141
5.3.2. Comparación de la sensibilización a las moléculas alérgicas entre los grupos de edad mediante la determinación de IgE Advia Centauro.....	144

6. Perfil de sensibilización de los pacientes según sus patologías.....	146
6.1. Perfil de sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de asma.....	146
6.1.1. Perfil de sensibilización de los pacientes con síntomas de asma.....	147
6.1.1.1. Sensibilización de los pacientes con síntomas de asma, a alérgenos completos, mediante pruebas cutáneas.....	147
6.1.1.2. Sensibilización de los pacientes con síntomas de asma, a moléculas alérgicas, mediante IgE Advia Centauro.....	148
6.1.2. Sensibilización de los pacientes sin síntomas de asma.....	150
6.1.2.1. Sensibilización de los pacientes sin síntomas de asma, a alérgenos completos, mediante pruebas cutáneas.....	150
6.1.2.2. Sensibilización de los pacientes sin síntomas de asma, a moléculas alérgicas, mediante IgE Advia Centauro.....	153
6.1.3. Comparación de la sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de síntomas de asma.....	155

6.1.3.1. Comparación de la sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de síntomas de asma, a alérgenos completos, mediante pruebas cutáneas.....	155
6.1.3.2. Comparación de la sensibilización de los pacientes a moléculas alergénicas según presencia o ausencia de síntomas de asma mediante IgE Advia Centauro.....	157
6.2. Comparación de la sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO.....	159
6.2.1. Comparación de la sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO mediante pruebas cutáneas.....	159
6.2.2. Comparación de la sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO mediante IgE Advia Centauro.....	161
7. Sensibilización a pólenes de los pacientes según que estén o no sensibilizados a panalérgenos.....	163
7.1.Sensibilización a pólenes en pacientes sensibilizados a panalérgenos por prueba cutánea.....	163
7.1.1. Sensibilización de los pacientes a los alérgenos estudiados por pruebas cutáneas según que estén o no sensibilizados a polcalcina y profilina mediante pruebas cutáneas.....	163

7.1.2. Sensibilización de los pacientes a moléculas alérgicas (IgE Advia Centauro) según que estén o no sensibilizados a polcalcina y profilina mediante pruebas cutáneas.....	165
7.2.Sensibilización de los pacientes según que estén o no sensibilizados a polcalcina (Che a 3) por IgE Advia Centauro.....	166
7.2.1. Sensibilización a alérgenos completos valorados por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a polcalcina (Che a 3) por IgE Advia Centauro.....	167
7.2.2. Sensibilización a moléculas alérgicas valorada por IgE Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a polcalcina (Che a 3) por IgE Advia Centauro.....	168
7.3.Sensibilización de los pacientes según que estén o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE AC	170
7.3.1. Sensibilización a alérgenos completos valorados por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro.....	170
7.3.2. Sensibilización a moléculas alérgicas valorada por IgE Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro..	172

7.4.Sensibilización de los pacientes según que estén o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por IgE AC.....	174
7.4.1. Sensibilización a alérgenos completos valorada por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por IgE AC.....	174
7.4.2. Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por AC.....	176
8. Grado de concordancia entre las distintas técnicas diagnósticas empleadas.....	178
8.1.Diferencias en las prevalencias de sensibilización por ambas técnicas.....	178
8.2.Grado de concordancia entre pruebas cutáneas y determinación de IgE Advia Centauro (AC).....	179
8.2.1. Concordancia entre las pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica por AC en el global de los pacientes incluidos	179
8.2.2. Concordancia entre las pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica por AC en pacientes no sensibilizados a panalérgenos	185
8.2.3. Concordancia entre las pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica por AC en pacientes sensibilizados a profilina.....	189

8.2.4. Concordancia entre las pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica por AC en pacientes sensibilizados a polcalcina.....	194
9. Determinación de la posible asociación de la sensibilización a panalérgenos con los diferentes pólenes.....	200
IX. DISCUSIÓN.....	207
Mapa de sensibilización a pólenes, grado de concordancia de ambas técnicas diagnósticas empleadas, y papel de los panalérgenos ...	209
A qué alérgeno de pólenes se asocia la sensibilización a panalérgenos.....	229
Alergia a alimentos.....	230
Importancia como factor de riesgo de sensibilización a los panalérgenos de cada uno de los alérgenos de pólenes estudiados	233
Tipo de enfermedad alérgica respiratoria asociada a los alérgenos y panalérgenos estudiados.....	235
Diferencias de sensibilización según la zona de procedencia.....	235
Dificultades, fortalezas y debilidades.....	236
Contribuciones.....	239
Investigación futura.....	240
X. CONCLUSIONES.....	243
XI. ANEXOS.....	247
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	259

I. ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Hipótesis del incremento de las enfermedades de origen alérgico.....	16
Tabla 2: Proteínas relacionadas con la patogénesis.....	42
Tabla 3: Frecuencia relativa de taxones de pólenes atmosféricos encontrados en Toledo desde el 1 de enero de 1995 hasta el 31 de diciembre de 1996.....	55
Tabla 4: Frecuencia porcentual en pruebas cutáneas positivas a pólenes en 216 pacientes en la provincia de Toledo.....	56
Tabla 5: Distribución de los pacientes según sus zonas de residencia.....	111
Tabla 6: Sexo de los pacientes incluidos.....	111
Tabla 7: Edad de los pacientes incluidos en el estudio.....	112
Tabla 8: Grupos de edad.....	112
Tabla 9: Tiempo de evolución de la enfermedad.....	113
Tabla 10: Meses con presencia de síntomas.....	113
Tabla 11: Síndrome de Alergia Oral (SAO).....	115
Tabla 12: Otras alergias alimentarias.....	115
Tabla 13: Frecuencia de sensibilización a pólenes, profilina, polcalcina y piel de melocotón mediante pruebas cutáneas, y mediana del diámetro de las pápulas.....	118
Tabla 14: Sensibilidad por IgE CAP en pacientes pediátricos (nivel de sensibilidad >0.35)	123
Tabla 15: Sensibilidad por IgE CAP en pacientes adultos (nivel de sensibilidad >0.35)	124

Tabla 16: Sensibilización de los pacientes por prueba cutánea y lugar de residencia (nivel de sensibilidad ≥ 3).....	133
Tabla 17. Sensibilización por IgE Advia Centauro frente a lugar de residencia (nivel de sensibilización $>0,35$).....	134
Tabla 18. Comparación entre grupos de edad de la sensibilización por pruebas cutáneas	143
Tabla 19 .Comparación entre grupos de edad de la sensibilización a moléculas alergénicas mediante IgE Advia Centauro.....	145
Tabla 20. Sensibilización a alérgenos completos mediante pruebas cutáneas en pacientes con y sin asma.....	156
Tabla 21. Sensibilización a componentes alergénicos mediante AC en pacientes con y sin asma.....	158
Tabla 22: Sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO, mediante pruebas cutáneas, y el correspondiente estudio estadístico.....	160
Tabla 23: Sensibilización a componentes alergénicos determinados mediante IgE Advia Centauro en pacientes con y sin SAO.....	162
Tabla 24: Sensibilización a pólenes mediante pruebas cutáneas según se esté o no sensibilizado a profilina, polcalcina, a ambas o a ninguna, y el correspondiente estudio estadístico.....	165
Tabla 25: Sensibilización a moléculas alergénicas según si los pacientes están o no sensibilizados a polcalcina (Che a 3), ambos por Advia Centauro.....	169
Tabla 26: Sensibilización a alérgenos completos valorados por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro.....	171

Tabla 27: Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por IgE Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro.....	173
Tabla 28: Sensibilización a alérgenos completos valorada por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por IgE Advia Centauro.....	175
Tabla 29: Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por Advia Centauro.....	177
Tabla 30: Concordancia entre <i>Olea europea</i> (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.....	179
Tabla 31: Concordancia entre <i>Olea europea</i> (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 y Ole e 9 medidos por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.....	180
Tabla 32: Concordancia entre <i>Phleum pratense</i> (hierba timotea) medido por prueba cutánea y Phl p 1 y Phl p 5 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.....	180
Tabla 33: Concordancia entre <i>Platanus acerifolia</i> (plátano de sombra) medido por prueba cutánea y Pla 1 1 y 2 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.....	181
Tabla 34: Concordancia entre <i>Cupressus sempervirens</i> (ciprés) medido por prueba cutánea y Cup s 1 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.....	181
Tabla 35: Concordancia entre <i>Salsola kali</i> medido por prueba	

cutánea y Sal k 1 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.....	182
Tabla 36: Concordancia entre <i>Artemisia vulgaris</i> medido por prueba cutánea y Art v 1 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.....	182
Tabla 37: Concordancia entre piel de melocotón medido por prueba cutánea y Pru p 3 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.....	183
Tabla 38: Concordancia entre <i>Chenopodium album</i> (cenizo) medido por prueba cutánea y Che a 3 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.....	183
Tabla 39: Concordancia entre <i>Chenopodium album</i> (cenizo) medido por prueba cutánea y Che a 3 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.....	184
Tabla 40: Concordancia entre <i>Olea europea</i> medido por prueba cutánea y Ole e 2 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.....	184
Tabla 41: Concordancia entre profilina medido por prueba cutánea y Ole e 2 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.	185
Tabla 42: Concordancia entre <i>Olea europea</i> (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.....	185
Tabla 43: Concordancia entre <i>Olea europea</i> (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1y 9 medidos por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.....	186
Tabla 44: concordancia entre <i>Phleum pratense</i> (hierba timotea)	

medido por prueba cutánea y Phl p1 y Phl p5 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos	186
Tabla 45: concordancia entre <i>Platanus acerifolia</i> (plátano de sombra) medido por prueba cutánea y Pla a 1 y 2 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.....	187
Tabla 46: concordancia entre <i>Cupressus sempervirens</i> medido por prueba cutánea y Cup s 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.....	187
Tabla 47: concordancia entre <i>Salsola kali</i> medido por prueba cutánea y Sal k 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.....	188
Tabla 48: concordancia entre <i>Artemisia vulgaris</i> medido por prueba cutánea y Art v 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.....	188
Tabla 49: concordancia entre <i>Olea europea</i> medido por prueba cutánea y Ole e 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	189
Tabla 50: concordancia entre <i>Olea europea</i> medido por prueba cutánea y Ole e 1 + 9 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	189
Tabla 51: concordancia entre <i>Phleum pratense</i> (hierba timotea) medido por prueba cutánea y Phl p 1 + 5 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	190
Tabla 52: concordancia entre <i>Platanus acerifolia</i> (plátano de sombra) medido por prueba cutánea y Pla a 1 + 2 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	190

Tabla 53: concordancia entre <i>Cupressus sempervirens</i> medido por prueba cutánea y Cup s 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	191
Tabla 54: concordancia entre <i>Salsola kali</i> medido por prueba cutánea y Sal k 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	191
Tabla 55: concordancia entre <i>Artemisia vulgaris</i> medido por prueba cutánea y Art v 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	192
Tabla 56: concordancia entre piel de melocotón medido por prueba cutánea y Pru p 3 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	192
Tabla 57: concordancia entre <i>Chenopodium album</i> (cenizo) medido por prueba cutánea y Che a 3 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	193
Tabla 58: concordancia entre polcalcina medido por prueba cutánea y Che a 3 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	193
Tabla 59: concordancia entre profilina medido por prueba cutánea y Ole e 2 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	194
Tabla 60: concordancia entre <i>Olea europea</i> (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.....	194
Tabla 61: concordancia entre <i>Olea europea</i> (olivo) medido por	

prueba cutánea y Ole e 1 + 9 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.....	195
Tabla 62: concordancia entre <i>Phleum pratense</i> (hierba timotea) medido por prueba cutánea y Phl p 1 + 5 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.....	195
Tabla 63: concordancia entre <i>Platanus acerifolia</i> (plátano de sombra) medido por prueba cutánea y Pla l 1 + 2 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.....	195
Tabla 64: concordancia entre <i>Cupressus sempervirens</i> medido por prueba cutánea y Cup s 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.....	196
Tabla 65: concordancia entre <i>Salsola kali</i> medido por prueba cutánea y Sal k 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.....	196
Tabla 66: concordancia entre <i>Artemisia vulgaris</i> medido por prueba cutánea y Art v 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.....	197
Tabla 67: concordancia entre piel de melocotón medido por prueba cutánea y Pru p 3 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.....	197
Tabla 68: concordancia entre <i>Chenopodium album</i> (cenizo) medido por prueba cutánea y Che a 3 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.....	198
Tabla 69: concordancia entre <i>Platanus acerifolia</i> (plátano de sombra) medido por prueba cutánea y Pla a 1 + 2 medido por IgE	

Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.....	201
Tabla 70: Modelo de regresión logística multivariante, para valorar cuál o cuáles de los alérgenos están más asociados a la presencia de Ole e 2.....	203
Tabla 71: Significación estadística con Plátano de sombra y Profilina.....	204
Tabla 72: Nivel de acierto de Ole e 2, a partir de las puntuaciones (positivo/negativo) de Plátano de sombra y Profilina.....	204

II. ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Variabilidad de la eficacia de la inmunoterapia específica.....	26
Figura 2: Distintos componentes alergénicos que pueden encontrarse en los extractos de pólenes completos que se utilizan en el diagnóstico alergológico habitual.....	36
Figura 3: Paciente monosensibilizado a gramíneas.....	37
Figura 4: Paciente con pruebas cutáneas positivas a los tres pólenes, pero que no es alérgico ni a Abedul ni a Artemisia. Es alérgico a gramíneas y panalérgenos.....	38
Figura 5: paciente con pruebas cutáneas positivas a los tres pólenes, que es alérgico a los tres, además de a los panalérgenos.....	38
Figura 6. Distribución de las familias de proteínas alergénicas de los pólenes.....	40
Figura 7: Estructura de las profilinas vegetales.....	44
Figura 8: Profilinas vegetales y proteínas no alergénicas con una significativa similitud en su secuencia.....	45
Figura 9: Comparación de diferentes secuencias de profilinas..	46
Figura 10: Estructura de 4 alérgenos con 2 dominios ligadores de calcio.....	48
Figura 11: Polcalcinas de pólenes y proteínas no alergénicas con una significativa similitud con ellas en su secuencia.....	49
Figura 12: Comparación de diferentes secuencias de polcalcinas	

con dos dominios ligadores de calcio (Phl p 7, Aln g 4, Bet v 3, Jun o 4).....	50
Figura 13: Estructura tridimensional de Pru p 3.....	52
Figura 14: Comparación entre diferentes LTPs de alimentos, pólenes y látex.....	53
Figura 15: Recuentos de gramíneas totales anuales (suma de las medias diarias) en varias ciudades, 3 áreas climáticas (media de 5 años), 1998-2005, expresadas en granos/m ³ de aire.....	57
Figura 16: Recuentos de pólenes de <i>Olea</i> en el 2003, expresados como totales anuales y día pico.....	59
Figura 17: Recuentos de pólenes de <i>Chenopo-amaranthaceae</i> en 2003, expresados como tales anuales y día pico.....	60
Figura 18: Concentraciones totales anuales de pólenes de <i>Cupressaceae</i> expresadas como granos por m ³ de aire desde 1995 a 2002 en varias ciudades españolas.....	62
Figura 19: Recuentos de pólenes de <i>Cupressaceae</i> en 2003.....	63
Figura 20: Recuentos de pólenes de <i>Platanus</i> en el 2003, expresados como totales anuales y día pico.....	64
Figura 21: Calendario polínico de Toledo según datos del Comité de Aerobiología de la SEAIC.....	65
Figura 22: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 1995...	66
Figura 23: Recuentos anuales atmosféricos de los principales	

pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 1996...	66
Figura 24: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 1997...	67
Figura 25: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 1998...	67
Figura 26: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 1999...	68
Figura 27: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2000...	68
Figura 28: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2001...	69
Figura 29: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2002...	69
Figura 30: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2003...	70
Figura 31: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2004...	70
Figura 32: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2005...	71
Figura 33: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2006...	71

Figura 34: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2007...	72
Figura 35: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2008...	72
Figura 36: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2009...	73
Figura 37: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2010...	73
Figura 38: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2011...	74
Figura 39: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2012...	74
Figura 40: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2013...	75
Figura 41: Resultados del estudio EXPO en la provincia de Toledo.....	78
Figura 42. Área sanitaria de Toledo.....	92
Figura 43. Mapa esquemático de las comarcas naturales de la provincia de Toledo.....	93
Figura 44. Mapa de detalle de las comarcas de la provincia de Toledo.....	94

Figura 45: Plataforma tecnológica Advia-Centauro® (AC).....	103
Figura 46: Sistema Advia-Centauro® para la determinación de IgE específica.....	104
Figura 47. Distribución de los síntomas de los pacientes durante los meses del año.....	114
Figura 48. Distribución de frecuencias de síntomas de enfermedad alérgica respiratoria.....	115
Figura 49. Frecuencia de sensibilización a pólenes, profilina, polcalcina y piel de melocotón mediante pruebas cutáneas en orden decreciente.....	119
Figura 50. Distribución de pacientes sensibilizados a uno o más alérgenos mediante pruebas cutáneas.....	119
Figura 51. Distribución de los aeroalérgenos responsables de monosensibilización mediante pruebas cutáneas.....	120
Figura 52. Porcentaje de pacientes sensibilizados a panalérgenos mediante pruebas cutáneas.....	121
Figura 53. Distribución de frecuencias de sensibilización en los pacientes sensibilizados a panalérgenos mediante pruebas cutáneas.....	122
Figura 54. Porcentaje de positividad de IgE específica (CAP) de los pacientes a los que se les ha solicitado (con pruebas cutáneas positivas).....	125
Figura 55. Valores de la mediana de la Ig E específica (kU/l)...	125
Figura 56. Prevalencia de sensibilización a las moléculas	

alergénicas según Advia Centauro.....	126
Figura 57. Mediana de los valores de IgE específica (kU/l).....	127
Figura 58. Distribución de monosensibilizaciones y polisensibilizaciones a dos, tres, ó cuatro ó más alérgenos.....	128
Figura 59. Frecuencia de sensibilización a los diferentes pólenes.....	129
Figura 60. Porcentaje de pacientes sensibilizados a panalérgenos mediante Advia Centauro.....	130
Figura 61. Distribución de frecuencias de sensibilización en los pacientes sensibilizados a panalérgenos mediante Advia Centauro	130
Figura 62. Comparación de la sensibilización a pólenes y a panalérgenos mediante pruebas cutáneas y Advia Centauro.....	131
Figura 63. Distribución de frecuencias de los pacientes sensibilizados y no sensibilizados a panalérgenos mediante pruebas cutáneas y Advia Centauro.....	132
Figura 64. Sensibilización por prueba cutánea en pacientes pediátricos (sensibilidad $\varnothing > 3\text{mm}$).....	135
Figura 65. Medianas del diámetro medio (mm) de las pruebas cutáneas.....	136
Figura 66. Prevalencia de la sensibilización a componentes alérgicos mediante Advia Centauro.....	137
Figura 67. Valores de la mediana de IgE específica en pacientes pediátricos.....	138
Figura 68. Sensibilización de los pacientes adultos mediante	

pruebas cutáneas (sensibilización $\emptyset >3$).....	139
Figura 69. Valores de las medianas del diámetro medio de las pruebas cutáneas.....	139
Figura 70. Sensibilización por IgE Advia Centauro en pacientes adultos (nivel de sensibilidad $>0,35$).....	140
Figura 71. Valores de las medianas de IgE específica (kU/l) en pacientes adultos mediante Advia Centauro.....	141
Figura 72. Comparación de los niveles de sensibilización encontrados según grupos de edad, mediante pruebas cutáneas.....	142
Figura 73. Comparación de la sensibilización a las moléculas alergénicas entre los grupos de edad mediante la determinación de IgE específica Advia Centauro.....	144
Figura 74. Pacientes con y sin asma incluidos en el estudio....	146
Figura 75. Niveles de sensibilización a los diferentes alérgenos completos estudiados mediante prueba cutánea, de los pacientes con síntomas de asma.....	147
Figura 76. Niveles de la mediana del diámetro medio a alérgenos completos estudiados mediante prueba cutánea, de los pacientes con síntomas de asma.....	148
Figura 77. Sensibilización a moléculas alergénicas en pacientes con síntomas de asma, mediante IgE Advia Centauro.....	149
Figura 78. Valores de la mediana de la IgE específica por AC (kU/l) en pacientes con síntomas de asma.....	150

Figura 79. Sensibilización por pruebas cutáneas en pacientes sin síntomas de asma.....	151
Figura 80. Valores de la mediana de las pruebas cutáneas en pacientes sin asma (mm).....	152
Figura 81. Sensibilización a moléculas alergénicas en pacientes sin síntomas de asma, mediante IgE Advia Centauro.....	153
Figura 82. Valores de la mediana de la IgE específica Advia Centauro en pacientes sin asma (kU/l).....	154
Figura 83. Sensibilización a alérgenos completos mediante pruebas cutáneas en pacientes con y sin asma.....	155
Figura 84. Sensibilización a componentes alergénicos mediante AC en pacientes con y sin asma.....	157
Figura 85. Sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO, mediante pruebas cutáneas.....	159
Figura 86. Sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO, mediante pruebas cutáneas.....	161
Figura 87. Sensibilización a pólenes mediante pruebas cutáneas según se esté o no sensibilizado a profilina, polcalcina, a ambas o a ninguna.....	164
Figura 88. Sensibilización a panalérgenos mediante pruebas cutáneas según la sensibilización encontrada a moléculas alergénicas mediante Advia Centauro.....	166
Figura 89. Sensibilización a alérgenos completos valorados por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados	

a polcalcina (Che a 3) por IgE Advia Centauro.....	167
Figura 90. Sensibilización a moléculas alergénicas según si los pacientes están o no sensibilizados a polcalcina (Che a 3), ambos por Advia Centauro.....	168
Figura 91. Sensibilización a alérgenos completos valorados por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro.....	170
Figura 92. Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por IgE Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro.....	172
Figura 93. Sensibilización a alérgenos completos valorada por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por IgE Advia Centauro.....	174
Figura 94. Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por Advia Centauro.....	176
Figura 95. Prevalencia de sensibilización a pólenes y panalérgenos mediante pruebas cutáneas y a sus componentes alergénicos mediante Advia Centauro.....	178
Figura 96. Concordancia de resultados obtenidos entre pruebas cutáneas y determinación de IgE específica por Advia Centauro. Se muestran los valores estadísticamente significativos.....	199
Figura 97: Riesgo de estar sensibilizado a profilina frente a la sensibilización a otros alérgenos.....	202

III. RESUMEN

RESUMEN

Durante las últimas décadas se ha producido un incremento importante de la enfermedad alérgica respiratoria, particularmente en países industrializados. Los pólenes son los principales agentes causales, tanto en España como en Castilla-La Mancha, donde dan cuenta del 69% de las rinitis y del 63% de los asmas bronquiales.

El diagnóstico tradicional de la alergia a pólenes se realiza mediante pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica a alérgenos completos, que contienen varias proteínas alergénicas (tanto alérgenos mayores como alérgenos menores).

Recientemente disponemos de una nueva tecnología sanitaria para realizar el diagnóstico de alergia a pólenes. Se trata del diagnóstico molecular o por componentes. Consiste en la determinación de IgE específica frente a alérgenos recombinantes que se obtienen mediante técnicas de ingeniería genética. Se ha conseguido clonar y expresar las proteínas alergénicas y conocer los verdaderos epítomos que son reconocidos por los linfocitos T. A partir de ellos, se han desarrollado técnicas de identificación de IgE muy específicas. El empleo del diagnóstico molecular puede aportar un avance significativo en nuestra práctica clínica habitual, al determinar con mayor precisión y especificidad los alérgenos implicados en los síntomas de los pacientes, facilitando un diagnóstico más exacto, como paso previo a un tratamiento más preciso, es decir, que se ajuste mejor a la sensibilización real del paciente.

Con este método se puede identificar las positividades que se deben a reactividad cruzada por la participación de panalérgenos, que pueden actuar como factores de confusión en el diagnóstico de pacientes

polisensibilizados. El fenómeno de reactividad cruzada es frecuente con las técnicas diagnósticas habituales, ya que al utilizar extractos naturales, por muy purificados que estén, pueden, por un lado contener sustancias no propiamente sensibilizantes que podrían alterar los resultados, y por otro, contener componentes comunes que falseen positividades de la IgE específica. Estos componentes son conocidos como panalérgenos, constituidos por proteínas homólogas estructuralmente relacionadas entre diferentes especies, que se engloban en los grupos profilina, polcalcina y proteínas transferidoras de lípidos (LTP). Tales circunstancias se han relacionado con las frecuentes polisensibilizaciones que se observan en clínica, y que dificultan el diagnóstico de los verdaderos alérgenos responsables. Dichas polisensibilizaciones son más frecuentes en climas secos y continentales, en los que se favorece una polinización con elevada concentración atmosférica de pólenes durante cortos periodos de tiempo, lo que podría reactivar a la mayoría de los pacientes sensibilizados. Esta forma de polinizar es la que sucede en Toledo.

Recientemente se ha publicado un estudio de ámbito nacional cuyo objetivo ha sido determinar el mapa de sensibilización a pólenes mediante técnicas de diagnóstico molecular. Se incluyeron 25 pacientes del área sanitaria de Toledo. Los resultados obtenidos difieren de los esperados por los médicos de nuestro servicio. Por este motivo, y por mejorar el conocimiento de las causas responsables de la enfermedad alérgica respiratoria en nuestra área, por el bien de nuestros pacientes, y por optimizar el empleo de los recursos sanitarios, nos planteamos este estudio.

En base a ello, el objetivo principal del proyecto ha sido establecer el mapa de sensibilización a pólenes en el área sanitaria de Toledo mediante el uso de técnicas de diagnóstico molecular, estableciendo al mismo tiempo el grado de concordancia de estas técnicas diagnósticas con las pruebas

cutáneas convencionales y, valorando el papel de los panalérgenos como posibles factores que enmascaran el diagnóstico.

Como objetivos secundarios nos hemos planteado conocer a qué alérgeno de pólenes se asocia la sensibilización a panalérgenos, el grado de asociación de la alergia alimentaria que un porcentaje de nuestros pacientes polínicos presentan, así como establecer si su presencia se asocia de forma significativa a la sensibilización con algún polen específico, la importancia como factor de riesgo de sensibilización a los panalérgenos que estudiemos de cada uno de los alérgenos de pólenes más frecuentes en nuestra área sanitaria, el tipo de enfermedad alérgica respiratoria asociada a cada uno de los alérgenos y panalérgenos que estudiemos y si existen posibles diferencias en la sensibilización de nuestros pacientes según la zona de procedencia del área sanitaria de Toledo.

Metodología

- Diseño: estudio epidemiológico transversal y observacional.
- Población de estudio: pacientes derivados de Atención Primaria al Servicio de Alergología del Hospital del Valle de Toledo, con clínica de rinoconjuntivitis y/o asma bronquial compatible con polinosis. Hemos incluido, de forma consecutiva, a todos aquellos pacientes mayores de 5 años y menores de 55 años que han acudido por primera vez a nuestras consultas para estudio alergológico. Los pacientes, para poder ser incluidos, debían tener historia clínica de polinosis de al menos 2 años de evolución y no debían haber recibido inmunoterapia previa a pólenes en los 5 años anteriores a su inclusión en el estudio, debiendo estar residiendo, al menos, los 6 últimos años de forma consecutiva en la misma zona. Estos pacientes podían tener o no clínica de alergia alimentaria. Los pacientes o en

su caso, sus padres o tutores legales, debían firmar un documento de consentimiento informado. Los pacientes se han distribuido en cinco zonas según su lugar de residencia: Toledo capital, La Mancha, La Sagra, La Jara y Los Montes de Toledo.

- Periodo de selección de pacientes: desde enero hasta junio de 2010, ambos incluidos.
- Datos epidemiológicos y clínicos: edad, sexo, tiempo de evolución de la enfermedad, diagnóstico clínico (rinitis / conjuntivitis / asma), lugar de residencia (Toledo capital, La Mancha, La Sagra, Los Montes de Toledo, La Jara), síntomas de alergia alimentaria y alimentos con los que se relacionan, periodo en que presentan síntomas y alérgenos causantes y medidas de las pruebas cutáneas (diámetro medio).
- Estudio alergológico:
 - Tests cutáneos (TC): *Phleum pratense*, *Cynodon dactylon*, *Trisetum paniceum*, *Phragmites communis*, *Olea europea*, *Chenopodium album*, *Salsola kali*, *Artemisia vulgaris*, *Platanus acerifolia*, *Plantago lanceolata*, *Cupressus sempervirens*, polcalcina y profilina, piel de melocotón, histamina (control positivo), y suero salino (control negativo).
 - Determinación de IgE específica mediante técnicas de diagnóstico molecular mediante la plataforma Advia Centauro® (AC) (Laboratorios Bayer Health-Care Diagnostics Division, Tarrytown, NY, USA): Olivo (Ole e 1), gramíneas (Phl p 1, Phl p 5, Cyn d 1), Salsola (Sal k 1), Artemisia (Art v 1), Plátano de sombra (Pla a 1 y 2), *Cupressus sempervirens* (Cup s 1), polcalcina (Che a 3), profilina (Ole e 2) y proteína transferidora de lípidos ó LTP (Pru p 3).

En algunos pacientes hemos determinado, además, IgE específica frente a alérgeno completo (Pharmacia CAP System™, Pharmacia & Upjohn Diagnostics AB, Uppsala, Sweden), con la finalidad de proporcionarle una respuesta rápida, sin demoras innecesarias de tiempo, siguiendo el protocolo de actuación habitual de nuestro servicio.

- Métodos estadísticos

El programa utilizado para el análisis de datos fue el programa SAS versión 9.1. El análisis descriptivo se realizó con estadísticos de tendencia central y de dispersión para variables cuantitativas y frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas.

La relación entre las variables cuantitativas se describió dada la naturaleza no gaussiana de los indicadores cuantitativos de niveles de alérgenos, por medio del Coeficiente de Spearman, aplicando el test correspondiente para verificar si dicha correlación era significativamente distinta de cero, aplicándose para la detección de diferencias entre grupos de pacientes el test no paramétrico de la U de Mann-Whitney (con grupos menores de 30).

Para las variables cualitativas se utilizó el test “Chi-cuadrado” ó, en su caso, el Test Exacto de Fisher. Se fijó un nivel de significación $\alpha=0,05$.

Para los estudios de concordancia se utilizó el Índice de Kappa.

Finalmente, se aplicaron modelos de regresión logística con el fin de conocer cuál era el nivel de riesgo de ser sensible a los panalérgenos (profilina, polcalcina y LTP) según la sensibilidad de los restantes alérgenos.

- Aspectos éticos

El estudio se realizó de acuerdo con los principios contenidos en la Declaración de Helsinki y en cumplimiento con la misma se procedió a obtener la aprobación por parte del Comité Ético de Investigación Clínica del Complejo Hospitalario de Toledo.

Resultados

Se incluyeron 180 pacientes, de las cinco zonas de residencia. La muestra está equilibrada en cuanto a sexo. La edad de los pacientes se encuentra entre los 5 y los 54 años, estando la media en 26 años. El tiempo de evolución de la enfermedad está entre los 2 años y los 30 años. Se observan síntomas en todos los meses del año, salvo en diciembre. Hay un claro incremento desde el mes de marzo y continúa subiendo en abril y en mayo. Los niveles de síntomas en junio son también muy elevados, pero éstos disminuyen a partir de este mes con un discreto repunte en septiembre. Se observa que todos los pacientes excepto uno, presentan rinitis o rinitis y conjuntivitis. Del total de pacientes incluidos hay 70 (39%) que tienen asma. Sólo un paciente presentaba asma sin referir síntomas nasales u oculares. Casi un 12 % de los pacientes presentaban síndrome de alergia oral asociado a su polinosis. Un 6,7 % presentaban otras alergias alimentarias.

La mayoría de los pacientes participantes en el estudio están polisensibilizados. Los niveles de sensibilización y de polisensibilización son siempre más altos mediante TC que mediante AC, habiendo grandes discordancias entre los resultados de ambas técnicas diagnósticas. En los pacientes polisensibilizados siempre encontramos positividad a gramíneas.

Mediante AC destaca la sensibilización a los alérgenos mayores de gramíneas y de olivo, con una prevalencia de 75% y 60% respectivamente, que además son los que presentan mayor relevancia clínica.

Más de 40% de los pacientes están sensibilizados por AC a uno ó más panalérgenos (51% mediante TC). Están sensibilizados a profilina el 29,4% de los pacientes. La sensibilización a Pru p 3 (LTP) es de 13,1% y a Che a 3 (polcalcina) de 8,5%.

En la edad pediátrica la sensibilización no tiene diferencias estadísticamente significativas, salvo con Art v 1, que es menor en niños que en adultos. Un tercio están sensibilizados a profilina y un 18% a Pru p 3. No hemos encontrado ninguno sensibilizado a Che a 3.

La concordancia entre ambas técnicas (TC y AC), es buena para los panalérgenos (índice *kappa* polcalcina, 0.92; profilina, 0.74; Pru p 3, 0.66).

Sin embargo la concordancia con pólenes es menor. Es aceptable con gramíneas (índice *kappa* 0.6), y olivo (0.5), y disminuye con el resto de pólenes, hasta llegar a niveles de concordancia cercanos a 0.

Los niveles de concordancia aumentan de forma significativa en aquellos pacientes que no están sensibilizados a panalérgenos.

Hemos comprobado que la sensibilización a los panalérgenos se asocia a la sensibilización a algunos pólenes. Los pacientes sensibilizados a Che a 3 (polcalcina) están sensibilizados en mayor medida a todos los pólenes (salvo Olea y Trisetum), pero con diferencias estadísticamente significativas con Cup s 1 y Ole e 2, que los que no están sensibilizados a Che a 3. En los pacientes sensibilizados a Pru p 3, se encuentra una asociación con diferencias estadísticamente significativas con Pla a 1 y 2, que los no sensibilizados a Pru p 3. En los pacientes sensibilizados a profilina, hay una asociación estadísticamente significativa con Ole e 1.

Todos los pacientes con SAO están sensibilizados a profilina, con diferencias estadísticamente significativas con respecto a pacientes sin SAO. Hay un incremento de sensibilización a Pru p 3 en pacientes con SAO (sin significación estadística). Los cuatro pacientes del estudio con anafilaxia alimentaria están sensibilizados a Pru p 3.

La probabilidad de estar sensibilizado a profilina es 26 veces mayor en quienes están sensibilizados a *Phleum pratense*, y 16 veces mayor en los sensibilizados a *Platanus acerifolia*. Los pacientes con prueba cutánea positiva a profilina tienen 59 veces más riesgo de ser Ole e 2 positivos.

Los pacientes asmáticos presentan altos niveles de sensibilización a Phl p 1 (77,8%) y a Ole e 1 (76,2%). Están sensibilizados a Ole e 2 en un 40,2%, a polcalcina en un 20,6%, y a Pru p 3 en el 12,7%. Estas cifras son más elevadas que las de los pacientes con rinitis sin asma. En los pacientes con asma encontramos diferencias estadísticamente significativas para la sensibilización a Ole e 1 y Che a 3 con respecto a la sensibilización de pacientes con rinitis sin asma. También destacan en los asmáticos, aunque sin llegar a la significación estadística, los niveles más elevados de sensibilización a Phl p 5 y Ole e 9, con respecto a la de los pacientes con rinitis sin asma.

No hemos encontrado ninguna diferencia entre los resultados obtenidos de pacientes procedentes de las cinco zonas de residencia.

Discusión

Este trabajo nos ha permitido conocer mejor el perfil de sensibilización de nuestros pacientes, y cuáles son los alérgenos más importantes, tanto desde el punto de vista de la prevalencia como de la relevancia clínica.

Nos ha permitido saber cuántos están sensibilizados a panalérgenos, más que en otros lugares de España, y obtener argumentos para explicar cómo

esta sensibilización puede explicar fenómenos de reactividad cutánea y falsos diagnósticos mediante pruebas cutáneas.

Hemos medido el grado de concordancia entre ambas técnicas diagnósticas, que ha sido muy buena con los panalérgenos, y peor para los extractos de pólenes. Este conocimiento es la base para realizar cambios en la batería de diagnóstico habitual de polinosis, en la que no deben faltar los panalérgenos, se puede reducir el número de extractos de gramíneas diferentes, se debe evitar el empleo de extracto de *Chenopodium* como marcador de sensibilización a polcalcina, y debemos optimizar la solicitud de estudios analíticos, no siendo necesarios en aquellos pacientes polínicos con pruebas cutáneas negativas a los panalérgenos.

Conclusiones

Están explicadas en el apartado X, a donde remitimos al lector.

La conclusión de este trabajo abre las puertas para continuar investigando ciertos aspectos del manejo de la polinosis en nuestros pacientes.

IV. INTRODUCCIÓN

1. AUMENTO DE LA PREVALENCIA DE LAS ENFERMEDADES ALÉRGICAS EN GENERAL Y DE LA POLINOSIS EN PARTICULAR

Estudios epidemiológicos recientes demuestran el importante incremento experimentado por las enfermedades de etiología alérgica, sobre todo en los países occidentales o más desarrollados, durante los últimos años¹. Este significativo incremento se ha experimentado, sobre todo, en el caso de la rinitis y el asma alérgicos, llegándose a alcanzar el 40% en jóvenes adolescentes². Los principales agentes etiológicos de estas enfermedades son los pólenes, particularmente en las zonas urbanas de los países industrializados^{3,4}. Estos datos están en concordancia a nivel nacional en el amplio estudio epidemiológico Alergológica 2005⁵, en el que se demostró que el 58% de los pacientes diagnosticados de rinitis alérgica y el 43% de los asmáticos estaban sensibilizados a pólenes. Cuando los registros de prevalencia se concretan en Castilla-La Mancha, la alergia a pólenes supone un 69% de las consultas de rinitis y el 63% en las de asma bronquial^{6,7}.

Este incremento de la prevalencia de las enfermedades alérgicas ha llevado a un aumento en la demanda asistencial con el consiguiente reto para las autoridades sanitarias que han tenido que adaptar los medios asistenciales existentes para dar una correcta atención a la población afectada.

Las causas de este incremento aún no están bien definidas, pero probablemente, la suma de hipotéticos factores favorecedores o adyuvantes más característicos de “las sociedades occidentales” (Tabla 1) podrían influir. Los tratamos someramente a continuación:

Aumento del conocimiento y mejora del diagnóstico
Susceptibilidad genética
Influencia psico-social
Exposición alérgica
Falta de estimulación del sistema inmune (hipótesis de la higiene)
Polución ambiental

Tabla 1: Hipótesis del incremento de las enfermedades de origen alérgico

1.1. Aumento del conocimiento y mejora del diagnóstico

El aumento y la mejora del conocimiento de las enfermedades alérgicas es algo evidente e indiscutible. En pocos años se ha pasado de etiquetar de extrínsecos o alérgicos a muchos pacientes que anteriormente se etiquetaban de intrínsecos o no alérgicos. Hace 50 años la proporción de asmáticos intrínsecos se consideraba del 80% y de extrínsecos o alérgicos el 20%. En la actualidad, estos porcentajes se han invertido, es decir, es posible diagnosticar un origen alérgico en el 80% de las asmas, quedando la proporción de asmas intrínsecos en el 20%.

Son muchos los factores que influyen en el mejor conocimiento de las enfermedades alérgicas. Uno de ellos es su alta prevalencia y la obligación del médico en ocuparse del estudio de estas enfermedades para atender la creciente demanda asistencial que existe. Pero también influye la mejora en los procedimientos y técnicas diagnósticas disponibles y la mejor accesibilidad a las mismas, que permiten objetivar el papel etiológico de anticuerpos de tipo IgE en la patogenia de estas enfermedades y que van desde las pruebas cutáneas (*prick test* e intradermorreacción) a técnicas de laboratorio como la determinación de Ig E específica (por diversas

técnicas) , la identificación y estandarización de proteínas alergénicas, la disponibilidad de mejores extractos diagnósticos, etc.

Pero es importante recalcar que el elemento principal de la mejora del conocimiento de estas enfermedades y de la mejora del diagnóstico de las mismas, es el importante papel que históricamente han ejercido un buen número de médicos españoles, desde el Profesor Jiménez Díaz hasta la actualidad, con inquietudes sin límite en la buena praxis alergológica, con el bien del paciente como única finalidad, y que demuestran día a día muchos de los miembros de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica.

Es encomiable el esfuerzo que se está realizando en los últimos años para que la Alergología forme parte de los planes de estudios de un cada vez mayor número de facultades de medicina en nuestro país. De igual modo, es indudable, la magnífica formación que consiguen los residentes de Alergología en todas las unidades docentes del país, así como el esfuerzo en la formación de otros médicos especialistas que rotan por nuestros servicios (medicina familiar y comunitaria, pediatría ó medicina del trabajo). El esfuerzo en fomentar la formación de postgrado también es un factor importante en esta mejora del conocimiento de la patología alergológica.

Por último, queremos destacar el importante número de alergólogos que fuera y dentro de España se dedican a la investigación, tanto en grupos ya consolidados como investigadores noveles, lo cual pone de manifiesto que esta especialidad sigue siendo joven y tiene un largo recorrido de mejora, tanto en lo referente a la formación como a la investigación, dirigida en último término a la mejora de la calidad asistencial que prestamos a nuestros pacientes.

1.2. Susceptibilidad genética

Desde la primera descripción de la atopia se estableció que se trataba de una condición genéticamente adquirida que determinaría una susceptibilidad aumentada para el desarrollo de enfermedades alérgicas⁸. Se conoce que las enfermedades atópicas muestran una tendencia familiar. Además de por los clásicos estudios genéticos familiares o en estudios de gemelos, técnicas más recientes como las de biología molecular han permitido realizar hallazgos que explican esta predisposición, como el estudio de varios *loci* para genes asociados específicamente con la atopia en varios cromosomas⁹, diferentes polimorfismos genéticos en productos genéticos de importancia relevante en enfermedades alérgicas¹⁰, o el posible papel de la impronta genómica o del DNA mitocondrial que se abordan en los trabajos de Ring y colaboradores¹¹. También se ha observado la influencia mayor o dominante de la genética materna sobre la paterna, lo que ha ocasionado una serie de especulaciones acerca del papel en el desarrollo de enfermedades alérgicas de las influencias ambientales dentro del útero¹².

Por la multiplicidad genética que aparece en el desarrollo de la atopia se entiende que el factor hereditario no puede ser el único que determine el incremento de la prevalencia de las enfermedades alérgicas. Esto parece particularmente claro en los estudios realizados comparando las poblaciones de Alemania del este y del oeste, después de la caída del muro de Berlín en 1989, donde se observaban diferencias significativas en cuanto a la prevalencia de las enfermedades alérgicas entre los habitantes de cada lado del muro. Las poblaciones alemanas a ambos lados del muro tenían una genética, un ambiente geográfico y unas condiciones climáticas similares, pero un diferente estilo de vida¹³.

1.3. Influencias psico-sociales

Varios estudios, entre ellos un informe de la comisión de la Unión Europea sobre epidemiología de la salud, informan que los niños de padres universitarios tienen un mayor riesgo de tener sensibilización atópica y enfermedades alérgicas¹⁴. Al mismo tiempo, el tamaño de la familia ha disminuido, y parece existir una relación inversa entre el número de niños o el número de personas que viven en una sola vivienda y la frecuencia de atopía¹⁵. Otros cambios en los hábitos de vida también pueden estar favoreciendo el incremento de enfermedades alérgicas, tales como el incremento de mujeres jóvenes que fuman, el estrés psicológico y las costumbres de los niños, que pasan más tiempo en sitios cerrados, aumentando de este modo su exposición a los alérgenos de interior¹⁶.

1.4. Exposición alérgica

La exposición a alérgenos, tanto a aquellos que se encuentran en el interior de las viviendas como a los del exterior, ha cambiado considerablemente, tanto cualitativa como cuantitativamente, en las últimas décadas.

Los alérgenos de interior, como los ácaros del polvo doméstico o los hongos ambientales, probablemente se han incrementado debido a los nuevos hábitos de vida en los que se tiende a pasar mayor tiempo en lugares cerrados, como se ha indicado anteriormente. Además existe una tendencia a tener animales dentro de la casa, tales como perro, gato, hámster, cobaya, etc., lo que hace aumentar la exposición a sus antígenos y la respuesta alérgica a los mismos^{17,18}. Sin embargo, estudios recientes, en los que se observa que en niños con una exposición precoz y elevada a gatos no aumenta el riesgo de sensibilización IgE mediada a epitelio de gato, e incluso, puede crear cierta tolerancia, deja al menos dudas en la

validez de esta hipótesis, y sugiere posibles diferencias en cuanto al comportamiento inmunológico frente a las diferentes fuentes alérgicas¹⁹.

En cuanto a la exposición a los alérgenos de exterior, como los pólenes, también ha habido cambios debido a la polución atmosférica sobre las grandes ciudades, llegando a unas concentraciones de granos de polen o de sus alérgenos de forma elevada durante más tiempo e incluso durante la noche, y causando la alteración de los alérgenos por interacción con los contaminantes^{20, 21, 22}, como detallaremos más adelante.

1.5. Falta de estimulación del sistema inmune (hipótesis de la higiene)

Las bases de esta hipótesis se asientan en la relación inversa entre el número de infecciones precoces y la incidencia de enfermedades alérgicas. No hay duda de que en las sociedades occidentales, las personas presentan un menor número de infecciones virales, bacterianas y fúngicas o infestaciones parasitarias. Los mecanismos de defensa parasitaria mediados por IgE todavía se encuentran presentes y pueden ahora dirigirse contra sustancias del ambiente inocuas, que no producen patología por sí mismas (polen de olivo, epitelio de gato, etc.).

Múltiples estudios han abordado este tema, desarrollándose una amplia bibliografía, con argumentos a favor y en contra. Entre los argumentos a favor destacan: la asociación inversa entre las infecciones y la atopia, la baja prevalencia del asma y polinosis en poblaciones con alta prevalencia de infestación parasitaria, el alto número de lactobacilos en la flora intestinal de los niños que tienen baja prevalencia de atopia, y la menor prevalencia de la alergia en los niños que viven en granjas frente a los que no en la misma área geográfica. Entre los argumentos en contra destacan: el riesgo de mayor urticaria y eccema atópico en las infestaciones parasitarias,

el incremento de la IgE por algunos microorganismos como el bacilo Pertussis y el virus respiratorio sincitial, el hecho de que la tuberculosis activa no disminuya la reactividad TH2, y que en modelos animales bajo condiciones libres de patógenos no se desarrolle dermatitis atópica y en condiciones normales sí²³.

En definitiva, a la vista de los resultados, no está claro el valor de esta hipótesis en el incremento de la prevalencia de las enfermedades alérgicas.

1.6. Polución ambiental

El papel de los contaminantes en el desarrollo de la alergia es todavía controvertido. Es importante distinguir entre las diferentes calidades de los contaminantes aéreos, que han venido a denominarse tipo I y tipo II.

El tipo I de contaminación ambiental se caracteriza por la presencia de contaminantes primarios tales como el azufre (SO₂), grandes partículas y nubes de polvo emitidas predominantemente por fuentes de exterior, típica de sociedades cuya fuente principal de energía es el carbono. Se asocia con efectos adversos sobre la salud tales como inflamación e irritación de las vías respiratorias²⁴.

El tipo II de contaminación ambiental se caracteriza por la presencia de contaminantes derivados fundamentalmente de la combustión de derivados del petróleo caracterizada por óxidos de nitrógeno, componentes volátiles orgánicos, ozono y partículas en suspensión entre las que destacan las partículas de emisión diesel. Se encuentran sobre todo en zonas urbanas industrializadas y altamente pobladas del mundo occidental. Este tipo de contaminación se ha encontrado asociada con sensibilizaciones y enfermedades alérgicas en varios estudios^{25, 26, 27}.

La exposición al humo del tabaco también se ha demostrado en muchas ocasiones como un factor de riesgo que incrementa el desarrollo de enfermedades atópicas, especialmente cuando las madres fuman durante el embarazo y/o la lactancia²⁸.

La contaminación ambiental, sobre todo las partículas provenientes de la combustión incompleta de los motores diesel, influye en el incremento de la alergia a pólenes. Las polinosis se han visto duplicadas en las dos últimas décadas en la mayoría de los países europeos, siendo en España responsable del 52% de las rinoconjuntivitis⁶ y del 44% de los casos de asma⁷ atendidos en las consulta de alergia de nuestro país. Estos porcentajes aumentan considerablemente en las zonas concretas con concentraciones más altas de pólenes.

Existen varios mecanismos por los que las partículas contaminantes procedentes de la combustión diesel pueden aumentar las polinosis, que resumimos a continuación:

- 1) La exposición a contaminantes aumenta la permeabilidad de las células de la mucosa de las vías aéreas a los alérgenos, facilitando la respuesta inmune²⁹.
- 2) Se produce también una disminución del aclaramiento mucociliar, lo cual prolonga la permanencia del grano de polen en la mucosa respiratoria, y por tanto, su exposición al sistema inmunológico²⁹.
- 3) La co-exposición con contaminantes aumenta la liberación por parte de los granos de polen de sustancias proinflamatorias (similares a eicosanoides, prostaglandina E2 y leucotrieno B4), que podrían provocar un aumento de la actividad inflamatoria³⁰.

- 4) La respuesta IgE frente a los alérgenos de los pólenes se incrementa de una forma significativa cuando están mezclados con partículas procedentes de la combustión diesel^{31, 32}.
- 5) Los pólenes de zonas con gran contaminación expresan mayor cantidad de proteínas descritas como alergénicas, en comparación con áreas de menos contaminación^{22, 33}.
- 6) Las partículas de emisión de diesel interactúan con los granos de pólenes produciéndose aglomeraciones y, mediante determinadas sustancias, fundamentalmente hidrocarburos aromáticos policíclicos, pueden por sí mismas provocar la liberación de micropartículas o partículas paucimicrónicas que pueden contener proteínas alergénicas, de la misma forma que se produce cuando el grano de polen se expone a condiciones ambientales de humedad elevada³⁴.
- 7) Las partículas de emisión de diesel son también capaces de absorber aeroalérgenos de los pólenes, lo que permite una mayor concentración y permanencia en el aire de éstos, así como una mayor facilidad de penetración en la vía respiratoria³⁴.

2. ALERGIA A ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

El aumento de la prevalencia también se da en la alergia a alimentos en general. En España la prevalencia de la alergia a alimentos se ha duplicado en poco más de 10 años, pasando de 3,6% a 7,4% de los pacientes que acuden por primera vez al alergólogo⁵.

Esto se debe en parte al aumento de reacciones a alimentos de origen vegetal (frutas, frutos secos, legumbres, hortalizas, cereales), que ocurren en aproximadamente el 77% de los pacientes con alergia a alimentos (frente al 68% hace 10 años). La alergia a alimentos de origen vegetal es la causa de alergia a alimentos más frecuente en España en niños mayores de 5 años y en adultos³⁵. La prevalencia de alergia a alimentos de origen vegetal aumenta significativamente asociada a polinosis³⁶. Varios trabajos de los últimos años han estudiado las causas de esta asociación, y todo apunta a que se debe, al menos en parte, a fenómenos de reactividad cruzada entre moléculas homólogas entre sí, que existen tanto en alimentos vegetales como en pólenes (panalérgenos).

3. INCREMENTO DE LA POLISENSIBILIZACIÓN

Además del aumento de la alergia a pólenes, se ha observado también, un aumento en el número de pacientes polínicos sensibilizados a múltiples pólenes (polisensibilizados), detectados mediante los métodos diagnósticos habituales, como son los tests cutáneos (técnica de la punción o *prick-test*) (TC) y la determinación de IgE específica, dirigidos ambos a extractos completos de pólenes. Tanto es así, que aparecen con frecuencia pacientes sensibilizados a pólenes de plantas que no existen en su área de residencia, por lo que no han podido estar expuestos. Aspectos como éste, nos llevan a cuestionarnos la relevancia clínica de estas polisensibilizaciones^{37, 38}.

Tanto la polisensibilización a pólenes, como la gran variabilidad en la eficacia terapéutica del tratamiento etiológico de las enfermedades alérgicas con inmunoterapia específica, puede deberse a varios factores. Esta variabilidad en la eficacia terapéutica de la inmunoterapia se observa en diversos estudios y metaanálisis^{39,40,41} y se refleja en la figura 1 (aunque de forma global se demuestre la eficacia de la inmunoterapia). Los resultados terapéuticos son muy variables incluso en pacientes con un mismo diagnóstico (según los métodos habituales), sobre todo si son polisensibilizados⁴². Esto nos obliga a plantearnos si la información que obtenemos mediante los procedimientos diagnósticos habituales es adecuada para realizar un diagnóstico correcto del paciente y plantear su adecuado tratamiento. Entramos en el terreno de la evaluación de tecnologías sanitarias, en este caso referidas tanto a los métodos de diagnóstico y como a los tipos de tratamiento aplicados a los pacientes alérgicos.

Review: Sublingual immunotherapy in children with respiratory allergy
 Comparison: 02 Nasal symptom scores
 Outcome: 01 Nasal symptom scores

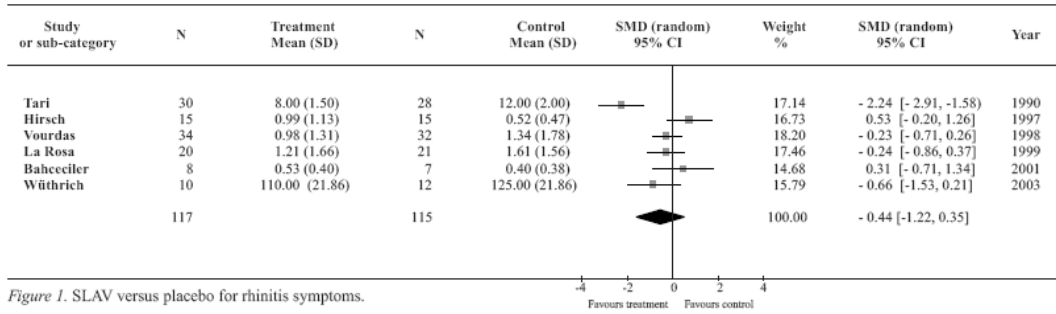


Figure 1. SLAV versus placebo for rhinitis symptoms.

Review: Sublingual immunotherapy in children with respiratory allergy
 Comparison: 01 Bronchial symptom scores
 Outcome: 01 Bronchial symptom scores

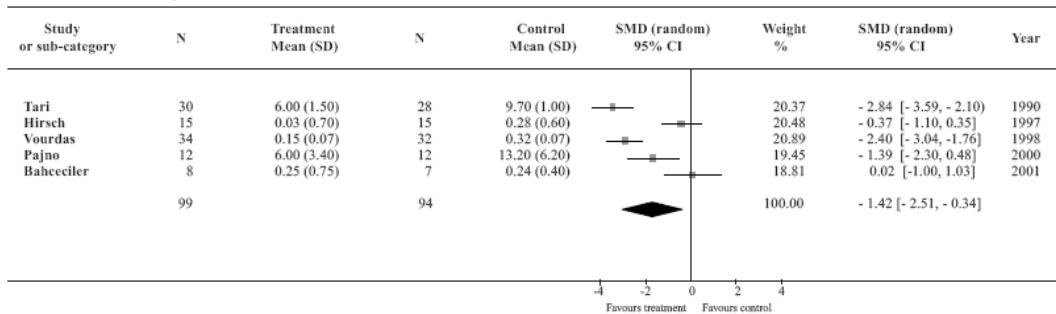


Figure 2. SLAV versus placebo for asthma symptoms.

Figura 1: Variabilidad de la eficacia de la inmunoterapia específica. Tomada de J.M. Olaguíbel, M.J. Álvarez Puebla. Efficacy of sublingual allergen vaccination for respiratory allergy in children. Conclusions from one meta-analysis. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2005; Vol. 15(1): 9-16

4. PROCEDIMIENTO DIAGNÓSTICO HABITUAL EN POLINOSIS. ESTANDARIZACIÓN DE EXTRACTOS ALERGÉNICOS.

Los procedimientos habituales en el diagnóstico de la alergia respiratoria en general, y de la alergia a pólenes en particular, consisten básicamente, además de en la detallada historia clínica, en la realización de pruebas de punción cutánea (*prick-test*, *skin prick-test*, TC) y en la determinación *in vitro* en el suero del paciente de IgE específica frente al polen en estudio. Ambos procedimientos se realizan frente a extractos estandarizados de pólenes completos, y no exclusivamente frente a los alérgenos conocidos de dichos pólenes.

Es pues básico, para realizar un diagnóstico correcto, la calidad de los extractos que utilizemos. Para ello, es fundamental disponer de extractos alérgenos de referencia bien caracterizados para cada fuente alérgica, con la que poder comparar e igualar los sucesivos lotes de extractos fabricados. En esto se basa la estandarización de extractos alérgenos.

Los extractos alérgenos son soluciones acuosas de materiales alérgenos completos, como por ejemplo, los pólenes. La definición de un alérgeno se realiza en base a un criterio funcional de ser capaz de provocar una respuesta tipo IgE en individuos susceptibles. La práctica totalidad de los alérgenos son proteínas y, al menos en los alérgenos por inhalación, fácilmente solubles en agua.

El uso de extractos alérgenos se viene realizando desde hace prácticamente cien años. Durante la mayor parte de este periodo de tiempo se desconocía la naturaleza de las sustancias involucradas en la reacción alérgica y los mecanismos subyacentes. No es extraño, por tanto, que la forma de asignar la potencia a los extractos alérgenos se realizara en base

al porcentaje de extracción del material de partida. Recordemos en este sentido, que la unidad Noon se definía como una unidad de toxina polínica que era igual a la cantidad que podía ser extraída de 1 mcg de polen de *Phleum*⁴³. En esta definición se incluían dos errores: por un lado el concepto de toxina, y por otro, considerar que siempre se podría extraer la misma cantidad de principio activo de la misma cantidad en peso de materia prima. Actualmente se sabe que la variación en la materia prima puede ser de hasta 100 veces. Más tarde se crearon las Unidades de Nitrógeno Proteico (PNU), que se definieron como la cantidad de nitrógeno proteico correspondiente a 62 ng de proteína. El problema que planteaban estas unidades es que la cantidad total de proteína no representa su contenido en actividad alérgica o proteína alérgica activa.

En 1966, el descubrimiento de la molécula de IgE⁴⁴, llevó asociado un avance cualitativo en las metodologías diagnósticas y un interés creciente en el establecimiento de métodos de estandarización en base a las mismas⁴⁵.

Posteriormente, gracias a la aplicación de técnicas de biología molecular, se ha ido conociendo por separado los diferentes componentes antigénicos que caracterizan a los distintos extractos naturales utilizados, su secuencia, su función, su ubicuidad y sus asociaciones entre las distintas fuentes biológicas, de forma que en los últimos 20 años, más de un centenar de importantes alérgenos de muy diversa procedencia, entre ellos los pólenes y los alimentos, han sido clonados, secuenciados y expresados, lo que ha permitido, además de obtener su estructura tridimensional y conocer sus funciones biológicas esenciales y su carácter alérgico, mapear su estructura epitópica y producir moléculas recombinantes modificadas que abren un abanico de posibilidades a la hora de resolver los problemas

asociados a las enfermedades alérgicas, desde el punto de vista de investigación, diagnóstico y tratamientos específicos⁴⁶.

4.1. Estandarización biológica

Desde 1980 comenzó a aplicarse el concepto de estandarización biológica a la producción de extractos comerciales, que han ido sustituyendo a los elaborados utilizando otros sistemas de estandarización (peso/volumen, unidades Noon, contenido proteico, etc.) como base⁴⁷.

Se denomina actividad biológica de un extracto a su facultad de inducir una respuesta en la piel de los pacientes alérgicos a las sustancias alérgicas contenidas en el mismo. Puesto que la respuesta biológica es muy variable entre unos pacientes y otros, debe trabajarse con un número de pacientes representativo de la población de pacientes alérgicos.

La fabricación y estandarización de extractos alérgicos abarca toda una serie de etapas, incluyendo la selección de la materia prima más adecuada, la elaboración de los extractos, el desarrollo de inmunoensayos para la cuantificación de sus alérgenos, la caracterización de los mismos, la determinación de la proteína total de los extractos, y el desarrollo de estudios clínicos de eficacia a doble ciego controlados con placebo que avalen su eficacia.

La selección de la materia prima es una parte fundamental a la hora de fabricar los extractos⁴⁸. Hay que tener en cuenta las diferencias que pueden existir en el perfil antigénico según la fuente utilizada^{49,50}, la ausencia de contaminantes orgánicos (otros pólenes o tejidos vegetales, esporas, etc.) o plaguicidas, la riqueza o la pureza y las características bioquímicas del producto (humedad, potencia o perfil antigénico).

El segundo paso en el proceso de estandarización consiste en la preparación de un extracto de referencia. Esta preparación debe contener los alérgenos relevantes de un material alergénico determinado, debe ser representativa de posteriores lotes fabricados y debe ser estable. Posteriormente se utilizará para comparar y juzgar la calidad de los lotes de fabricación y conseguir la consistencia del producto lote a lote, tanto en términos de actividad biológica como de composición alergénica.

La caracterización del extracto de referencia incluye el análisis bioquímico de la muestra, su contenido en proteínas y carbohidratos, el análisis proteico mediante técnicas electroforéticas como el SDS-PAGE o la inmunoelectroforesis (IEF), el contenido en alérgenos mediante inmunodetección, y la valoración de la actividad biológica o potencia *in vivo*, probando el extracto en pacientes alérgicos al alérgeno en cuestión.

Puesto que existe una correlación entre la concentración de sustancias alergénicas y el tamaño de pápula inducido, se pueden trazar curvas dosis-respuesta de los pacientes estudiados. En general, a la concentración del extracto que induce una determinada área de pápula media se le asigna un valor de n unidades de actividad biológica, bien de modo absoluto (BU)⁵¹, o referidas al área inducida por una sustancia control como histamina (HEP)⁵².

Cada nuevo lote de extracto debe caracterizarse de igual manera y se compara su actividad alergénica *in vitro* con el extracto de referencia, aplicando como reactivo un conjunto de sueros de pacientes alérgicos para asignar la actividad de los sucesivos lotes fabricados.

Los extractos así valorados presentan fundamentalmente tres importantes ventajas:

- Poder establecer la potencia del extracto en base al contenido de sus componentes activos o alérgenos.
- Asegurar la homogeneidad lote a lote en cuanto a actividad biológica mediante la comparación con un extracto de referencia.
- Asegurar que extractos alérgicos procedentes de distintas materias primas, pero con igual actividad *in vitro*, provoquen el mismo tipo de respuesta cutánea en la población alérgica correspondiente.

La estandarización biológica y el control de los lotes fabricados son hoy en día un requisito legal para obtener el registro de productos de inmunoterapia en la Unión Europea⁵³.

4.2. Estandarización en unidades de masa (UM)

De las distintas moléculas alérgicas contenidas en un extracto, no todas son reconocidas por los pacientes alérgicos con la misma frecuencia.

En general, un paciente alérgico reacciona prioritariamente frente a determinados antígenos, bien sea porque son más abundantes, o bien porque presenten mayor capacidad sensibilizante. Se denominan alérgenos mayoritarios aquellos frente a los que presentan IgE específica más del 50% de los pacientes alérgicos a un determinado agente etiológico alérgico (polen, ácaro, hongo, etc.). Se denominan alérgenos minoritarios los que son reconocidos por menos del 50% de los pacientes alérgicos a un determinado agente etiológico alérgico.

Normalmente hay una relación directa entre actividad biológica y contenido de alérgeno mayoritario, pero en los casos en los que hay más de un alérgeno mayoritario, esta relación no es tan clara, y puede haber

extractos con concentraciones diferentes de alérgenos mayoritarios sin afectar aparentemente la actividad biológica total⁵⁴.

La estandarización en unidades de masa (estandarización UM) consiste en determinar con precisión la cantidad de alérgeno mayoritario contenida en el extracto, y asegurar que sea constante lote a lote, sin que ello repercuta en la actividad biológica del extracto, es decir, permite dosificar de forma más precisa la cantidad del ingrediente activo *a priori* relevante, reduciendo la variabilidad y seleccionando los lotes que cumplen criterios de calidad más estrictos con una clara significación clínica (eficacia/seguridad)⁵⁵.

4.3. Limitaciones actuales de los extractos estandarizados

La falta de unificación entre las diferentes compañías farmacéuticas fabricantes de extractos alérgicos para su preparación y estandarización, hacen que éstos puedan diferir considerablemente unos de otros.⁵⁶ Estas diferencias pueden deberse a diversas causas como la selección inadecuada de la materia prima, las diferencias en los métodos, tiempos y soluciones de extracción, el tamaño del poro de diálisis y a los métodos de valoración de los alérgenos para asignarles una potencia biológica determinada. En la estandarización *in vivo*, es igualmente necesario unificar los criterios de selección de los pacientes para obtener resultados homogéneos. Los métodos de valoración, aunque el principio científico sea el mismo, deben ser uniformes y estar validados; de otra forma, estas variaciones pueden agravarse. Estos factores son igualmente aplicables para la cuantificación de alérgenos mayores. El objetivo final de todos debe ser la obtención de extractos que sean consistentes y reproducibles, estables, y con eficacia

clínica y seguridad demostrada para que los pacientes alérgicos sean tratados de una forma eficaz y segura.

El control de calidad se debe llevar de forma exhaustiva desde la elección y preparación de la materia prima para evitar, entre otras cosas, la contaminación por otras fuentes alérgicas diferentes⁵⁷, o las diferencias que pueden existir en el perfil antigénico según la fuente utilizada^{58, 59}.

Normalmente hay una relación directa entre actividad biológica y contenido de alérgeno mayoritario, pero en casos donde hay más de un alérgeno mayoritario o relevante, esta relación, tal y como se ha mencionado anteriormente, no es tan clara y puede haber extractos con concentraciones diferentes de alérgenos mayoritarios sin afectar aparentemente a la actividad biológica total⁶⁰.

Por otro lado, la diferenciación entre alérgenos mayores y menores está basada en criterios estadísticos. En general, no considera el porcentaje de IgE específica a un extracto que está dirigido a cada molécula alérgica. Además, cada paciente puede presentar una reactividad única, es decir, para un paciente concreto el criterio relevante es saber qué alérgenos del extracto reconoce y el nivel de IgE específica a los mismos.

Además de variaciones a nivel individual, el perfil de sensibilización de los pacientes polínicos puede variar de una forma más general de un área geográfica a otra. En esto pueden intervenir varios factores. Cuando los niveles de exposición en distintas áreas geográficas varían significativamente, es esperable que las prevalencias de los distintos alérgenos de una fuente alérgica sean a su vez diferentes, de forma que generalmente con niveles bajos y poco mantenidos de exposición, los alérgenos mayoritarios son los prevalentes de forma casi exclusiva. Así ocurre en regiones del norte de Europa en las que el perfil de

sensibilización de la población alérgica en bastante homogéneo. Pero cuando se produce una exposición a altas concentraciones de pólenes mantenidos en el tiempo, como ocurre en la zona mediterránea, adquiere importancia también la sensibilización a alérgenos menores (además de los mayores), siendo el perfil de sensibilización en estas poblaciones mucho más heterogéneo^{61, 62}.

Así, un alérgeno considerado como minoritario en el contexto global de la alergia a un determinado polen puede llegar a comportarse como mayoritario en un área geográfica concreta, como se ha visto, por ejemplo, con Art v 3 en la región de Murcia⁶³ o con Ole e 9 en la provincia de Jaén⁶⁴.

En resumen, el reconocimiento de un alérgeno menor estará así determinado por su capacidad de sensibilizar a pacientes atópicos y por su concentración ambiental, y su relevancia clínica estará ligada a pacientes concretos. Un alérgeno menor puede ser muy relevante desde el punto de vista clínico para los pacientes sensibilizados.

Sin embargo, como se ha explicado anteriormente, la presencia de estos alérgenos menores, no está cuantificada en los extractos que disponemos en la actualidad, por lo que su concentración en ellos puede ser muy variable lote a lote, al igual que su contribución a la potencia biológica global de cada extracto, lo que puede tener efectos indeseables como las variaciones de respuesta cutánea en el diagnóstico o posibles reacciones adversas en el tratamiento específico con inmunoterapia⁶⁵.

Esta falta de exactitud ha creado la necesidad de conocer de una manera más clara y precisa el perfil de sensibilización de nuestros pacientes. La aplicación de técnicas de biología molecular, como ya se ha visto, permite actualmente el empleo de alérgenos puros (naturales o recombinantes) a

nivel diagnóstico (no a nivel terapéutico). Sin embargo, debido fundamentalmente a su coste y a la falta de medios, en la práctica clínica diaria su empleo es dificultoso, no estando generalizado su uso como herramienta diagnóstica de la alergia respiratoria en la población general.

4.4. Limitaciones actuales en el diagnóstico con técnicas habituales

En la actualidad las técnicas diagnósticas habituales empleadas en el diagnóstico alergológico utilizan extractos completos, tanto para la realización de pruebas cutáneas como para la determinación de IgE específica por el método CAP.

Los extractos alergénicos completos pueden contener diversas proteínas alergénicas. Unas pueden ser alérgenos mayores, y otras, alérgenos menores. Esto puede dar lugar a confusiones en el diagnóstico.

Trataremos de ilustrar esta idea con las siguientes figuras.

Como puede observarse en la figura 2, un extracto de polen de *Phleum pratense* contiene diferentes componentes. Unos son alérgenos mayores y otros menores (que pueden ser panalérgenos). En la figura aparecen varios alérgenos mayores (por ejemplo Phl p 1 y Phl p 5) y dos componentes que son panalérgenos, Phl p 7 que es una polcalcina y Phl p 12 que es una profilina. En el polen de Abedul se muestran también varios componentes, Bet v 1 (alérgeno mayor), Bet v 2 (profilina) y Bet v 4 (polcalcina). Asimismo, en el polen de Artemisia se muestran varios componentes, Art v 1 (alérgeno mayor), Art v 4 (polcalcina) y Art v 5 (profilina).

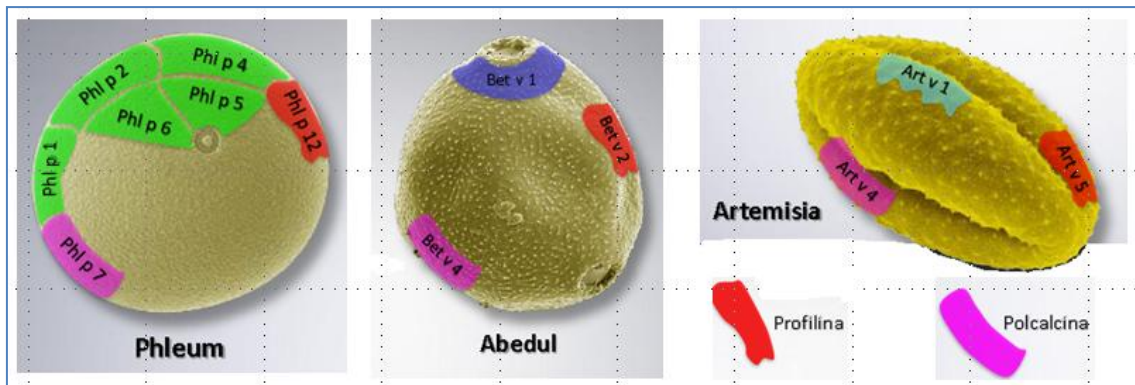


Figura 2: Distintos componentes alergénicos que pueden encontrarse en los extractos de pólenes completos que se utilizan en el diagnóstico alergológico habitual. En rojo, la profilina, y en fucsia, la polcalcina.

Vamos a suponer que realizamos a un paciente con clínica sugerente de alergia a pólenes unas pruebas cutáneas con extracto de pólenes de gramíneas (*Phleum pratense*), de *Abedul* y de *Artemisia vulgaris*.

En el caso del paciente de la figura 3, en la que aparece una positividad en la prueba cutánea con gramíneas y negatividad con *Abedul* y *Artemisia*, no hay duda de que se trata de una monosensibilización a gramíneas. El paciente está sensibilizado sólo a los alérgenos mayores de gramíneas (Phl p1 y Phl p5).

Pero ante una positividad de las pruebas cutáneas o de la determinación de Ig E específica por CAP a los tres extractos de pólenes, nos tendríamos que preguntar si la sensibilización es a los alérgenos mayores de los tres pólenes, y por tanto, el paciente está polisensibilizado, o por el contrario, la positividad de las pruebas se debe a la sensibilización a los panalérgenos, profilina o polcalcina, sin que necesariamente el paciente esté sensibilizado realmente a los alérgenos mayores de los pólenes. Cabe también la posibilidad de una sensibilización a alérgenos menores y a uno o varios alérgenos mayores.

Es decir, que ante un mismo hallazgo mediante pruebas cutáneas, podemos estar ante diagnósticos totalmente diferentes. Para diagnosticar al paciente tenemos que aclarar el posible papel de confusión diagnóstica atribuible a la sensibilización a los panalérgenos.



Figura 3: Paciente monosensibilizado a gramíneas.

En el caso de la figura 4, estamos ante un paciente con pruebas cutáneas positivas a gramíneas, Abedul y Artemisia. Por tanto, nos tendríamos que preguntar si está o no polisensibilizado. Realmente está sensibilizado a gramíneas y a los panalérgenos, pero no a Abedul y a Artemisia. La positividad de las pruebas cutáneas con los extractos de estos dos pólenes, no se debe a una sensibilización real a los alérgenos mayores de Abedul y Artemisia, sino a la sensibilización a profilina y polcalcina.

En el caso de la figura 5, en el que también encontramos pruebas cutáneas positivas a los tres pólenes estudiados, lo que sucede realmente, es que el

paciente es alérgico a los tres, además de que está sensibilizado a panalérgenos.

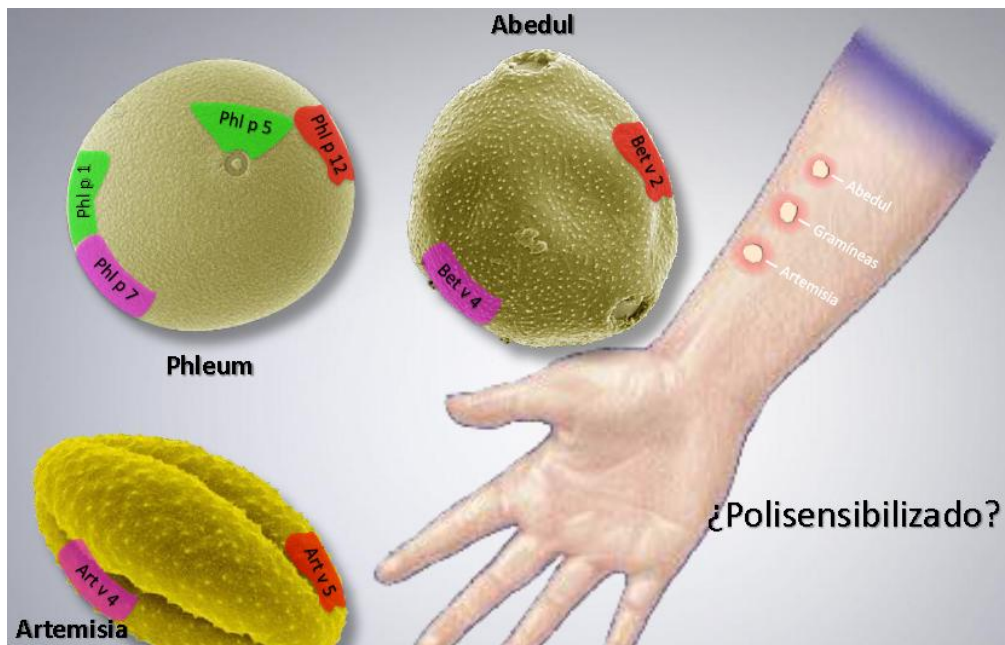


Figura 4: Paciente con pruebas cutáneas positivas a los tres pólenes, pero que no es alérgico ni a Abedul ni a Artemisia. Es alérgico a gramíneas y panalérgenos.

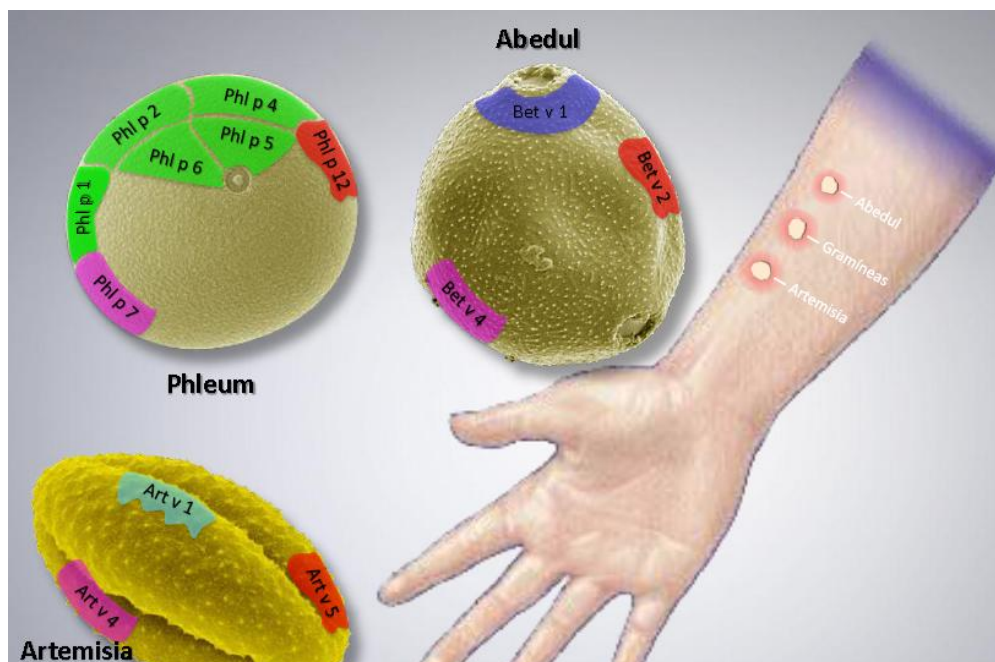


Figura 5: paciente con pruebas cutáneas positivas a los tres pólenes, que es alérgico a los tres, además de a los panalérgenos.

5. ALÉRGENOS DE PÓLENES

Existen cerca de 9000 familias de proteínas conocidas en la actualidad⁶⁶, de las que sólo 29 familias son alérgenos de pólenes⁶⁷. Su prevalencia es variable, suponiendo doce de ellas el 83% del total. Las más prevalentes son las familias de las expansinas (grupo 1 y 5 de gramíneas), profilinas y polcalcinas (Figura 6).

En general una familia de proteínas está formada por proteínas de similar estructura, con una homología (identidad en la secuencia de aminoácidos) variable. Si la homología es alta se mantienen epítomos comunes que son reconocidos por parte de moléculas IgE dirigidas inicialmente frente a otras moléculas distintas, dando lugar a fenómenos de reactividad cruzada entre alérgenos de diferentes pólenes⁶⁸. Empíricamente se ha observado que el grado de homología necesaria para que exista reactividad cruzada entre dos proteínas suele ser mayor del 65%, mientras que homologías por debajo del 35% difícilmente la producen, pudiendo existir con los valores intermedios reactividad cruzada parcial⁶⁹.

No todas las sensibilizaciones cruzadas detectadas *in vitro* se expresan a nivel clínico. Las diferencias estructurales hacen que la afinidad de esta IgE pueda variar entre las distintas moléculas y se cree que puede ser un factor fundamental en el paso del reconocimiento molecular a la implicación causal de la sintomatología alérgica.

Este fenómeno de reactividad cruzada refleja en la mayoría de los casos la taxonomía, es decir, suele ocurrir entre moléculas de pólenes de plantas de la misma familia o subfamilia botánica, lo que permite en muchos casos, cuando estas moléculas son sus alérgenos mayores, desde un punto de vista diagnóstico y terapéutico, utilizar como marcador de sensibilización a pólenes de una misma familia a uno solo de ellos con bastante fiabilidad⁷⁰,

como ocurren en el caso de la familia de las Oleáceas⁷¹, de la subfamilia Poioideae de Gramíneas⁷², de las Cupresáceas^{73, 74}, o de las Betuláceas⁷⁵.

Sin embargo, existen observaciones contradictorias de reactividad cruzada no esperada entre plantas no relacionadas y con marcada distancia filogenética. Esto se debe a las llamadas familias de panalérgenos.

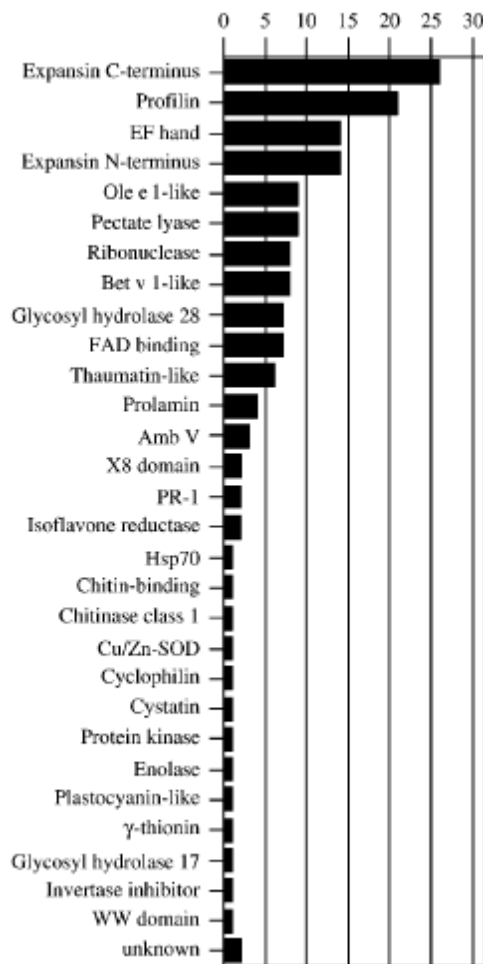


Figura 6. Distribución de las familias de proteínas alergénicas de los pólenes. Tomado de Radauer C., Breiteneder H. Pollens allergens are restricted to few protein families and show distinct patterns of species distribution. *J Allergy Clin Immunol.* 2006 Jan; 117:141-147

6. PANALÉRGENOS

Son generalmente moléculas con una función esencial y cuya estructura se ha mantenido, al menos parcialmente, a lo largo de la evolución, lo que hace que tengan una elevada homología entre diferentes especies, dando lugar a fenómenos de reactividad cruzada que, dentro del reino vegetal, se puede dar tanto entre pólenes de diferentes familias biológicas, como con partes diversas de las plantas, como por ejemplo con los frutos.⁷⁶

Existen varias moléculas que se pueden considerar como panalérgenos implicados en fenómenos de reactividad cruzada entre pólenes, alimentos y el látex, y que en términos muy generales se pueden encuadrar en:

- Proteínas relacionadas con la patogénesis o proteínas de defensa vegetal: son un grupo de proteínas que se expresan fundamentalmente en respuesta a situaciones adversas para la planta como infecciones por patógenos, productos químicos, estrés, etc., y que poseen unas características (estabilidad a pH bajo, resistencia a cambios de temperatura y a proteasas) que les permiten desempeñar su función biológica de defensa en estas condiciones adversas. En la Tabla 2 se enumeran las más importantes junto a algunos de sus componentes en las diferentes especies.⁷⁷
- Determinantes de carbohidratos (CCDs): muchas proteínas de los extractos alergénicos están glicosiladas y existen pacientes alérgicos con capacidad de unir IgE frente a estas estructuras, que actuarían como epítomos⁷⁸, dando lugar a fenómenos de reactividad cruzada entre diferentes especies vegetales⁷⁹. Sin embargo, la sensibilización a estos determinantes no parece tener relevancia clínica.⁸⁰

Familia	Masa mol (kDa)	Clasificación
PR-1	15-17	Desconocida
PR-2	25-35	Antifúngica/ β -1,3-glucanasas, clase I, II, III
PR-3	25-35	Antifúngica/quitinasas, clase I, II, IV
PR-4	13-19	Antifúngica/quitinasas, clase I, II
PR-5	22-24	Proteína tipo taumatina
PR-6	6	Inhibidores
PR-7	69	Endoproteasas
PR-8	28	Quitinasas/lisozima, clase III
PR-9	39-40	Peroxidasas
PR-10	17-18	Proteínas homólogas a Bet v 1
PR-11	41-43	Quitinasas, clase I
PR-12	5	Defensinas
PR-13	14	Tioninas
PR-14	7-12	Proteínas de transferencia de lípidos

Tabla 2: Proteínas relacionadas con la patogénesis

- Proteínas reguladoras como las profilinas y las polcalcinas, de las que nos vamos a ocupar a continuación extensamente, dado su

potencial importancia en la alergia a pólenes. Además de estas dos familias de proteínas, nos fijaremos también en las Proteínas de Transferencia de Lípidos (LTP).

6.1. Profilinas

Es una superfamilia de proteínas citosólicas presentes en todas las células eucarióticas, que poseen un peso molecular entre 12 y 15 kDa, y cuyo papel principal consiste en la regulación de la polimerización de la actina mediante la formación de complejos con ésta, participando de este modo en la forma y los movimientos celulares⁸¹. En la Figura 7 se puede ver su estructura.

Son proteínas muy conservadas a lo largo de la evolución y presentes en prácticamente todos los organismos biológicos. De hecho, existe cierta homología, aunque baja, entre profilinas vegetales y humanas⁸².

Dentro del reino vegetal, además de en los pólenes, las profilinas muestran una elevada presencia en tejidos de almacenamiento, y por tanto, en los alimentos vegetales, y también en el látex.

Algunas de las profilinas identificadas son:

- En pólenes:
 - Árboles: abedul (Bet v 2), olivo (Ole e 2), avellano (Cor a 2), palmera datilera (Pho d 2), ciprés (Cup s 8), plátano de sombra (Pla a 8),...
 - Malezas: Artemisia (Art v 4), Parietaria (Par j 3), Chenopodium (Che a 2), Salsola (Sal k 8), Mercurialis (Mer a 1),...

- Gramíneas: Phleum (Phl p 12), Cynodon (Cyn d 12), Lolium (Lol p 12), ...
- En alimentos: manzana (Mal d 4), melocotón (Pru p 4); melón (Cuc m 2); sandía (Cit la 2), plátano (Mus xp 1), apio (Api g 4), zanahoria (Dau c 4); avellana (Cor a 2), cacahuete (Ara h 5), cereza (Pru av 4), pera (Pyr c 4); piña (Ana c 1); tomate (Lyc e 1), soja (Gly m 3); pimiento (Cap a 2),...
- En látex: Hev b 8

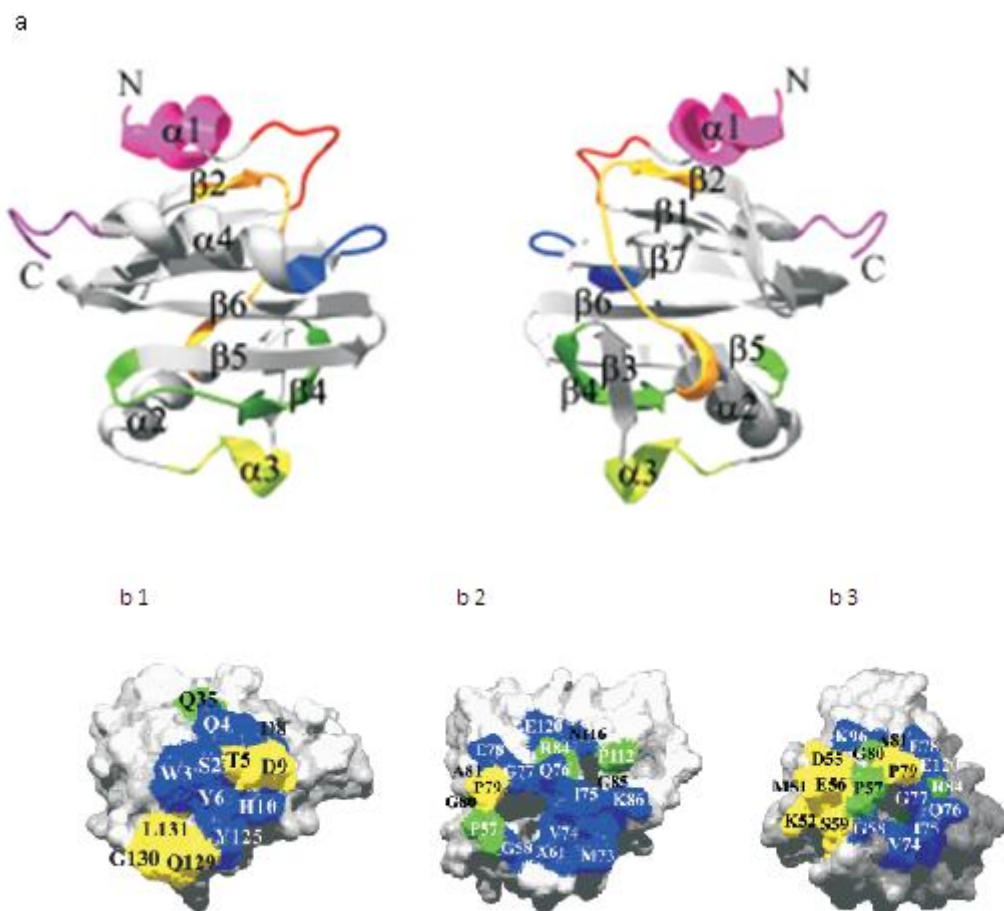


Figura 7: Estructura de las profilinas vegetales. a) Estructura secundaria de Hev b 8. b) Epítomos conformacionales 1 (b1), 7 (b2) y 8 (b3). Tomada de C. Radauer, M. Willeroider, H. Fuchs, K. Hoffmann-Sommergruber, J. Thalhamer, F. Ferreira, O. Scheiner and H. Breiteneder. Cross-reactive and species-specific immunoglobulin E epitopes of plantprofilins: an experimental and structure-based analysis. Clin Exp Allergy, 36, 920-929

Entre las diferentes especies vegetales existe una alta homología (Figuras 8 y 9), lo que da lugar con bastante frecuencia a fenómenos de reactividad cruzada. En estudios recientes parece que la sensibilización a profilinas se asocia a fenómenos de polisensibilización cutánea³⁸. Aunque la existencia de epítomos específicos de especies hacen que entre algunas de ellas la sensibilización pudiera ser sólo parcial⁸³, en general, desde el punto de vista diagnóstico práctico se podría usar una de ellas para detectar la sensibilización a esta familia de moléculas⁸⁴.

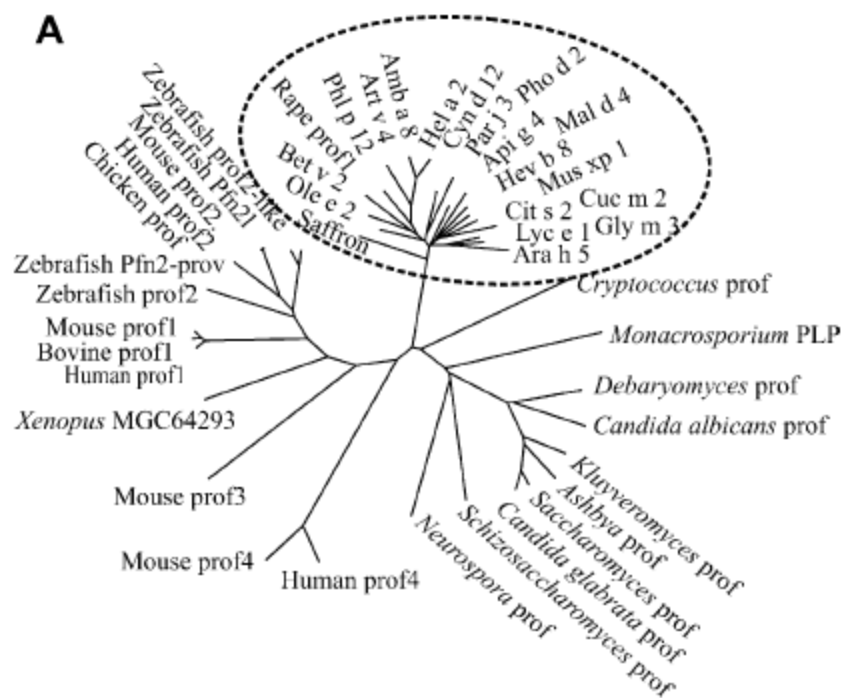


Figura 8: Profilinas vegetales y proteínas no alergénicas con una significativa similitud en su secuencia. El tamaño de los brazos es proporcional a la divergencia de las secuencias. Tomada de Radauer C., Breiteneder H. Pollen allergens are restricted to few protein families and show distinct patterns of species distribution. J Allergy Clin Immunol. 2006 Jan; 1:141-147

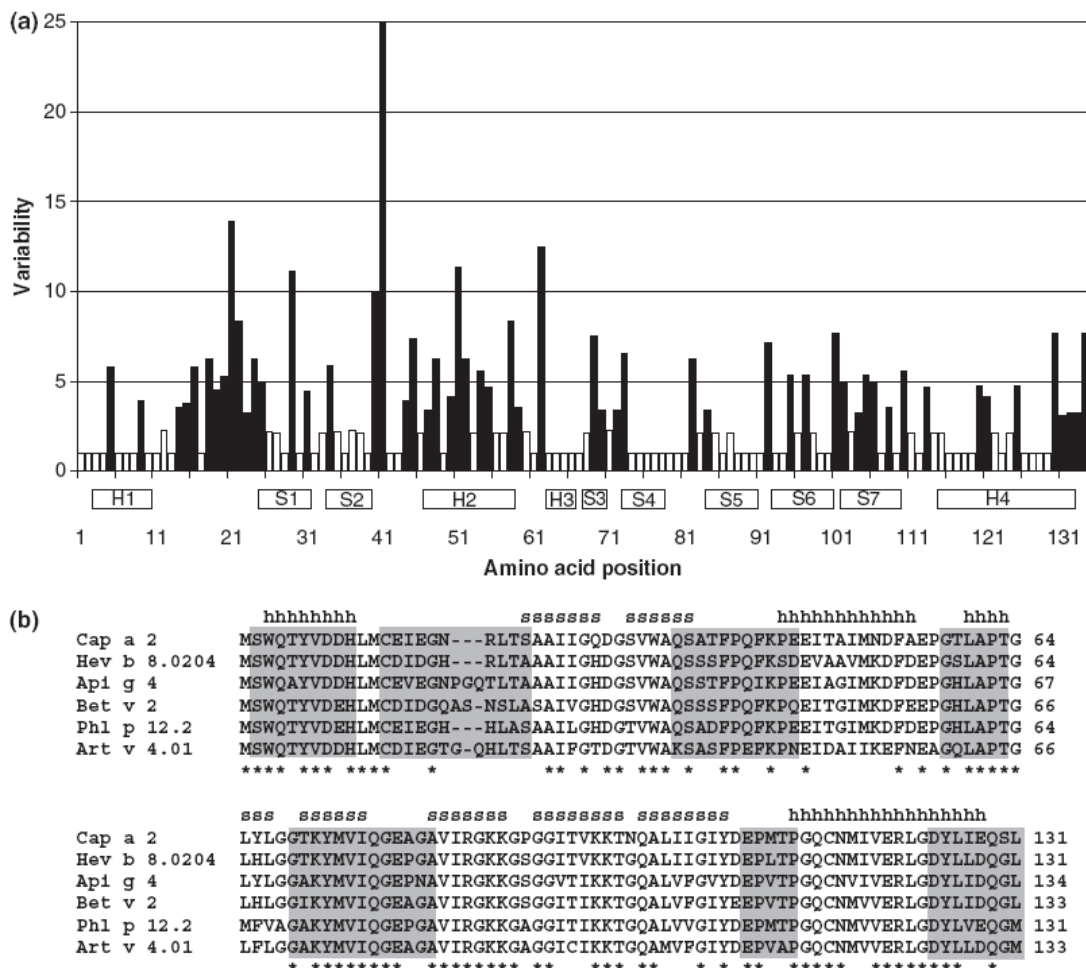


Figura 9: Comparación de diferentes secuencias de profilinas. (a) Variabilidad entre 25 secuencias de profilinas vegetales. Barras blancas: residuos conservados. Barras negras: residuos variables. (b) Comparación de las secuencias de 6 profilinas vegetales. Imagen tomada de C. Radauer, M. Willerroider, H. Fuchs, K. Hoffmann-Sommergruber, J. Thalhamer, F. Ferreira, O. Scheiner and H. Breiteneder. Cross-reactive and species-specific immunoglobulin E epitopes of plantprofilins: an experimental and structure-based analysis. Clin Exp Allergy, 36, 920-929

Como se ha comentado anteriormente, la profilina también se encuentra en múltiples alimentos de origen vegetal, con marcada reactividad cruzada entre ellos y con los pólenes. Al ser termolábil y poco resistente a la digestión gástrica, los síntomas que suelen presentar los pacientes con alergia alimentaria asociada a la sensibilización a profilinas suelen estar localizados en el área orofaríngea (síndrome de alergia oral) o incluso no

tener síntomas⁸⁵, aunque de forma anecdótica se ha descrito la aparición de anafilaxia⁸⁶.

El espectro de prevalencia de sensibilización a profilinas en pacientes polínicos es muy amplio, y va a depender de la población seleccionada y del área geográfica donde se realice el estudio⁸⁷, existiendo variaciones no sólo entre países del norte, centro o sur de Europa, sino incluso en zonas muy cercanas geográficamente, como en la mitad sur de la Península Ibérica, donde la prevalencia varía de una provincia a otra desde un 8% a un 43%⁸⁸.

6.2. Polcalcinas

Las proteínas ligadoras de calcio o polcalcinas constituyen otra superfamilia de proteínas y presentan una conformación, y por tanto, una capacidad antigénica diferente en presencia o en ausencia de Ca^2 . Se clasifican en 32 subfamilias distintas que pueden tener de 2 a 6 dominios de unión al Ca^2 (EF-hand). Los dominios de unión al Ca^2 son una porción altamente conservada consistente en una hélice α , un lazo rodeando los inones Ca^2 , y una segunda hélice α (Figura 10). Otras proteínas alergénicas como las parvalbúminas pertenecen también a esta superfamilia.

Están presentes tanto en el reino animal como en el vegetal, y la existencia de proteínas humanas homólogas sugiere que podría desencadenar enfermedades autoinmunes con IgE específica dirigida contra las mismas y explicar cuadros clínicos como dermatitis atópicas severas⁸⁹.

En el reino vegetal las polcalcinas sólo se encuentran en pólenes, y no en otros tejidos como los frutos, por lo que no tienen relevancia en la alergia a alimentos⁹⁰.

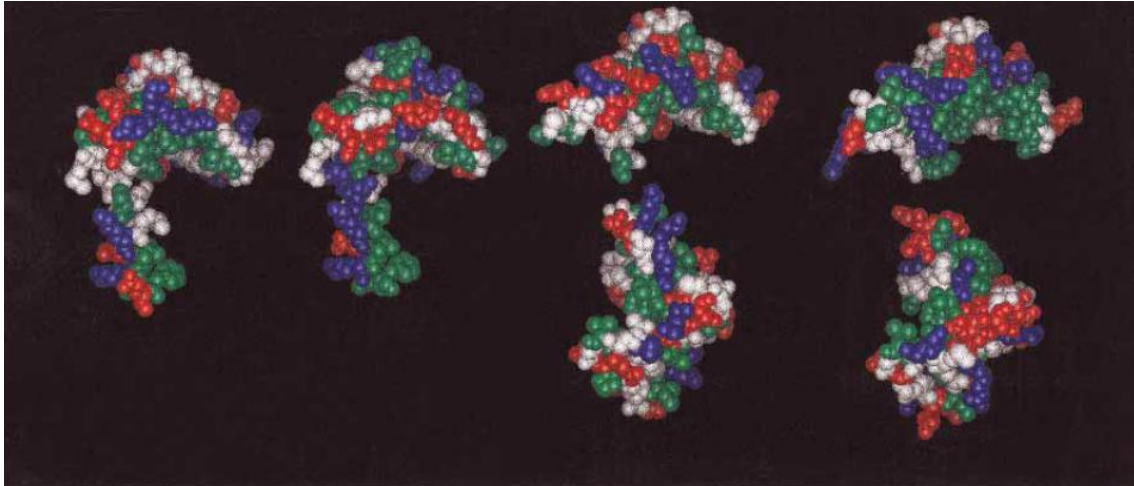


Figura 10: Estructura de 4 alérgenos con 2 dominios ligadores de calcio. Tomado de Raffaella Tinghino, BD, Anna Twardosz, MD, Bianca Barletta, BD, Eleonora M. R. Puggioni, BD, Patrizia Iacovacci, BD, Cinzia Butteroni, BD, Claudia Afferni, BD, Adriano Mari, MD, Brigitte Hayek, MD, Gabriella Di Felice, BD, Margarete Focke, PhD, Kerstin Westritschnig, MD, Rudolf Valenta, MD, and Carlo Pini, BD. Molecular, structural, and immunologic relationships between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2002, 314-32

En función de los dominios de unión al ión Ca^{2+} , las polcalcinas de los pólenes se clasifican en tres grupos con 2, 3 y 4 dominios (EF-hand). Las de dos dominios son las que se encuentran en una mayor variedad de pólenes y tienen un peso aproximado de 9 a 10 KDa. A continuación nombramos algunos de los pólenes que los contienen⁹¹:

- 2 EF-hand (9 KDa): olivo (Ole e 3), gramíneas (Phl p 7, Cyn d 7), Chenopodium (Che a 3), etc.
- 3 EF-hand: abedul (Bet v 3)
- 4 EF-hand: olivo (Ole e 8), Juniperus (Jun o 2).

Presentan una alta homología entre especies dando lugar a frecuente reactividad cruzada entre ellas (figuras 11 y 12). El hecho de que determinados alérgenos de la familia, como Phl p 7, presenten un mayor número de dominios de reconocimiento de la IgE, los hacen más apropiados como marcadores para identificar desde el punto de vista diagnóstico práctico a este grupo de moléculas⁹¹. Estudios previos sugieren que la sensibilización primaria a este alérgeno se produce a través de los pólenes más prevalentes en la zona⁹², pudiendo actuar éstos como sensibilizantes primarios a dicha molécula.

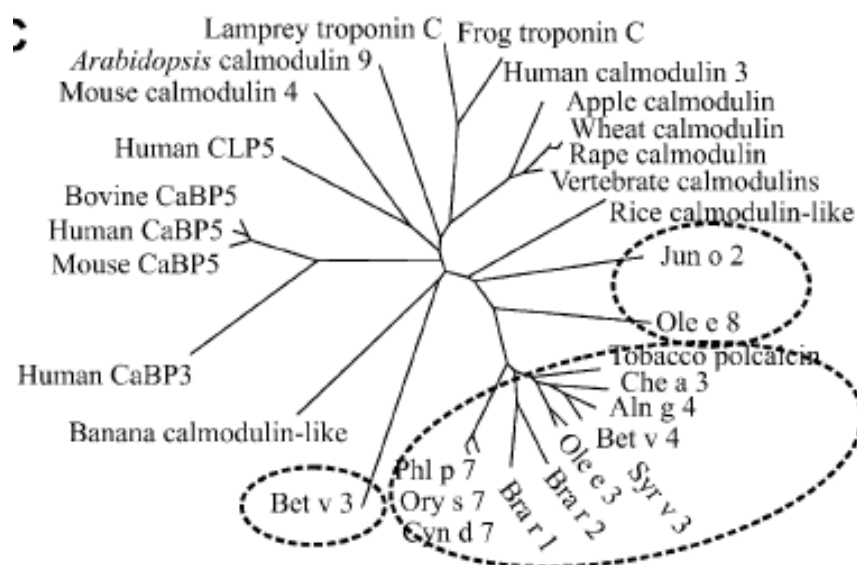


Figura 11: Polcalcinas de pólenes y proteínas no alérgicas con una significativa similitud con ellas en su secuencia. El tamaño de los brazos es proporcional a la divergencia de las secuencias. Tomada de Radauer C., Breiteneder H. Pollen allergens are restricted to few protein families and show distinct patterns of species distribution. *J Allergy Clin Immunol.* 2006 Jan; 1:141-147

A pesar de que la prevalencia de reconocimiento suele ser baja (10% de la población alérgica a gramíneas)⁹³, en los individuos sensibilizados parece ser un alérgeno clínicamente relevante⁹⁴. Se podría pues interpretar la

sensibilización a estas proteínas como un factor de riesgo adicional para el paciente o un factor de severidad en la sensibilización.

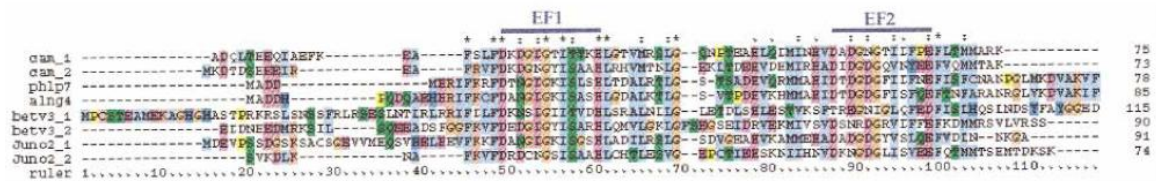


Figura 12: Comparación de diferentes secuencias de polcalcinas con dos dominios ligadores de calcio (Phl p 7, Aln g 4, Bet v 3, Jun o 4). Tomado de Raffaella Tinghino, BD, Anna Twardosz, MD, Bianca Barletta, BD, Eleonora M. R. Puggioni, BD, Patrizia Iacovacci, BD, Cinzia Butteroni, BD, Claudia Afferni, BD, Adriano Mari, MD, Brigitte Hayek, MD, Gabriella Di Felice, BD, Margarete Focke, PhD, Kerstin Westritschnig, MD, Rudolf Valenta, MD, and Carlo Pini, BD. Molecular, structural, and immunologic relationships between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2002, 314-320

6.3. Proteínas de transferencia de lípidos

Las proteínas de transferencia de lípidos (LTP) son una familia de proteínas pertenecientes a la superfamilia de Prolaminas. Son proteínas monoméricas con un tamaño molecular aproximado de 9 kDa que están unidas por cuatro puentes disulfuro para formar un túnel hidrofóbico⁹⁵. Su función sigue sin estar del todo esclarecida, aunque la evidencia más sólida apunta hacia una implicación de los mecanismos de defensa de las plantas frente a patógenos⁹⁶, y está incluida en el grupo PR-14 dentro de las familias de proteínas relacionadas con la patogénesis (PR)⁹⁷. Con una amplia presencia en el reino vegetal, se acumulan principalmente en la epidermis de distintos órganos, lo que explica, en el caso de frutos como el melocotón, el mayor potencial alergénico de la piel con respecto a la pulpa⁹⁸.

Sus características estructurales, fundamentalmente sus cuatro puentes disulfuro, le confieren una gran estabilidad, siendo resistente a la proteólisis, a cambios bruscos en el pH y a altas temperaturas⁹⁹. Esto permite, por un lado, su presencia en alimentos y bebidas procesados conservando su estructura original, y por otro, contactar con el sistema inmune asociado al epitelio gastrointestinal con una conformación inmunógena y alergénica activa, pudiendo provocar tanto una sensibilización primaria como síntomas sistémicos por vía digestiva¹⁰⁰.

La sensibilización a esta familia de proteínas ha demostrado una gran importancia como alérgeno en países del área mediterránea como España e Italia, y no así tanto en países del centro y norte de Europa¹⁰¹, sobre todo, la alergia a frutas del grupo rosáceas, donde Pru p 3, la LTP del melocotón, es el alérgeno más relevante en la alergia a este grupo de frutas en la población española¹⁰².

Aunque su presencia es más conocida y estudiada en las frutas del grupo de las rosáceas, está ampliamente distribuida en el reino vegetal, encontrándose en múltiples alimentos como en otras frutas¹⁰³, frutos secos¹⁰⁴, verduras¹⁰⁵ o en productos derivados de las semillas de los cereales¹⁰⁶, además de en otras partes de las plantas como los pólenes de Artemisia, Olea y Parietaria, entre otros.^{104,107,108}

A continuación exponemos algunos de los vegetales que las contienen:

- Alimentos: melocotón (Pru p 3), albaricoque (Pru ar 3), avellana (Cor a 8), castaña (Cas s 8), cereza (Pru av 3), manzana (Mal d 3), soja (Gly m 1), uva (Vit v 1), etc.
- Pólenes: Artemisia (Art v 3), olivo (Ole e 7), Parietaria (Par j 1), ambrosía (Amb a 6), etc.

- Látex (Heb b 12)

Pru p 3 es el alérgeno de esta familia mejor estudiado, tanto a nivel estructural como su capacidad alérgica (Figura 13)¹⁰⁹, y se ha expresado su forma recombinante con una actividad inmunológica equivalente al alérgeno original¹¹⁰. Su secuencia ha sido comparada con otros alérgenos de la familia, mostrando una homología de secuencia variable, elevada con otros miembros de la familia de las Rosáceas, pero menos clara con otras LTPs (Figura 14).

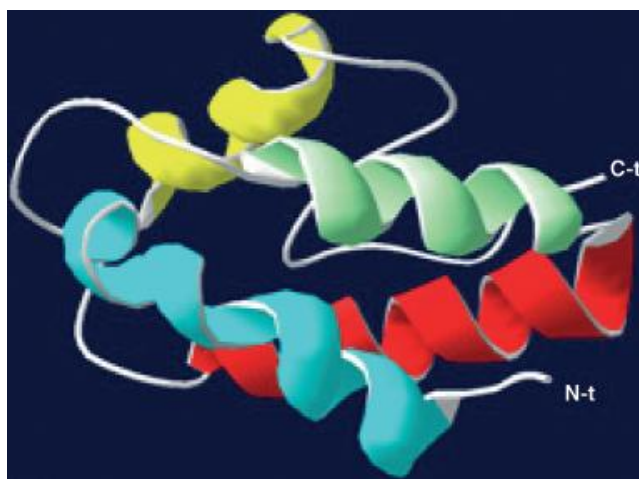


Figura 13: Estructura tridimensional de Pru p 3. Las cuatro hélices α se muestran en diferentes colores. Tomada de G. Salcedo, R. Sánchez-Monge, A. Díaz-Perales, G. García-Casado and D. Barber. Plant non-specific lipid transfer proteins as food and pollen allergens. Clin Exp Allergy 2004; 34:1336–41

Con respecto a los pólenes se ha observado una homología del 40-50% entre Pru p 3 y Art v 3, la LTP de la Artemisia¹⁰⁴, dando lugar a una reactividad cruzada parcial entre ambos. No parece ocurrir lo mismo con Parietaria, con la que comparte menor identidad de secuencia¹¹¹, ni con olivo¹⁰⁸.

Foods	10	20	30	40	50	60	70	80	90	%id.		
Pru p 3	-ITCGG-	VSSALAPCI	IPVRRGGCAV	PA--CCNG	IRNVNINLAR	TDRQAACNCL	QLSASVPGV	PNNAAALPGK	CGVSIPTKI	SPSTNGCAT	VK --	
Mal d 3	-ITCGG-	VSSSLAPCI	IGVRRSGCAV	PA--CCNG	IRNTINGLAR	TADRQTACNCL	NLAGSISGV	PNNAAALPGK	CGVNVIPKI	SPSTNGCAT	VK 80	
Pru ar 3	-ITCGG-	VSSSLAPCI	IGVRRGGCAV	PA--CCNG	IRNVNINLAR	TDRQAACNCL	QLSGSISGV	PNNAAALPGK	CGVNVIPKI	SPSTNGCAT	VK 91	
Pru av 3	-LTCGG-	VSSNLAPCI	IAVRRGGCAV	PA--CCNG	IRNININLAR	TADRQTACNCL	QLSASVPGV	ANNAAALPGK	CGVNVIPKI	SPSTNGCAT	VK 88	
Pru d 3	-ITCGG-	VSSNLAPCI	IPVRRGGCAV	PA--CCNG	IRNVNINLAR	TDRQAACNCL	QLSASVPGV	PNNAAALPGK	CGVNVIPKI	SPSTNGCAT	VK 95	
Vit v 1	TVTCGG-	VASALSPCI	ISM LQKGC	AVLQAG--CCSG	IKSLNSAK	KTGDRQAACK	CLLTFSSSVSGI	YGLASCLPGK	CGVSVIPKI	SPSTDCSKVT	61	
Cor a 8	SLTCGG-	IKGNLTP	CVLMLKNG	CVLTPS--CCRG	VRAVNDASR	TSDRQSAACNCL	DTAKGIAGL	PNNAAALPGK	CGVNVIPKI	SPSTDCSKVT	59	
Zea m 14	ALTCGG-	VASAIAPCI	ISVARGGCSG	SAG--CCSG	VRSLNINAR	TADRQAACNCL	NAAAGVSGL	AGNAAALPGK	CGVSVIPKI	SPSTDCSKVT	63	
Hor v LTP1	-LNTCG-	VDSKMKP	CLTVVGGPPG	PSGE--CCNG	VRDLHNA	QSSQDQTV	CNCLGIARGIHNL	LNNAAALPGK	CGVNVIPKI	SPSTDCSKVT	44	
Dau c LTP	-LTCGG-	VTGALAPCI	LGMLRSQNV	VPLTCCNV	VVRGLNNAAR	TKDRQAACK	CLLQANAVTGL	LNNAAALPGK	CGVNVIPKI	SPSTDCSKVT	55	
Cas s 8	SLTCGG-	VSKSLMPC	LTMLKSNCGS	PPPGTCCQ	VKLV*						46	
Asp o 1.01	-ITCCA-	DSKIG-	EGVSMGK	PL*							43	
Asp o 1.02	-ITCGG-	VSMIS-	PGVNLARG*								50	
Lac s 1	ALTCGG-	VTANLA*									64	
Latex												
Hev b 12	-ITCGG-	VQSALVPC	LSMLKTT	PTPAT--CCNG	VRTINNAAK	TADRQAACK	CLLQANAVTGL	LNNAAALPGK	CGVNVIPKI	SPSTNGCAT	VK 65	
Pollens												
Par j 1	QEITCC-	MVRALMPC	LPFVQKEKE	ESKG--CCS	AKRLDGETK	GPQVHACE	IQTAMKTYSD	IDGKLVSEV	PKH--CG	IVDSKLPPI	DMCKT 28	
Par j 2	EEACCK-	VQDIMP	CLHFVKGEEKE	SKE--CCS	TKLSEEVK	TEOKREACK	IVRATKGIS	IGNELVSEV	PKH--CG	IKTTLPPIT	ADFDCKI 27	
Ara t LTP	ALSCGS-	VNSNLAA	CIQVLOGCVI	PA--CCS	VKNLNSIAK	TDRQAACK	CNCIQGAARAL	GSLNAGRA	AGIPKAC	CGVNVIPKI	SPSTNGCAT	VR 53
Art v 3	ALTCSD-	VSNKISPC	LSMLKQGC	EVLEAD--CCAG	VKGLND*						40	
Ole e 7	APSQST-	VTALLTS	VSIIDDQ*								19	

Figura 14: Comparación entre diferentes LTPs de alimentos, pólenes y látex. Los porcentajes de identidad de frecuencia respecto a Pru p 3 se encuentran a la derecha de la figura. Tomada de G. Salcedo, R. Sánchez-Monge, A. Díaz-Perales, G. García-Casado and D. Barber. Plant non-specific lipid transfer proteins as food and pollen allergens. Clin Exp Allergy 2004; 34:1336–41

Esta variabilidad en la homología entre especies, junto a otros factores como diferentes hábitos alimentarios, diferencias genéticas o la diferente exposición a pólenes relacionados, podría explicar, al menos parcialmente, los diferentes perfiles de sensibilización a esta familia de proteínas y las diferencias geográficas de los mismos.

Aunque estos panalérgenos (profilinas, polcalcinas y LTPs) son considerados en general como alérgenos minoritarios, ya hemos visto que el perfil de sensibilización de los pacientes polínicos va a variar de una zona a otra. A medida que aumenta el número de alérgenos reconocidos en un polen, se incrementa la posibilidad de sensibilización a panalérgenos y la aparición de fenómenos de reactividad cruzada entre diferentes especies de pólenes y también alimentos vegetales. El conocimiento de los patrones de reactividad cruzada entre pólenes parece ser crucial para el diagnóstico y para la formulación de un tratamiento específico apropiado.

7. POLINOSIS EN EL ÁREA SANITARIA DE TOLEDO

Los estudios de prevalencia de alergia a pólenes en el Área Sanitaria de Toledo son escasos, y han sido realizados por los miembros del Comité de Aerobiología de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) desde hace pocos años. Esto impide tener datos para analizar la evolución de la sensibilización a pólenes en este área a lo largo de los años.

En 1998 se publicó un estudio multicéntrico coordinado por el Dr. Subiza, donde se recogió la prevalencia de polinosis en 12 provincias españolas, entre ellas Toledo¹¹². En este estudio se reflejan tanto los recuentos de pólenes como la prevalencia de sensibilización a los mismos mediante la realización de pruebas cutáneas. Los pólenes analizados son los que clásicamente se consideraban importantes en la práctica alergológica del momento. Los datos de este estudio se analizan con más detalle en lo que a los datos de Toledo se refieren en un artículo original publicado en la misma revista¹¹³. La recogida de pólenes se llevó a cabo según la técnica descrita previamente para captadores volumétricos^{114,115}. Se utilizó un captador volumétrico (Burkard Manufacturing Co., Rickmansworth, Herst., Reino Unido), para la recolección de los pólenes en el período comprendido entre el 1 de enero de 1995 y el 31 de diciembre de 1996. El captador se instaló en la azotea del Hospital Virgen del Valle de Toledo (39°50'30" N; 4°1'30" O, 680 metros sobre el nivel del mar), a una altura aproximada de 20 metros, en una zona exenta de turbulencias, cercano a encinas y olivos. El polen más abundante encontrado en los recuentos fue *Quercus rotundifolia* (20,1%), seguido por *Cupressaceae* (18,71%), *Poaceae* (13,82%), *Olea europaea* (11,67%), *Chenopodiaceae-Amaranthaceae* (5,64%), *Urticaceae* (4,97%), *Pinaceae* (4,22%), *Compositae* (3,52%), *Plantago spp.* (3,29%) y *Rumex spp.* (3,14%). En los

meses de invierno aparecen: *Cupressaceae*, *Alnus spp.*, *Fraxinus spp.*, *Ulmus spp.* y *Populus spp.* En los meses de primavera aparecen: *Urticaceae*, *Platanus hybrida*, *Morus spp.*, *Quercus rotundifolia*, *Pistacia terebinthus*, *Robinia pseudoacacia*, *Olea europaea*, *Pinus spp.*, *Poaceae*, *Plantago spp.* y *Rumex spp.* En los meses de verano-otoño aparecen: *Urticaceae*, *Carex spp.*, *Chenopodiaceae-Amaranthaceae*, *Artemisia spp.* y *Eucaliptus spp.* (Tabla 3).

Familia	Género y especie	Porcentaje
FAGACEAE		20.21
	- <i>Quercus rotundifolia</i>	(20.1)
	- <i>Castanea sativa</i>	(0.11)
POACEAE		13.82
	- Gramíneas pequeñas (< 30 µm)	(9.83)
	- Gramíneas medianas (30-45 µm)	(3.61)
	- Gramíneas grandes (> 45 µm)	(0.38)
CUPRESSACEAE		18.71
OLEACEAE		12.69
	- <i>Olea europaea</i>	(11.67)
	- <i>Fraxinus angustifolia</i>	(1.02)
CHENOPODIACEAE-AMARANTHACEAE		5.64
URTICACEAE		4.97
PINACEAE		4.22
COMPOSITAE		3.52
	- <i>Artemisia spp.</i>	(1.95)
	- <i>Asteraceae</i>	(1.57)
PLANTAGINACEAE	- <i>Plantago spp.</i>	3.29
POLYGONACEAE	- <i>Rumex spp.</i>	3.14
SALICACEAE	- <i>Populus spp.</i>	1.74
FABACEAE	- <i>Robinia pseudoacacia</i>	1.69
PLATANACEAE	- <i>Platanus hybrida</i>	1.22
BETULACEAE		1.09
	- <i>Alnus spp.</i>	(0.76)
	- <i>Corylus spp.</i>	(0.23)
CYPERACEAE	- <i>Carex spp.</i>	0.99
ULMACEAE	- <i>Ulmus spp.</i>	0.67
MYRTACEAE	- <i>Eucaliptus spp.</i>	0.61
ERICACEAE	- <i>Erica spp.</i>	0.61
PISTACEAE	- <i>Pistacia terebinthus</i>	0.52
MORACEAE	- <i>Morus spp.</i>	0.49
NO IDENTIFICADO		0.35

Los números entre paréntesis indican género y especie, y sin paréntesis familia.

Tabla 3: Frecuencia relativa de taxones de pólenes atmosféricos encontrados en Toledo desde el 1 de enero de 1995 hasta el 31 de diciembre de 1996¹¹².

Se evaluó, asimismo, el porcentaje de pruebas cutáneas positivas a diferentes pólenes en 216 pacientes polínicos de ambos sexos que habían acudido a la consulta, con edades comprendidas entre 5 y 56 años y que residieran en la provincia de Toledo de forma habitual. Los pólenes alergénicos más relevantes fueron *Chenopodiaceae*, con una prevalencia de pruebas cutáneas positivas de 90,74%, seguido por *Poaceae* (89,81%), *Oleaceae* (82,87%), *Plantaginaceae* (78,24%), *Fagaceae* (57,87%), *Salicaceae* (55,09%), *Ulmaceae* (53,24%), *Platanaceae* (52,31%), *Betulaceae* (50,46%) y *Urticaceae* (49,54%). Estos datos se exponen en la tabla 4.

FAMILIA	ESPECIE	PORCENTAJE	NOMBRE COMÚN
CHENOPODIACEAE		90.74	
	– <i>Chenopodium album</i>	(92.21)	Cenizo
	– <i>Salsola kali</i>	(68.83)	Salsola
POACEAE		89.81	
	– <i>Phleum pratense</i>	(83.77)	Fleo
	– <i>Cynodon dactylon</i>	(75.32)	Gramma
	– <i>Phragmites communis</i>	(79.92)	Carrizo
	– <i>Trisetum paniceum</i>	(83.12)	Avena amarilla
OLEACEAE		82.87	
	– <i>Olea europea</i>	(77.27)	Olivo
	– <i>Fraxinus angustifolia</i>	(77.92)	Fresno
PLANTAGINACEAE	– <i>Plantago lanceolata</i>	78.24	Llantén
FAGACEAE		57.87	
	– <i>Quercus rotundifolia</i>	(59.09)	Encina
	– <i>Castanea sativa</i>	(18.18)	Castaño
SALICACEAE	– <i>Populus nigra</i>	55.09	Alamo
ULMACEAE	– <i>Ulmus glabra</i>	53.24	Olmo
PLATANACEAE	– <i>Platanus hybrida</i>	52.31	Plátano de sombra
BETULACEAE		50.46	
	– <i>Alnus glutinosa</i>	(16.23)	Aliso
	– <i>Betula verrucosa</i>	(48.05)	Abedul
	– <i>Corylus avellano</i>	(35.71)	Avellano
URTICACEAE	– <i>Urtica dioica</i>	49.54	Ortiga
	– <i>Parietaria judaica</i>	10.71	Parietaria
COMPOSITAE	– <i>Artemisia vulgaris</i>	38.31	Artemisia
POLYGONACEAE	– <i>Rumex acetosella</i>	30.52	Acedera
CUPRESSACEAE	– <i>Cupressus arizonica</i>	20.63	Arizónica
MORACEAE	– <i>Morus alba</i>	18.18	Morera
PISTACEAE	– <i>Pistacia lentiscus</i>	14.93	Cornicabra
PINACEAE	– <i>Pinus nigra</i>	6.48	Pino

Los números entre paréntesis indican especie, y sin paréntesis, familia.

Tabla 4: Frecuencia porcentual en pruebas cutáneas positivas a pólenes en 216 pacientes en la provincia de Toledo¹¹².

Finalmente, los autores concluyen que la población de Toledo está expuesta a altas concentraciones de pólenes desde febrero hasta noviembre, aunque

el período más intenso es el de abril a junio. Los pólenes de *Chenopodiáceae*, *Poaceae* y *Oleaceae* son las principales causas de polinosis en Toledo.

En 2003, y también realizado por el Comité de Aerobiología de la SEAIC, se llevó a cabo un nuevo estudio multicéntrico llamado Polinosis 2003¹¹⁶. Se incluyeron 1536 pacientes con polinosis de 13 provincias españolas, Toledo entre ellas. Se incluyeron en el estudio pólenes de Gramíneas, Olivo, Artemisia, Ciprés, Parietaria, Plantago, Platanus, Salsola y *Chenopodium*.

En cuanto a las Gramíneas, se exponen en la figura 15, los datos del Comité de Aerobiología de la SEAIC.

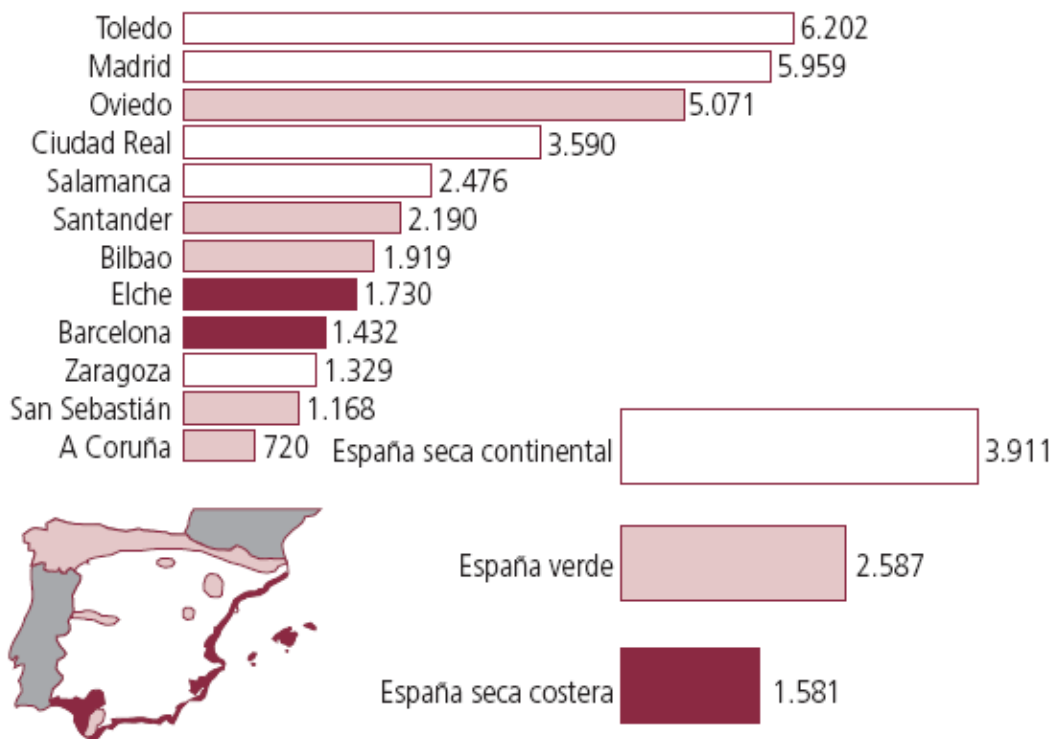


Figura 15: Recuentos de gramíneas totales anuales (suma de las medias diarias) en varias ciudades, 3 áreas climáticas (media de 5 años), 1998-2005, expresadas en granos/m³ de aire. Datos del Comité de Aerobiología de la SEAIC.

En dicha figura puede observarse cómo las ciudades pertenecientes a la España seca (pluviosidad entre 300 y 500 litros/m²), resultan ser las que tienen los niveles más altos de pólenes de gramíneas. Se observa también que Toledo se sitúa a la cabeza de todas las ciudades participantes en el estudio.

Con respecto a Oleaceae, además del olivo (*Olea europaea*), pertenecen a esta familia otros géneros, de importancia en jardinería, como los “jazmines” (*Jasminum officinale* y *J. primulinum*); los “aligustres” (*Ligustrum lucidum* y *L. vulgare*, un arbusto a menudo utilizado para la formación de setos); las “lilas” (*Syringa vulgaris*) y los “fresnos”, estos últimos árboles del género *Fraxinus* (*Fraxinus excelsior*, *F. angustifolia*, *F. ornus*) son muy apreciados también por su madera dura y elástica. Es sabido que la polinización del olivo presenta una gran variabilidad interanual, con una cierta alternancia entre concentración de pólenes y producción de fruto. La competencia por las sustancias nutritivas de la planta entre los frutos de una temporada y las flores de la temporada siguiente, motivaría que un rendimiento alto de flores y frutos se alterna con otro bajo en pólenes y producción. Las zonas olivareras de nuestro país (Jaén, Sevilla, Toledo, Ciudad Real) muestran también una moderada alternancia en la concentración de pólenes de olivo, relacionada igualmente con temperatura y pluviosidad estacionales. Otro aspecto que cabe resaltar del polen de olivo es su alta capacidad aerovagante, llegándose a recolectar sus pólenes a más de 100 km de distancia, y en cantidades reactivas (alcanzando hasta los 650 granos/m³ de aire), como se ha comprobado durante varias temporadas en Toledo o Ciudad Real, donde se ha captado polen de olivo procedente de las vecinas zonas olivareras de Jaén y Córdoba. Este hecho se asocia a los días de elevada humedad atmosférica

que, al disminuir la densidad de las partículas polínicas, podría favorecer su desplazamiento.

Durante la última década, el Comité de Aerobiología, mediante colectores Burkard, ha llevado a cabo el análisis de los diferentes tipos polínicos presentes en la atmósfera de 27 ciudades peninsulares, muy representativas de quince Comunidades Autónomas. Los resultados obtenidos con respecto a la concentración de polen de olivo están muy relacionados con las zonas de cultivo. Así, y tomando como referencia la media de “días pico”, los máximos corresponden a Jaén, Toledo, Ciudad Real, Málaga y Sevilla; niveles medios se observan en Albacete, Badajoz, Elche, Valencia, Murcia, Salamanca y Alcázar de San Juan; niveles bajos en Madrid, Barcelona, Zaragoza y Ávila; y niveles muy bajos en Valladolid, Burgos, Pamplona, Logroño, Vitoria, San Sebastián, Bilbao, Santander, Oviedo, La Coruña y Pontevedra.

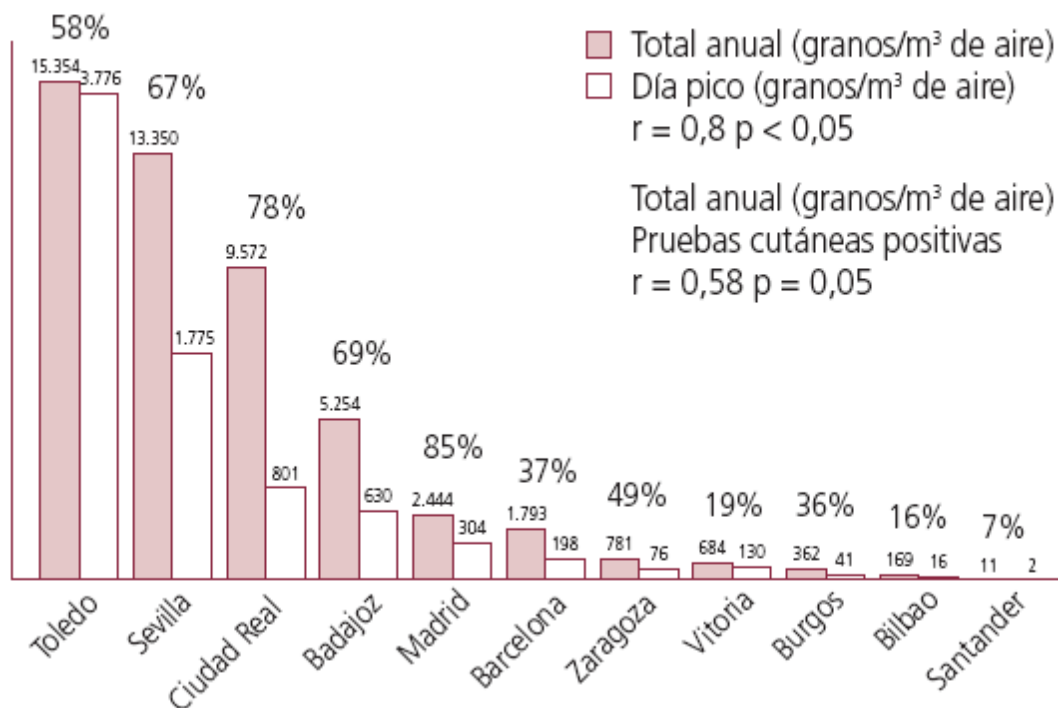


Figura 16: Recuentos de pólenes de Olea en el 2003, expresados como totales anuales y día pico. Obsérvese la correlación significativa entre los recuentos de pólenes y la prevalencia de sensibilización entre los pacientes con polinosis de varias ciudades¹¹⁶.

En Polinosis 2003 se estudió la relevancia alérgica de estos pólenes, ocupando el primer lugar la sensibilización a polen de olivo en Jaén (97%), Ciudad Real (87%), Málaga (83%) y Sevilla (68%). Igualmente notables son los datos de Toledo (58%), Zaragoza (49%), Logroño (39%), Barcelona (38%) y Burgos (36%). Más bajos son las sensibilizaciones en la cornisa cantábrica y norte peninsular: Vitoria (23%), Bilbao (16%), Santander (5%) y La Coruña (23%), y asociados en muchos casos con la sensibilización a polen de fresno. En el estudio Polinosis 2003 pudo encontrarse una asociación significativa entre los recuentos de *Olea* de 11 ciudades y la prevalencia de sensibilización a la misma en los pacientes con polinosis (Figura 16).

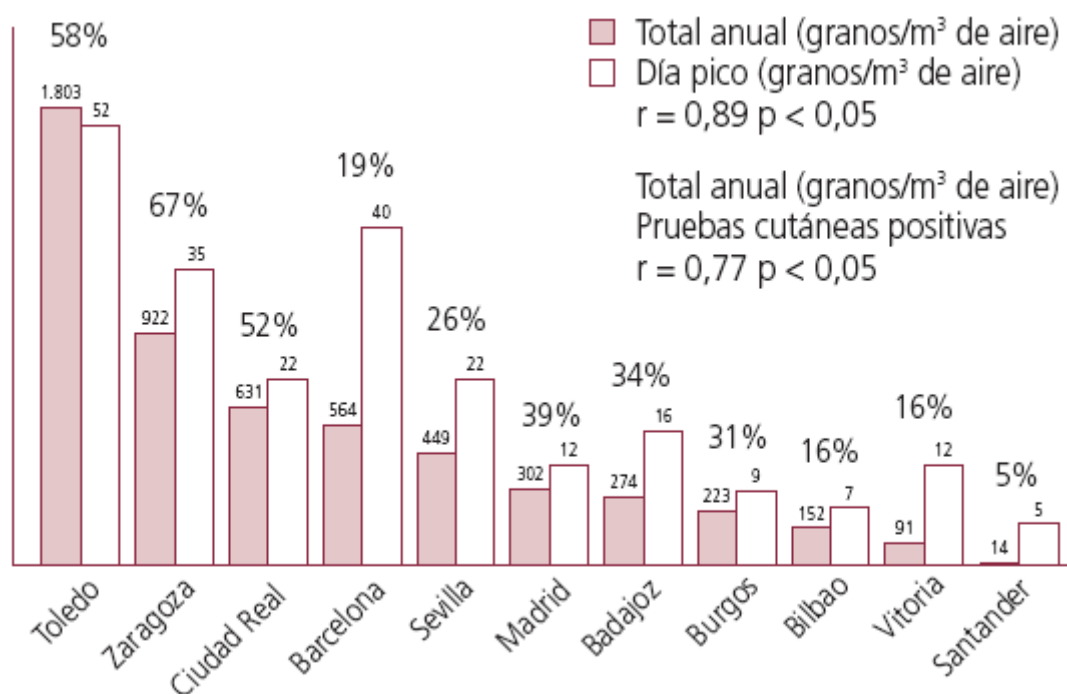


Figura 17: Recuentos de pólenes de Chenopo-amaranthaceae en 2003, expresados como tales anuales y día pico. Se observa una correlación significativa entre ambas variables. También se observa una asociación directa entre los recuentos de pólenes y la prevalencia de sensibilización a *Chenopodium* y/o *Salsola* entre los pacientes con polinosis de varias ciudades¹¹⁶.

Con respecto a Chenopaceae, en la figura 17 se representan los recuentos de pólenes de Polinosis 2003, expresados como totales anuales y día pico, observándose una correlación significativa entre ambas variables. Nuevamente Toledo ocupa un lugar importante en relación con los datos obtenidos en el resto de las ciudades del estudio.

Con respecto a Cupresaceae, se conoce la existencia de importante reactividad cruzada entre varias de ellas (*C. sempervirens*; *C. arizonica*) y las Juniperaceae (*J. ashei*; *J. oxycedrus*) y también las Taxodiaceae (*Cryptomeria japonica*). Según datos del Comité de Aerobiología de la SEAIC en los últimos años (Figura 18) se recogieron en Toledo en 1998 17.241 granos/m³, seguido de Madrid con 10.228 granos/m³ en 1997 y Barcelona con 10.222 granos/m³ en 2000. Teniendo en cuenta los días de máxima recogida de pólenes de Cupressaceae en 24 ciudades españolas, los días pico más elevados se produjeron en Toledo, 2.660 granos/m³ (19 de diciembre de 1.998), Ciudad Real, 1.602 granos/m³ (de febrero de 2001), Ávila, 1.256 granos/m³ (4 de febrero de 2000), Barcelona, 1.077 granos/m³ (13 de febrero de 1997) y Madrid, 1.005 granos/m³ (29 de enero de 1999). En el resto de las ciudades, los máximos se produjeron en el mes de febrero, con cifras inferiores a 900 granos/m³ de aire¹¹⁷.

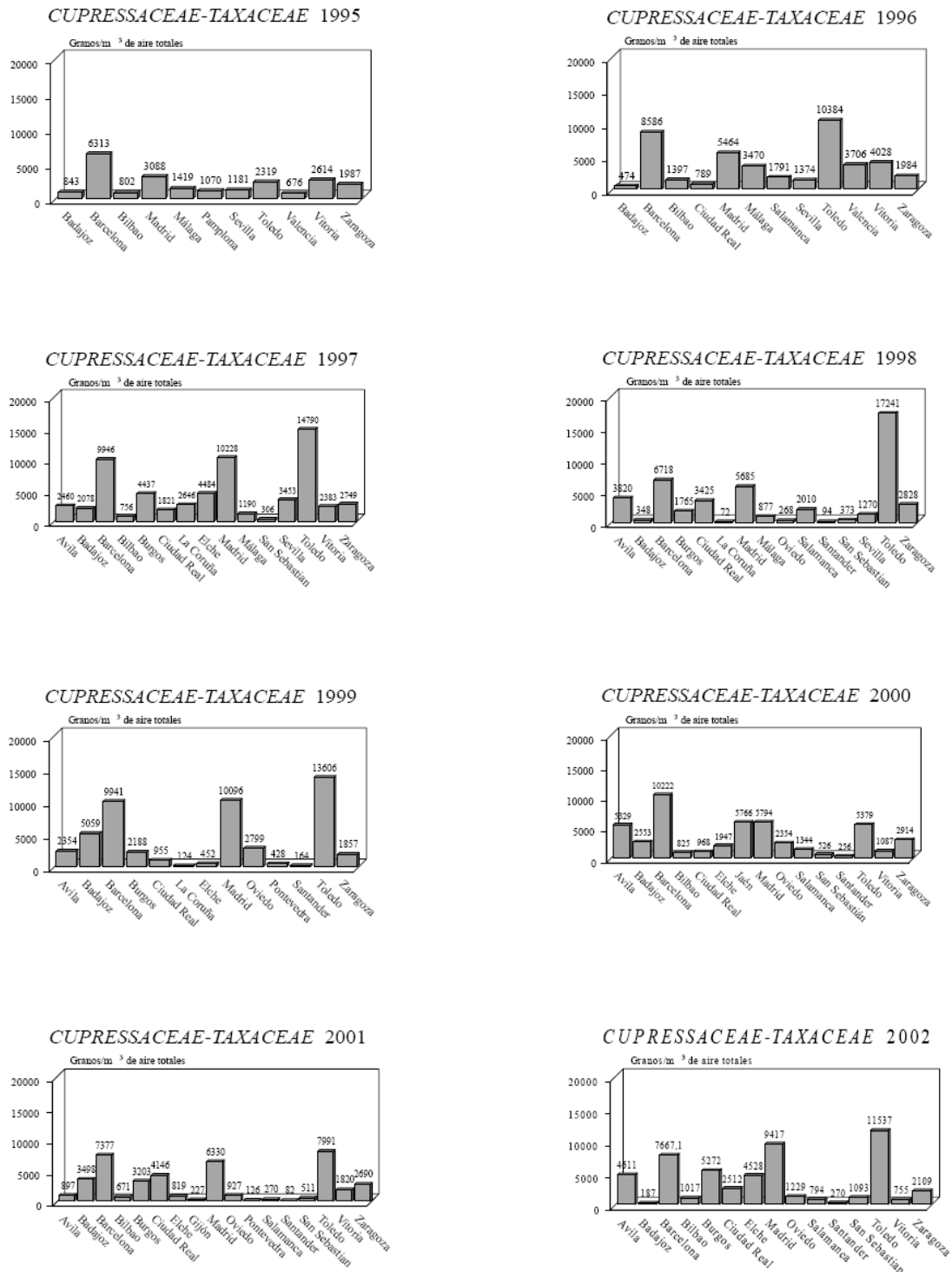


Figura 18: Concentraciones totales anuales de pólenes de *Cupressaceae* expresadas como granos por m³ de aire desde 1995 a 2002 en varias ciudades españolas (Comité de Aerobiología de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica)¹¹⁷.

En la figura 19 se observan resultados de recuentos totales anuales de pólenes de Cupresaceae en 2003. Nuevamente Toledo aparece en cabeza en relación con el resto de ciudades participantes. Se observa en la figura una

significativa correlación entre los recuentos de pólenes y la prevalencia de sensibilización a *Cupressus* y/o *Juniperus* entre los pacientes de las ciudades participantes.¹¹²

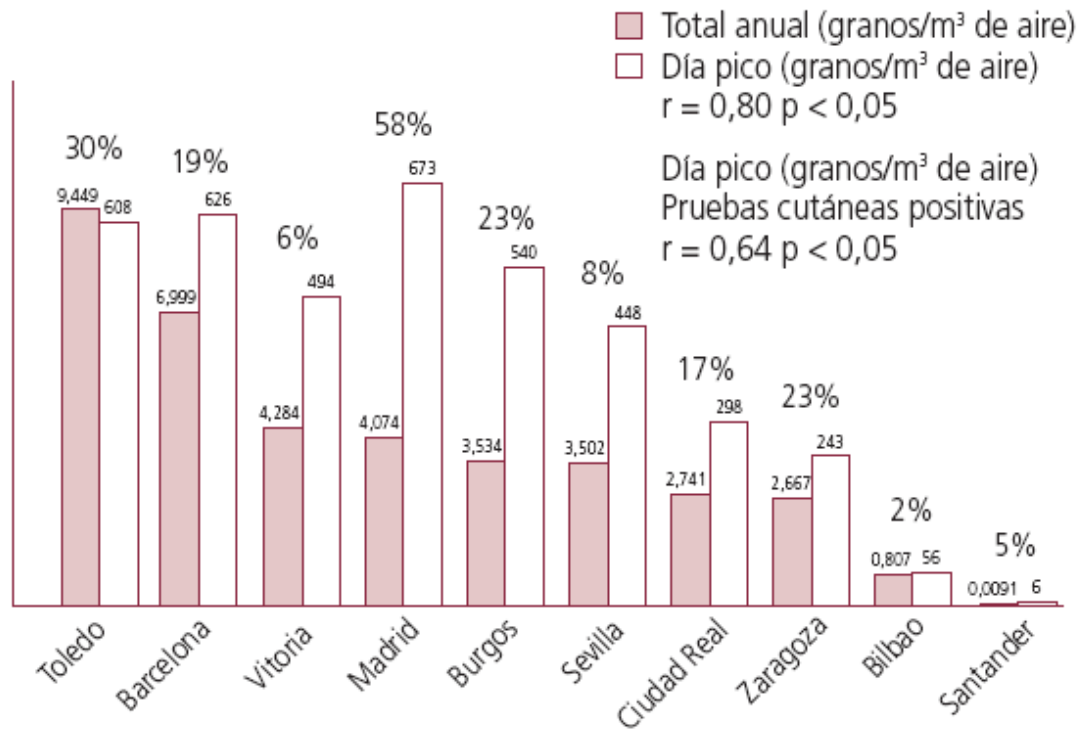


Figura 19: Recuentos de pólenes de *Cupressaceae* en 2003¹¹³

Con respecto a *Platanaceae* destaca el plátano de sombra (*Platanus hispanica*), también llamado *Platanus hybrida* o *Platanus acerifolia*. Su capacidad para causar polinosis se describió en Madrid en la década de los 90^{118, 119}. La polinización del plátano de sombra es explosiva al inicio de la primavera.

En la Figura 20 se exponen los recuentos de pólenes de *Platanus* en el 2003, observándose una correlación significativa entre los recuentos de pólenes y la prevalencia de sensibilización al *Platanus* entre los pacientes

con polinosis de las ciudades participantes. En este caso, Toledo no aparece en cabeza, sino en los últimos lugares de entre las ciudades del estudio.

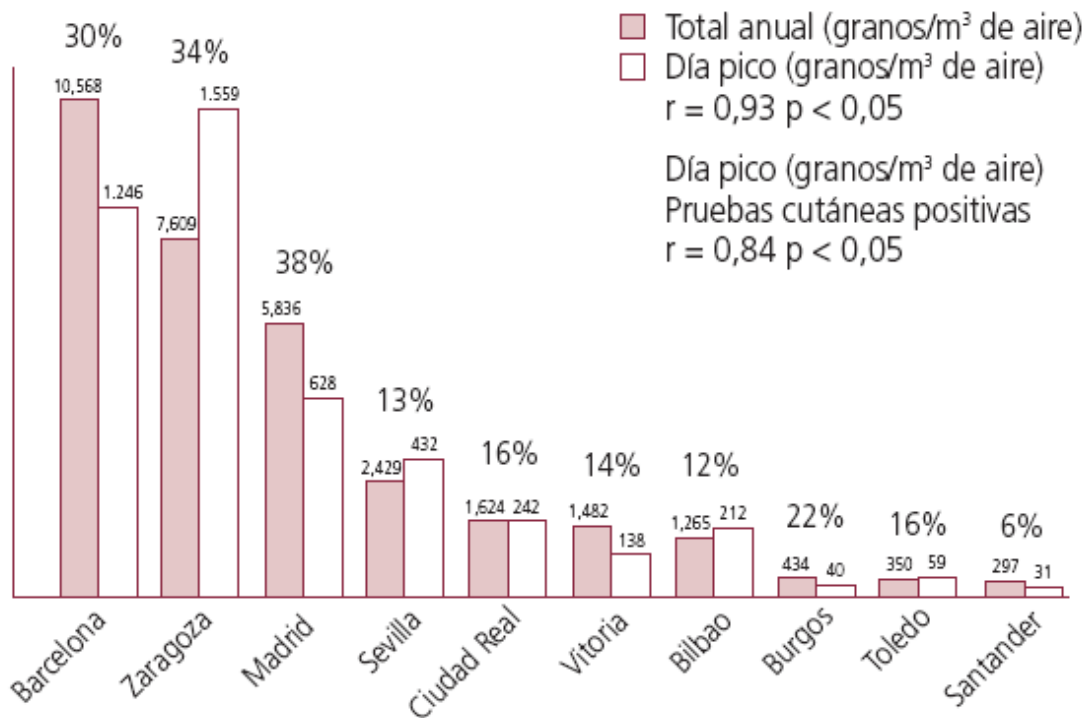


Figura 20: Recuentos de pólenes de *Platanus* en el 2003, expresados como totales anuales y día pico; obsérvese la correlación significativa entre ambas variables. También se observa una correlación significativa entre los recuentos de pólenes y la prevalencia de sensibilización al *Platanus* entre los pacientes con polinosis de 10 ciudades.

El calendario polínico de Toledo se resume en la figura 21.

En cuanto al recuento polínico, según los datos del Comité de Aerobiología de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC)¹²⁰, existen variaciones de exposición a los diferentes pólenes según las condiciones climáticas de cada año, pero con carácter general se observan concentraciones atmosféricas importantes de varios pólenes en el Área Sanitaria de Toledo, con picos de exposiciones intensos y mantenidos durante varios días o incluso semanas, sobre todo de olivo, gramíneas, encina y ciprés (Figuras 22-40).

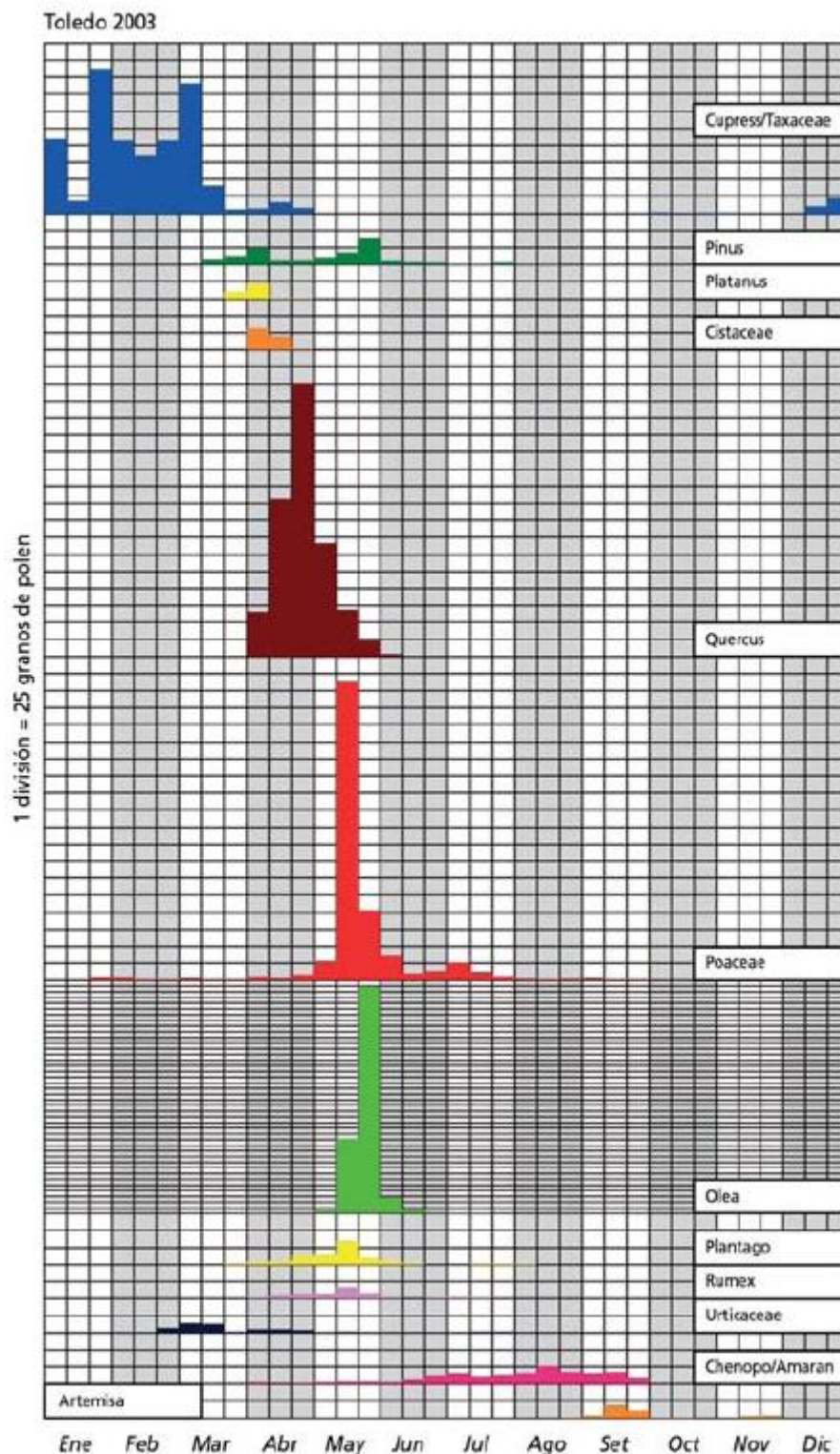


Figura 21: Calendario polínico de Toledo según datos del Comité de Aerobiología de la SEAIC

Se acepta que el clima seco, continental y de temperaturas extremas de Toledo provoca una polinización corta e intensa, con elevadas

concentraciones de pólenes a nivel atmosférico, que podría reactivar a la mayoría de las personas sensibilizadas.

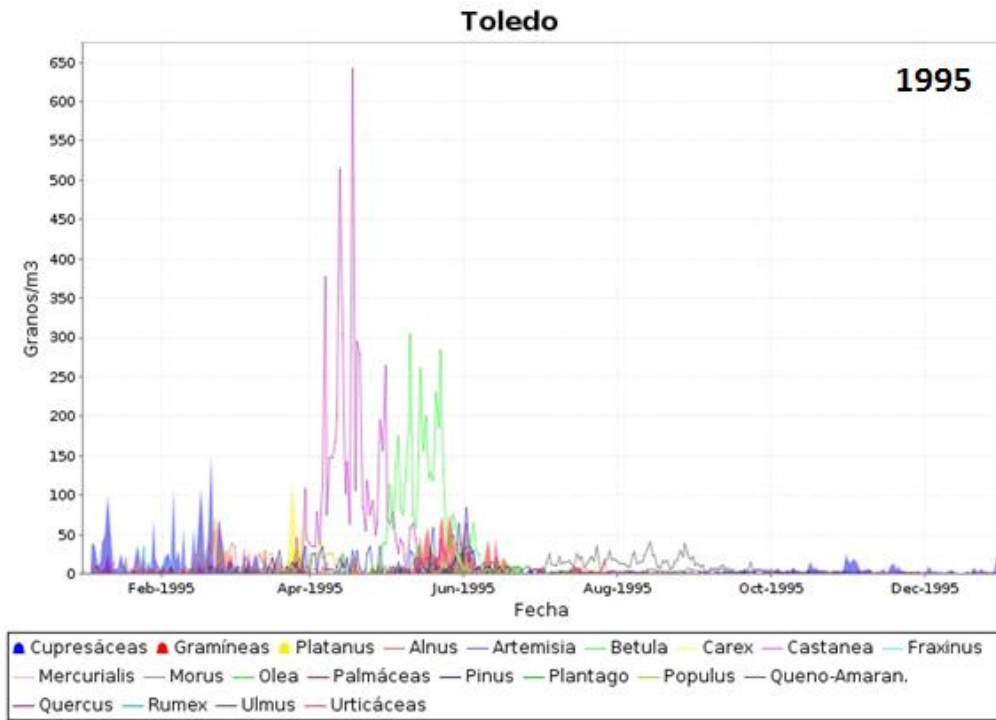


Figura 22: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 1995. Tomado de www.polenes.com

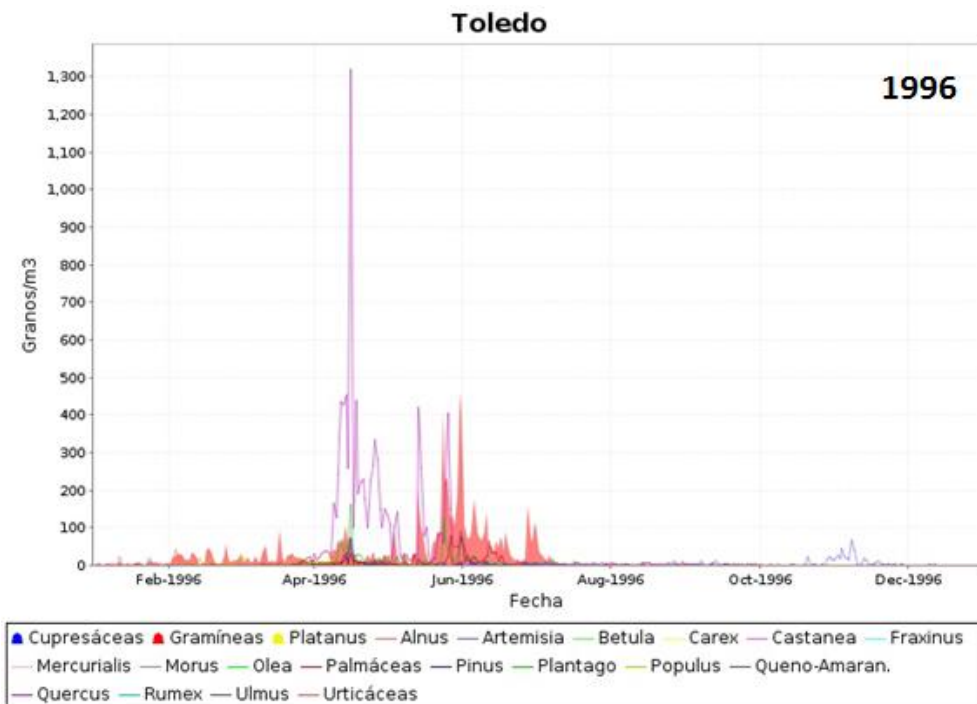


Figura 23: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 1996. Tomado de www.polenes.com

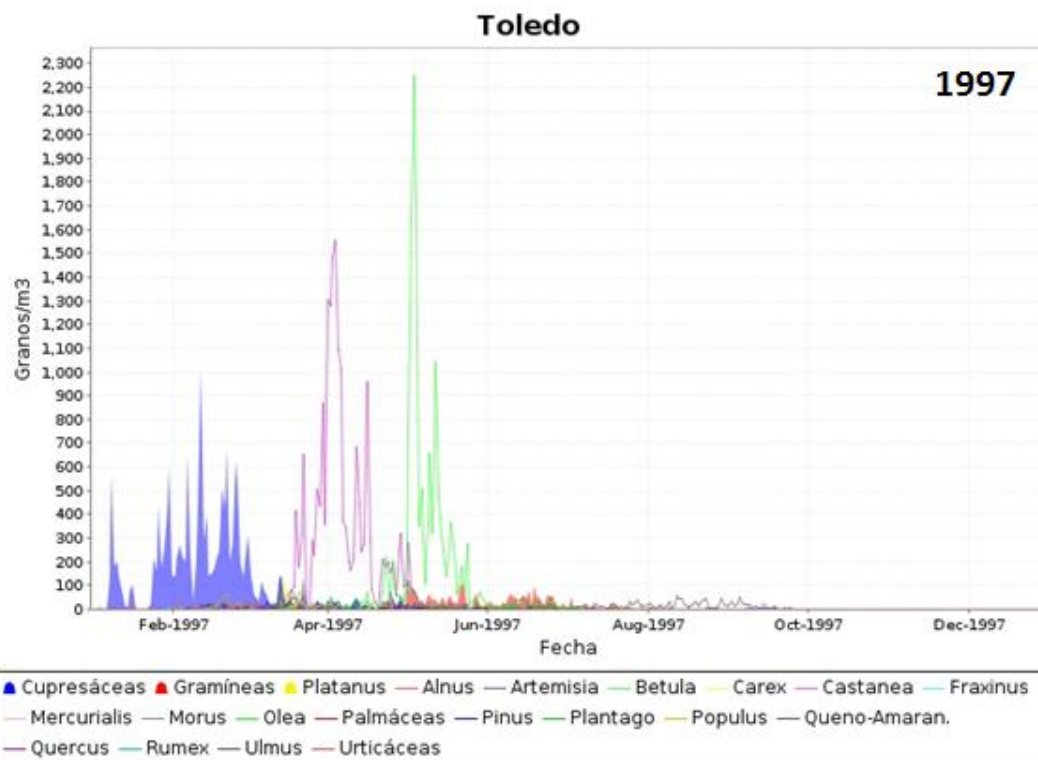


Figura 24: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 1997. Tomado de www.polenes.com

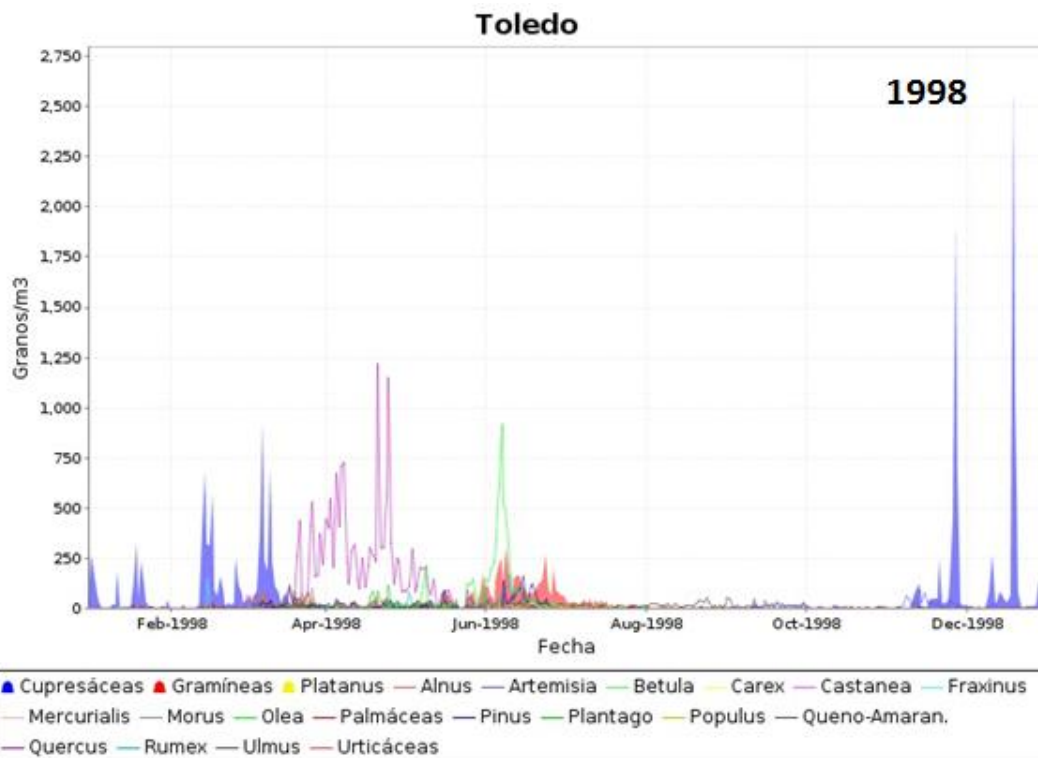


Figura 25: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 1998. Tomado de www.polenes.com

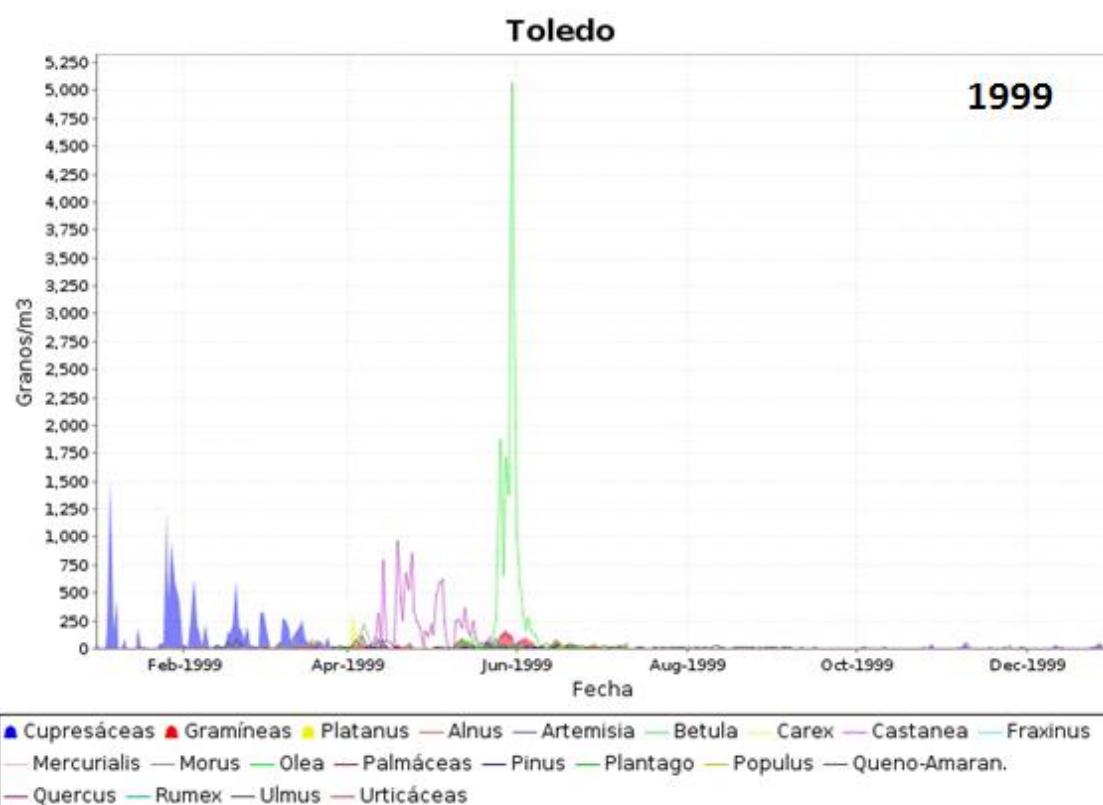


Figura 26: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 1999. Tomado de www.polenes.com

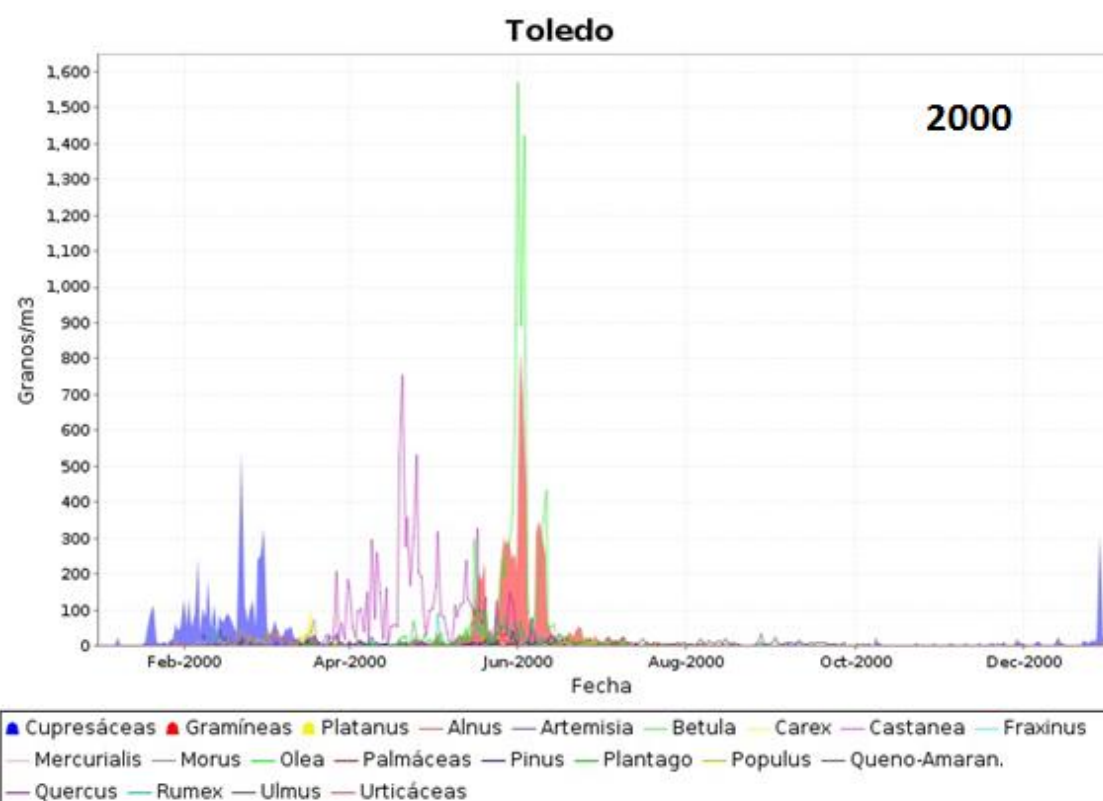


Figura 27: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2000. Tomado de www.polenes.com

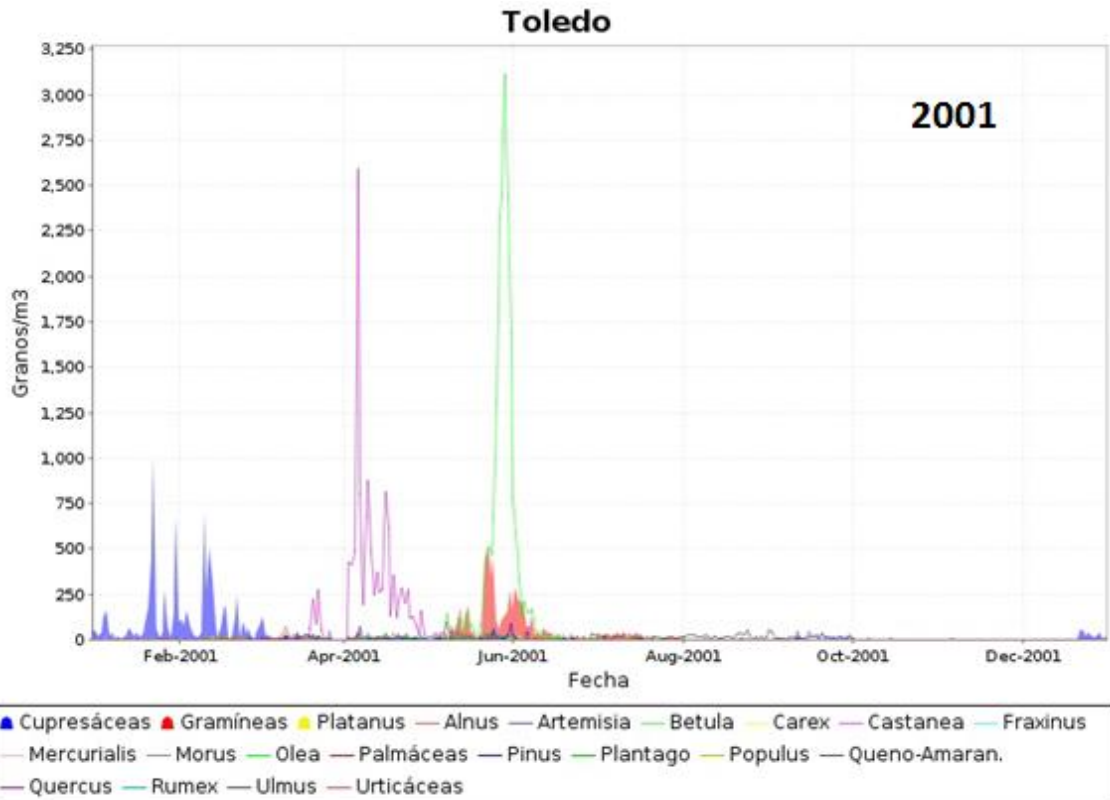


Figura 28: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2001. Tomado de www.polenes.com

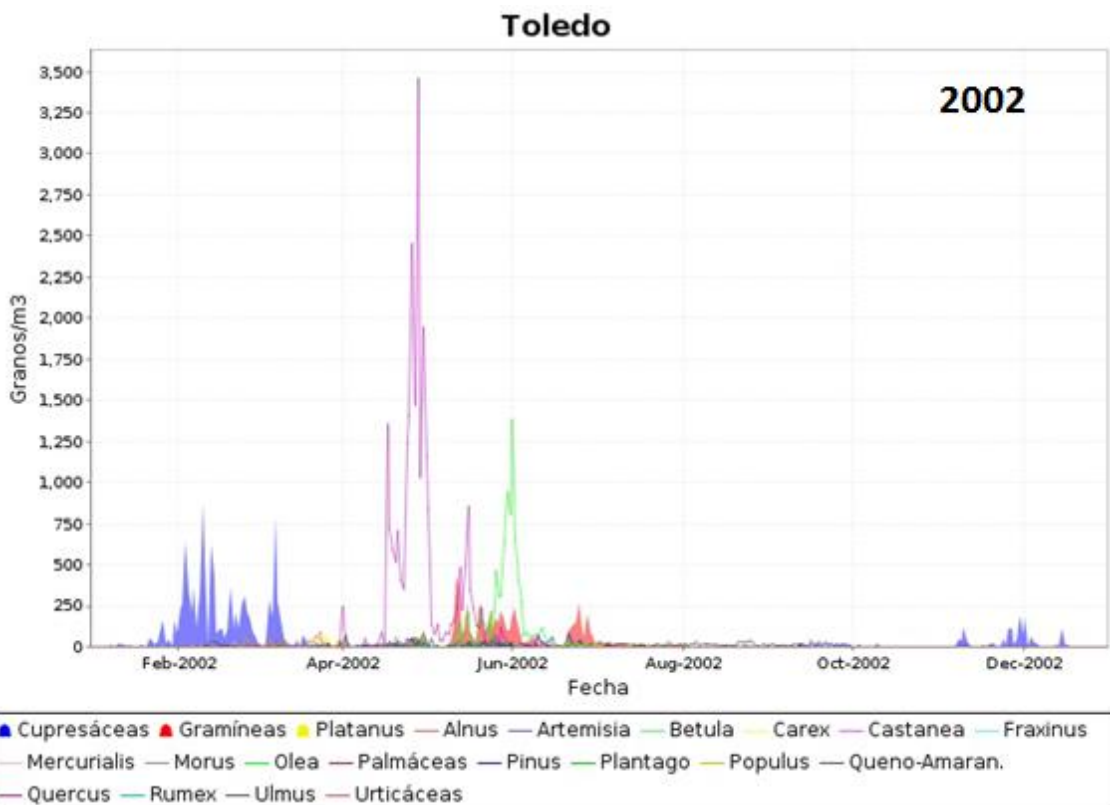


Figura 29: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2002. Tomado de www.polenes.com

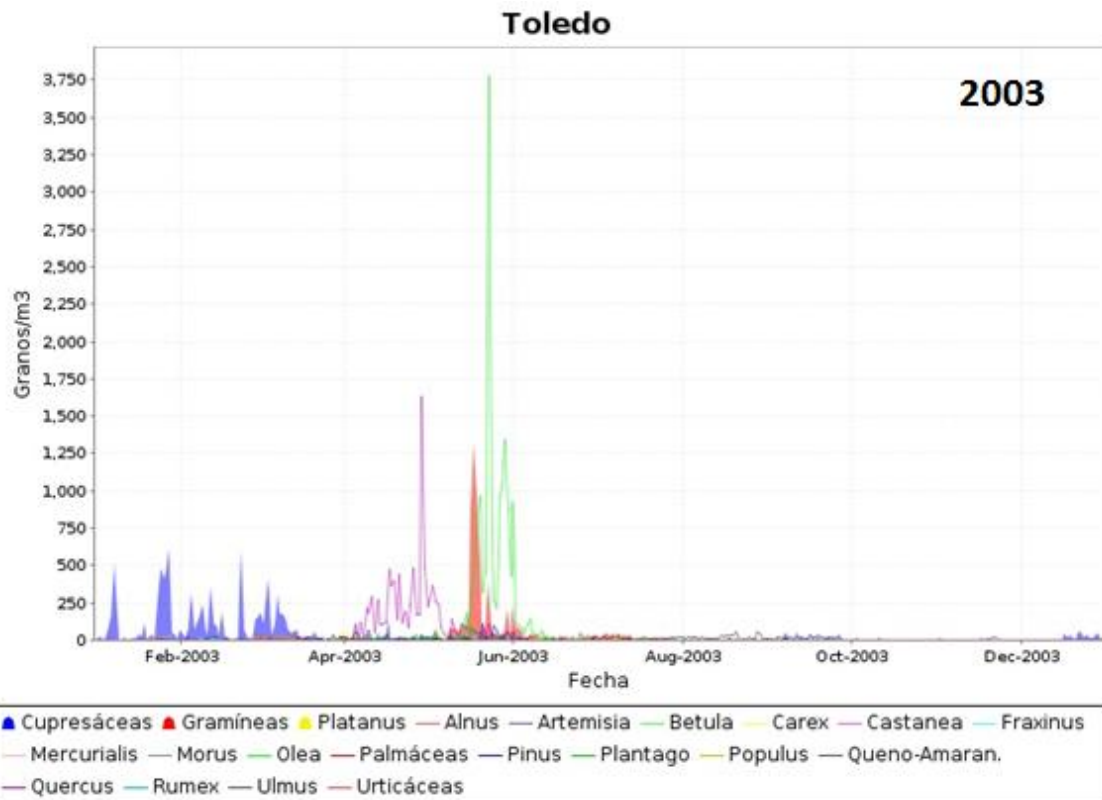


Figura 30: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2003. Tomado de www.polenes.com

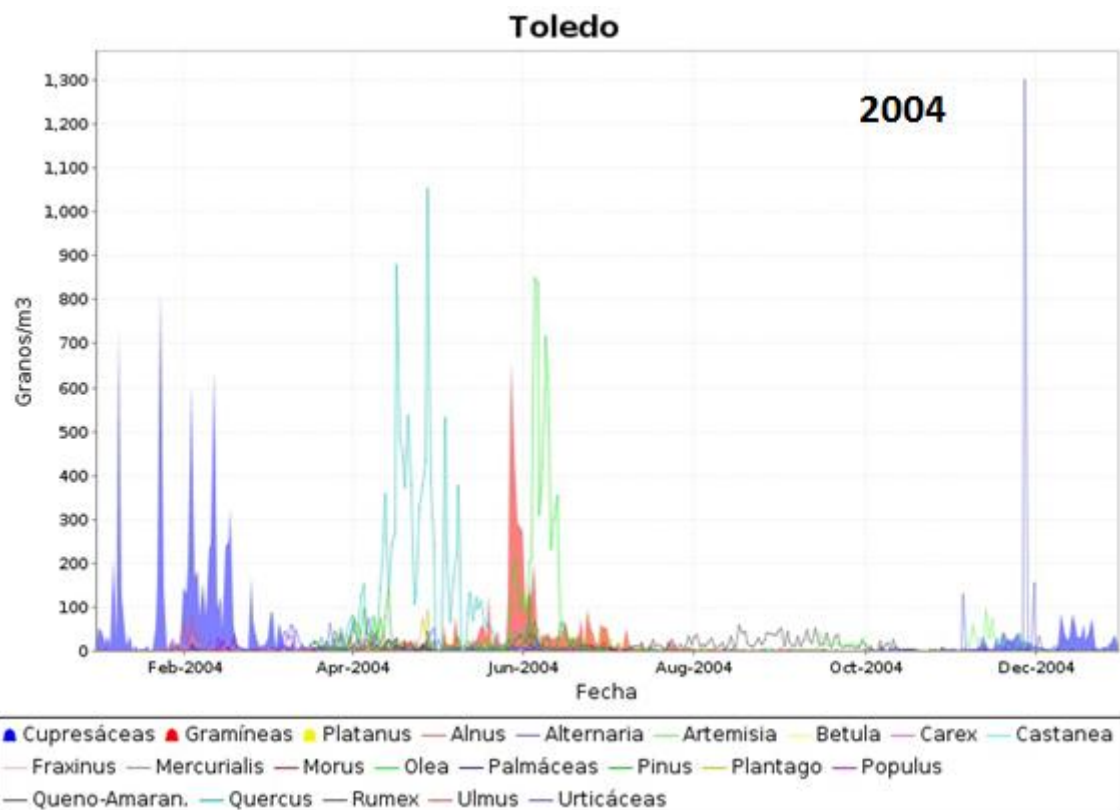


Figura 31: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2004. Tomado de www.polenes.com

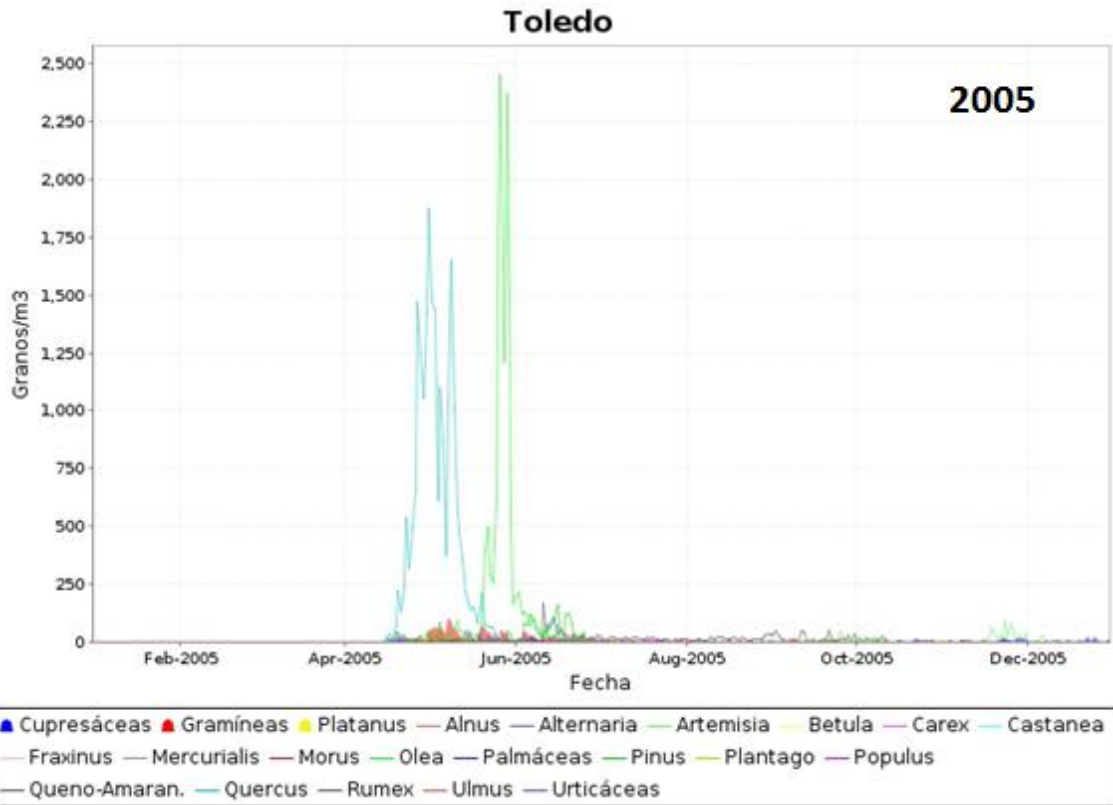


Figura 32: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2005. Tomado de www.polenes.com

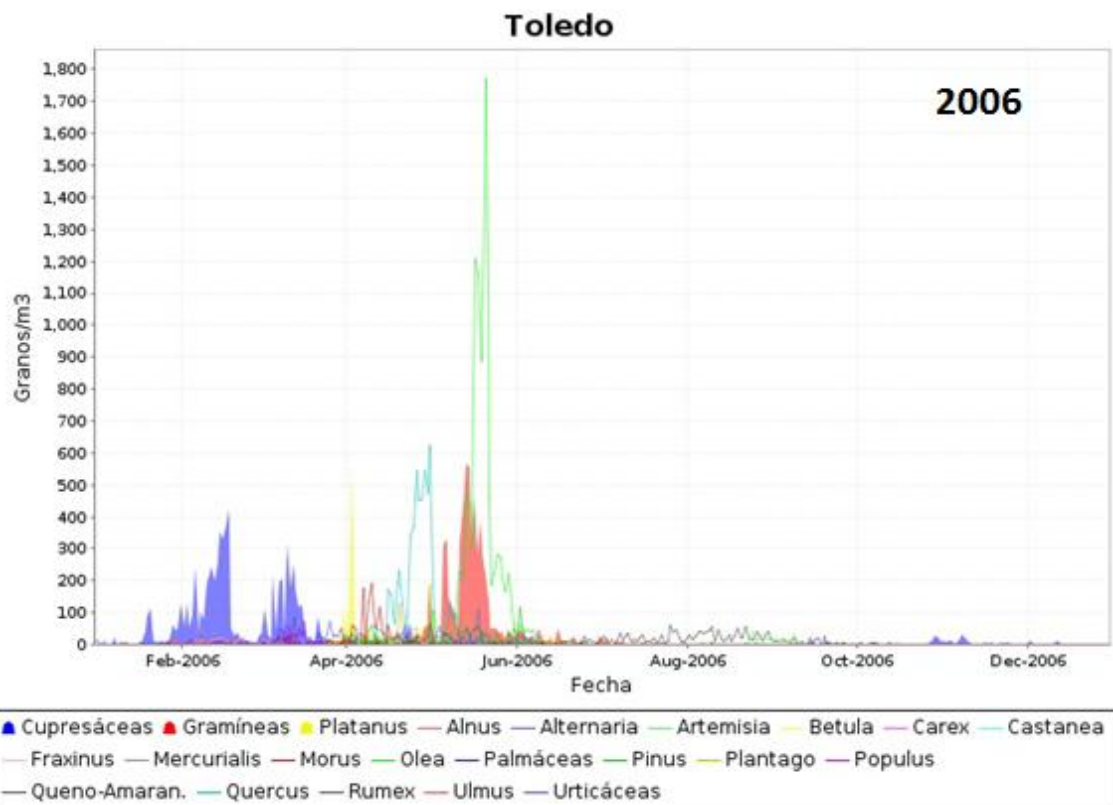


Figura 33: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2006. Tomado de www.polenes.com

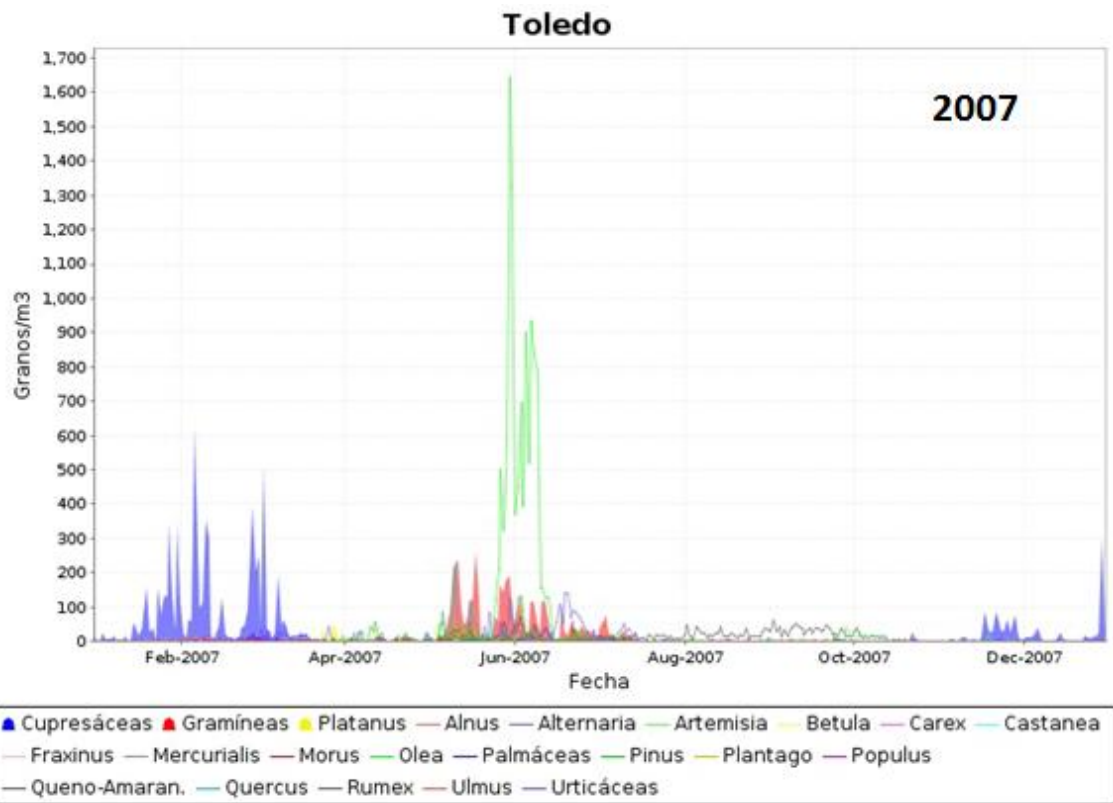


Figura 34: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2007. Tomado de www.polenes.com

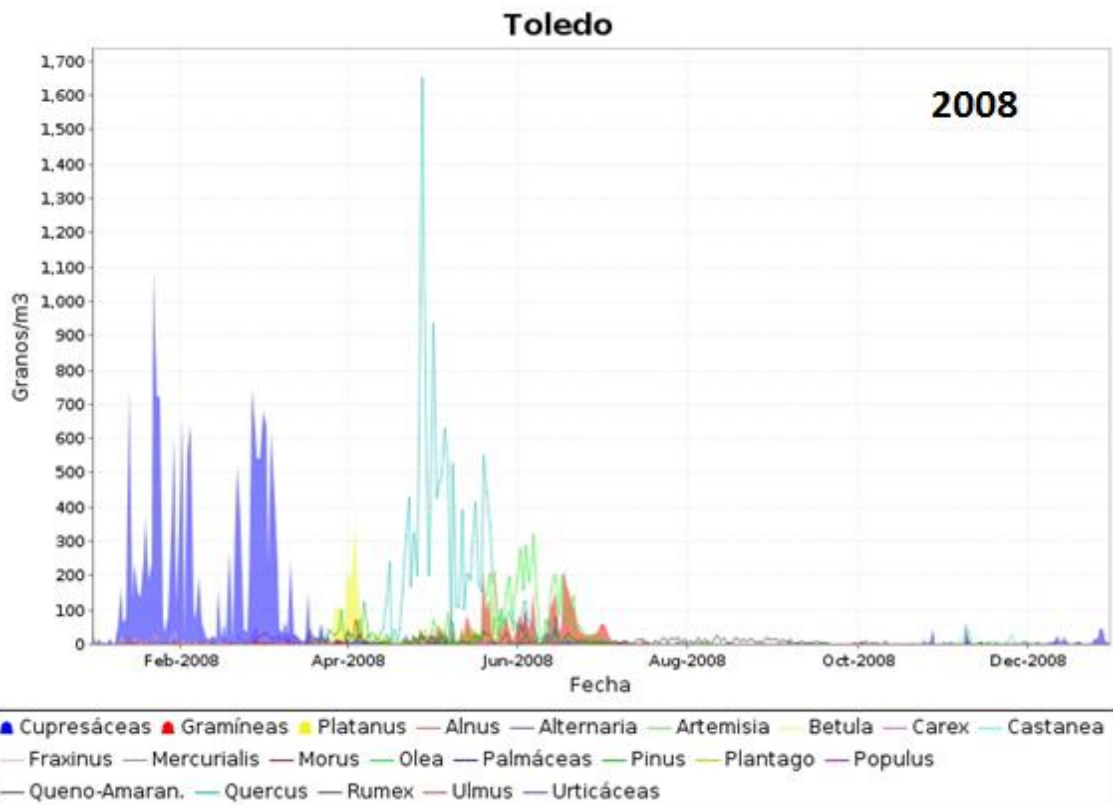


Figura 35: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2008. Tomado de www.polenes.com

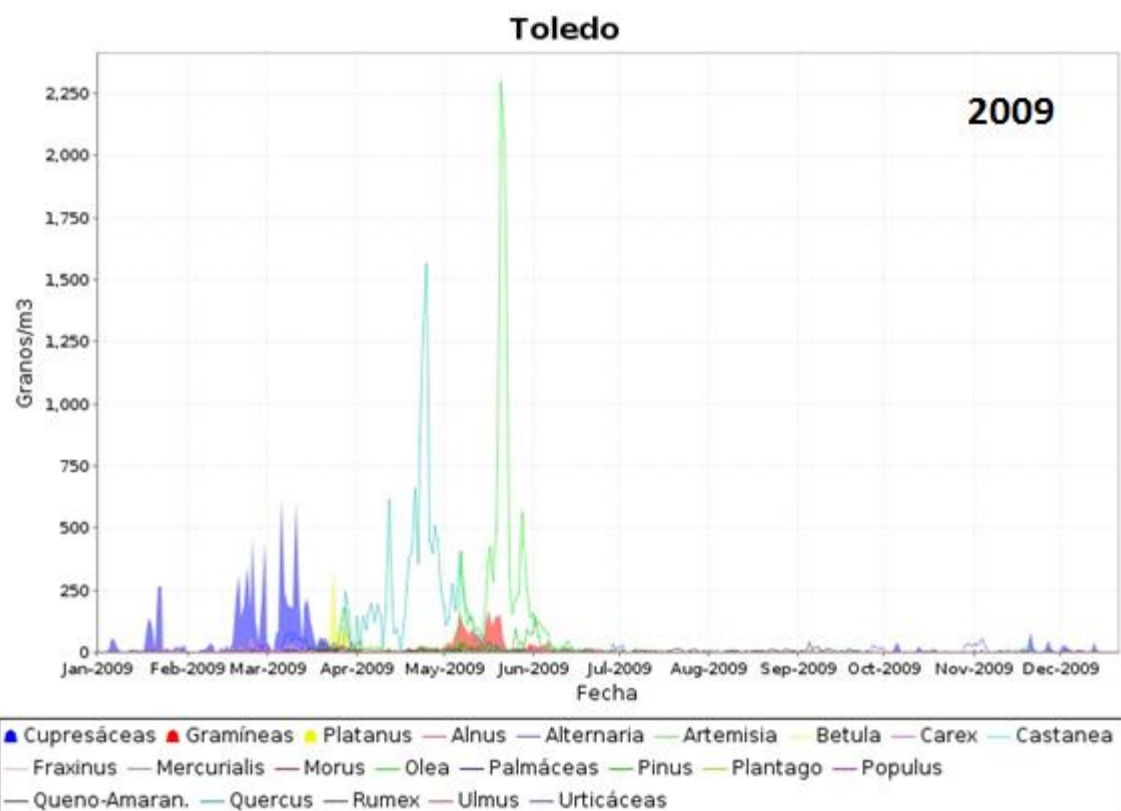


Figura 36: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2009. Tomado de www.polenes.com

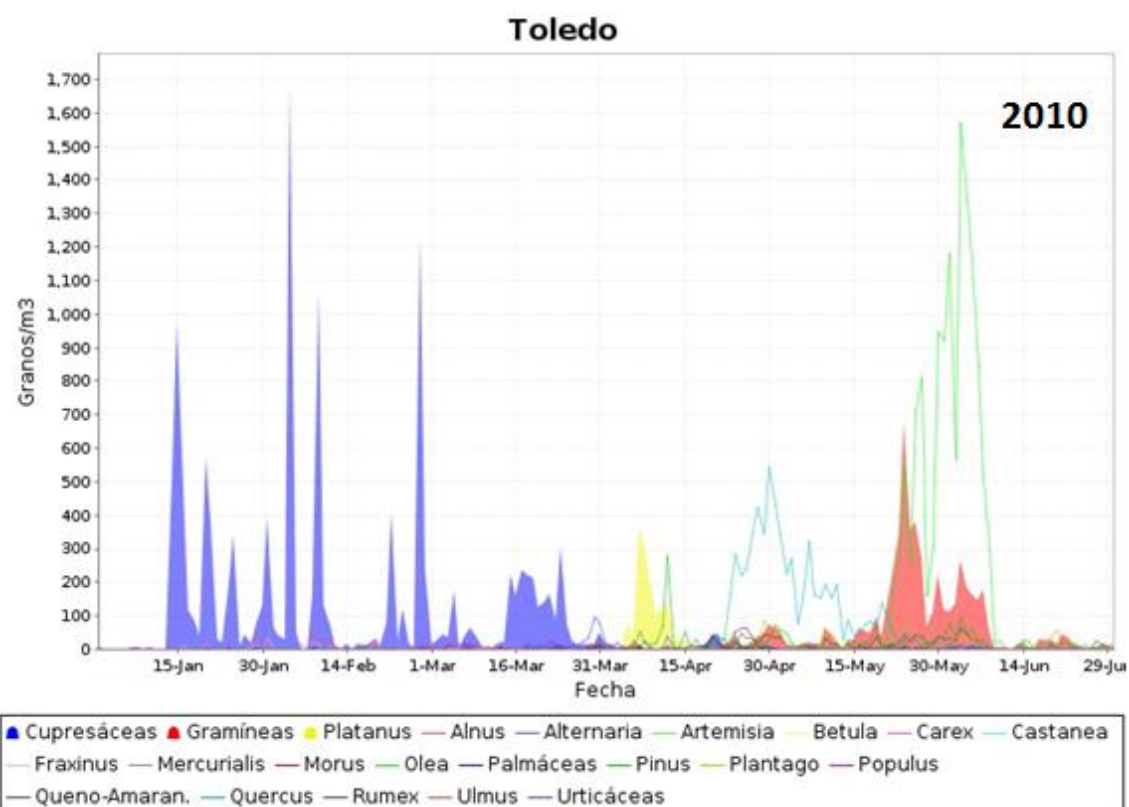


Figura 37: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2010. Tomado de www.polenes.com

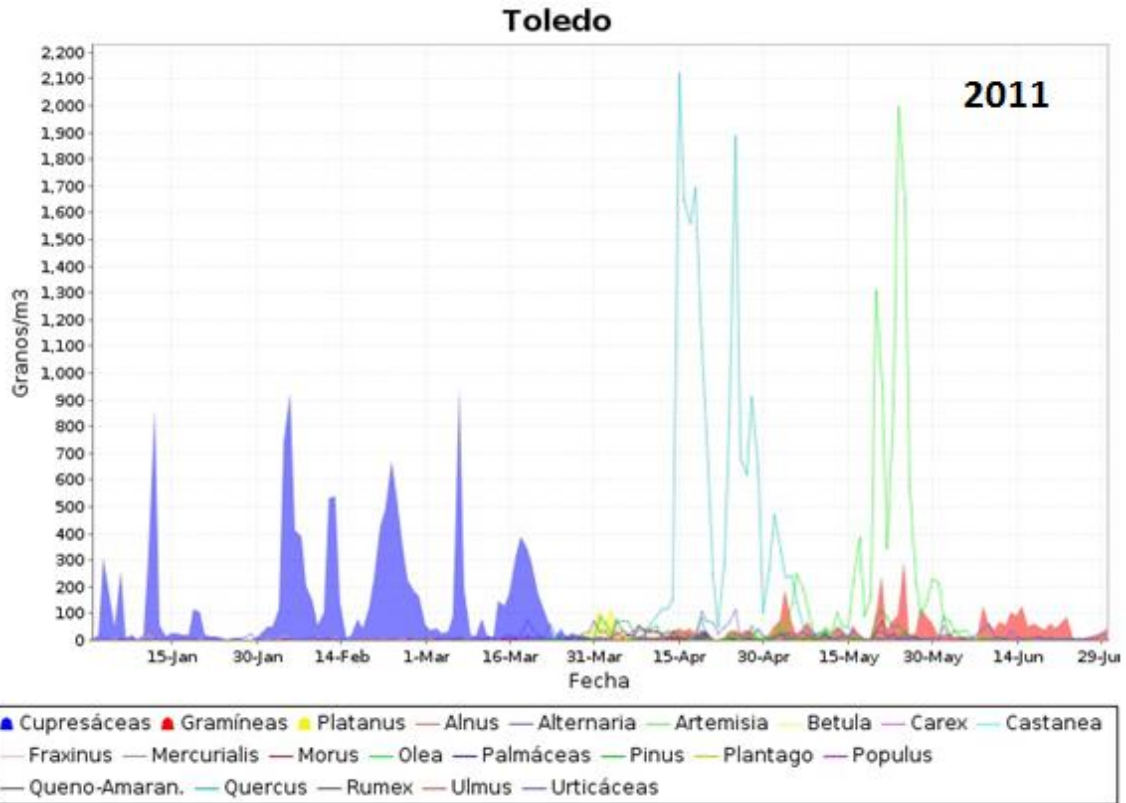


Figura 38: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2011. Tomado de www.polenes.com

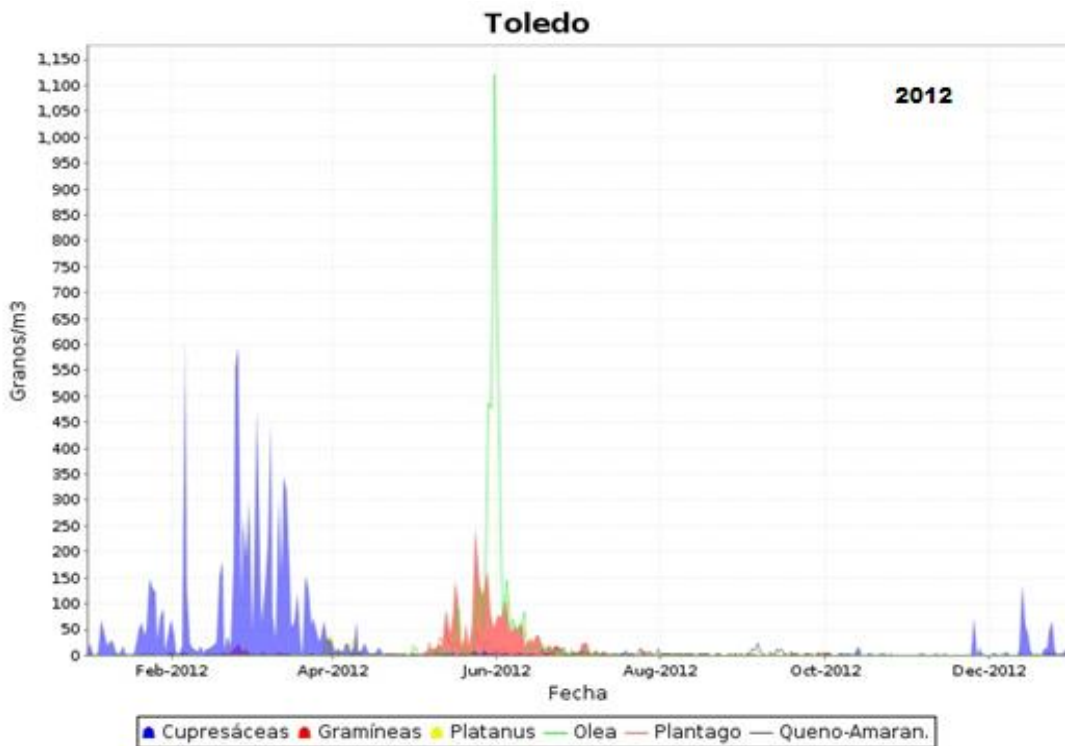


Figura 39: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2012. Tomado de www.polenes.com

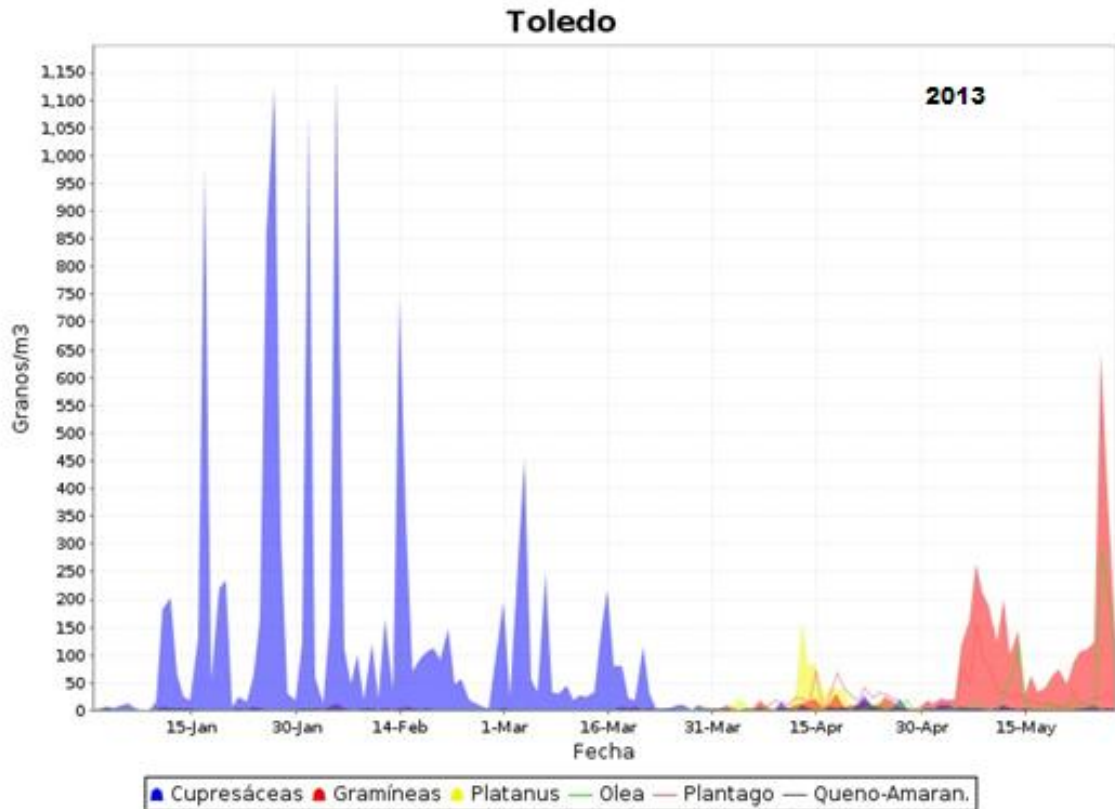


Figura 40: Recuentos anuales atmosféricos de los principales pólenes alergénicos del Área Sanitaria de Toledo. Año 2013. Tomado de www.polenes.com

Estos recuentos nos pueden servir para diferenciar en pacientes polisensibilizados a diversos tipos de pólenes, las sensibilizaciones clínicas de las subclínicas. Pero existen diversos factores que hacen difícil establecer una estrecha correlación entre la aparición de los síntomas y las concentraciones atmosféricas de los diferentes pólenes, y que hay que tener en cuenta a la hora de interpretar dichos resultados¹²¹, como son:

- El umbral de respuesta clínica varía de paciente a paciente.
- El umbral de respuesta clínica en el conjunto de los pacientes también va a ser diferente con cada polen (por ejemplo, y con valores aproximados, el umbral de Parietaria es 30 granos/m³, de Gramíneas es 50 granos/m³, de Olea es 200 granos/m³,...).

- Muchos factores pueden variar la exposición individual a los diferentes pólenes (lugar de residencia, tipo de trabajo, actividades de ocio, contaminación ambiental,...).
- La floración simultánea de varios pólenes alergénicos dificulta la diferenciación.
- En los síntomas también pueden contribuir los alérgenos que se encuentran fuera de los granos de polen (partículas paucimicrónicas), y que por lo tanto, no son contabilizados.
- La dificultad para diferenciar en los recuentos de pólenes a miembros alergénicos de los que no lo son tanto dentro de una misma familia o especie.
- Las concentraciones obtenidas varían en función de la localización del colector (altura, entorno, etc.).

Teniendo en cuenta las características aerobiológicas y epidemiológicas que se han comentado, en general parece que el perfil de sensibilización de los pacientes polínicos del Área Sanitaria de Toledo, podría explicarse por una exposición a altas concentraciones de pólenes, lo cual aumenta el riesgo de sensibilización, no sólo a los alérgenos mayores, sino también a los menores, entre ellos los panalérgenos, dando lugar a frecuentes polisensibilizaciones y a una heterogeneidad en los perfiles de sensibilización a nivel molecular.

En este sentido, recientemente se ha realizado en toda España el estudio EXPO (Estudio de la exposición en pacientes polínicos) para determinar la prevalencia de sensibilización a pólenes mediante técnicas de diagnóstico molecular^{122, 88}. Los objetivos del proyecto fueron los siguientes:

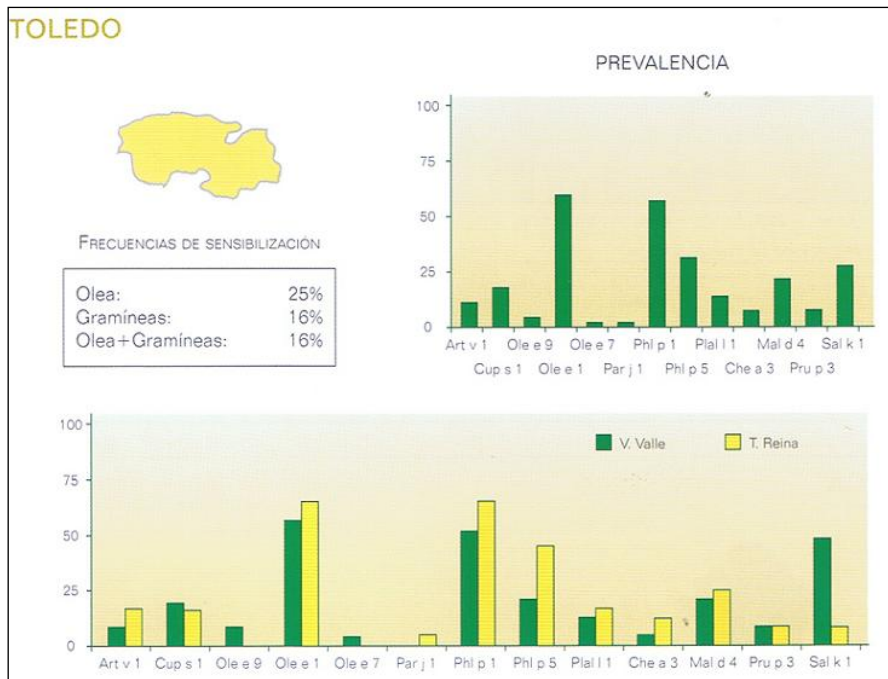
- Obtención del mapa de sensibilización a pólenes.
- Prevalencia de panalérgenos de pólenes.

- Diseño de una nueva estrategia diagnóstica en pacientes polínicos.

En una segunda fase se añadieron dos objetivos particulares:

- Estudio de alergia alimentaria.
- Inclusión de pruebas cutáneas como método diagnóstico.

Para el estudio de la provincia de Toledo, se incluyeron 50 pacientes, la mitad correspondían al área sanitaria de Toledo y la otra mitad al área sanitaria de Talavera. Según los resultados obtenidos, los pólenes que causan más frecuentemente sensibilización en los 25 pacientes incluidos por el H. Virgen del Valle (sobre una muestra total de 891 pacientes) son el olivo (56% a Ole e1), las gramíneas (52% a Phl p1 y 20% a Phl p5), Salsola (48% a Sal k1) y ciprés (20% a Cup s1). El resto de pólenes aparecen con una frecuencia menor (Figura 41). En este estudio también se ha podido ver la importancia que juegan los panalérgenos en la sensibilización de los pacientes polínicos. En concreto, los pacientes analizados en nuestro hospital presentaban una frecuencia de sensibilización a profilina del 20%. Estos resultados no coinciden con estudios previos¹¹² de prevalencia de sensibilización a pólenes realizados previamente mediante pruebas cutáneas en los que las chenopodiáceas son los alérgenos más frecuentemente encontrados, ni tampoco con la percepción de los miembros del equipo del Servicio de Alergología de Toledo, para los que, según nuestra experiencia clínica, son los pólenes de gramíneas los alérgenos responsables de la mayor parte de la alergia respiratoria atendida en dicho servicio.



Provincia de Toledo (Áreas sanitarias de Toledo y Talavera de la Reina)	
Gramíneas	
Phl p 1	58
Phl p 5	32
Olivo	
Ole e 1	60
Ole e 7	2
Ole e 9	4
Salsola	
Sal K 1	28
Artemisia	
Art v 1	12
Cupresáceas	
Cup s 1	18
Parietaria	
Par j 1	2
Plantago	
Pla l 1	14
Panalérgenos	
Profilina	22
Polcalcina	8
Pru p 3	8

Figura 41: Resultados del estudio EXPO¹²² en la provincia de Toledo. Hospital Virgen del Valle de Toledo (en verde) y Hospital de Talavera de la Reina (amarillo).

V. JUSTIFICACIÓN

JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

De acuerdo a una encuesta realizada recientemente en España sobre una muestra de cerca de 5000 pacientes que acudían a consulta de alergología, la alergia al polen es la causa más frecuente de rinitis y asma⁵. En un estudio epidemiológico (estudio EXPO¹²²) realizado con el fin de determinar el mapa de sensibilización a pólenes en España, mediante técnicas de diagnóstico molecular, se ha podido confirmar que los pólenes que causan más frecuentemente sensibilización en los 25 pacientes incluidos por el H. Virgen del Valle (sobre una muestra total de 891 pacientes) son el olivo (56% a Ole e1), las gramíneas (52% a Phl p1 y 20% a Phl p5), la Salsola (48% a Sal k1) y el ciprés (20% a Cup s1). El resto de pólenes aparecen con una frecuencia menor. En este estudio también se ha podido ver la importancia que juegan los panalérgenos en la sensibilización de los pacientes polínicos. Los panalérgenos son proteínas presentes tanto en especies de pólenes filogenéticamente diferentes como en alimentos. La sensibilización a este tipo de alérgenos puede ser una importante causa de error diagnóstico, ya que nos pueden aparecer falsos positivos al hacer el diagnóstico alergológico mediante técnicas habituales (pruebas cutáneas y determinación de IgE específica a alérgeno completo). De todos ellos, el que se ha visto más prevalente es la profilina. Es importante señalar que la sensibilización a este panalérgeno se asocia de forma significativa con la sensibilización a pólenes, fundamentalmente a gramíneas. En concreto, los pacientes analizados en nuestro hospital presentaban, en el mencionado estudio, una frecuencia de sensibilización a profilina del 20%.

Como ya hemos comentado, estos resultados difieren notablemente con los de otros estudios realizados sobre prevalencia de sensibilización a pólenes mediante pruebas cutáneas en Toledo, y con la opinión unánime de los alergólogos del Servicio de Alergología del Complejo Hospitalario de

Toledo, basada en la experiencia clínica y en el conocimiento de investigaciones previas realizadas por médicos de dicho servicio.^{112,113,117,120}

Hay que tener en cuenta, que el diseño del estudio EXPO¹²² no estaba pensado para obtener datos con representatividad a nivel del área sanitaria de Toledo, por lo que estos datos, basados en 25 pacientes, puede que no representen de forma adecuada el mapa de sensibilización alérgica a pólenes de nuestros pacientes. Además, hemos de tener en cuenta que la variabilidad geográfica puede jugar un papel determinante en la mayor o menor frecuencia de presencia de ciertos pólenes, aún dentro de un ámbito geográfico tan reducido como puede ser un área sanitaria.

Hasta ahora, el diagnóstico alergológico de nuestros pacientes polínicos se basa en técnicas que valoran la sensibilización a un extracto completo. De entre estas técnicas, la más habitualmente usada es la prueba cutánea por punción (*prick-test* ó SPT ó TC). El problema que presenta esta técnica, y que hemos empezado a conocer en los últimos años, a partir del descubrimiento de la capacidad de sensibilización de panalérgenos como la profilina, la polcalcina o las proteínas transferidoras de lípidos (LTPs)^{104,123}, es que con ella no somos capaces de reconocer fenómenos de reactividad cruzada, como ocurre entre pólenes y ciertos alimentos como las frutas. Además, el diagnóstico se realiza frente a extracto completo, por lo que tampoco somos capaces de reconocer, en pacientes polisensibilizados, si la sensibilización es al alérgeno mayoritario o a algún alérgeno menor. Y tampoco podemos saber si la sensibilización a más de un polen se asocia a la sensibilización a algún panalérgeno, por lo que la relevancia clínica es, en ocasiones, difícil de establecer, convirtiendo así a los panalérgenos en factores de posible confusión diagnóstica. De manera que se establece una diferenciación entre sensibilización genuina o

específica y sensibilización por reactividad cruzada. En la primera, las pruebas cutáneas positivas encontradas, serían debidas a la existencia de una sensibilización a alérgenos propios y específicos de los pólenes, mientras que en la sensibilización por reactividad cruzada, la positividad de las pruebas sería consecuencia de la existencia de proteínas no específicas (panalérgenos) en los extractos utilizados para el diagnóstico, compartidas con otros pólenes e incluso con alimentos de origen vegetal. Así, en la práctica clínica, ante el hallazgo en un paciente de una positividad a varios pólenes, el médico se enfrenta a la dificultad de decidir, si dicha positividad es genuina, con las consecuencias clínicas y de posible tratamiento con inmunoterapia específica que eso conlleva, o bien, se trata de una positividad no genuina, por reactividad cruzada, consecuencia de la sensibilización a panalérgenos.

El hallazgo de pacientes polisensibilizados a pólenes es más frecuente en áreas geográficas en las que por sus características aerobiológicas, la población esté expuesta a altas concentraciones de pólenes. Con este tipo de exposición, también aumenta la prevalencia de sensibilización a panalérgenos. El área sanitaria de Toledo cumple estas condiciones, y la experiencia clínica pone de manifiesto un creciente número de pacientes polisensibilizados en nuestras consultas.

Los niveles de polisensibilización a nivel cutáneo con los extractos habituales que encontramos en nuestros pacientes polínicos, podría explicarse, al menos en parte, por fenómenos de reactividad cruzada. La relevancia clínica que se le supone clásicamente a algunos de estos pólenes podría estar, por tanto, sobredimensionada. Es decir, que la importancia alérgica que hasta ahora damos a algunos de estos pólenes podría ser equivocada.

Y todas estas cuestiones previas tienen una consecuencia posterior de gran importancia para nuestros pacientes y para nuestro sistema sanitario. Estamos hablando, ni más ni menos, de saber si el tratamiento etiológico que administramos a nuestros pacientes es correcto o no, es decir, si se ajusta a la sensibilización real de los pacientes. Es obvio que para poder tratar a nuestros pacientes con el tratamiento más adecuado, necesitamos realizar un diagnóstico previo correcto. La mejora en el diagnóstico nos permitirá elegir el tratamiento más adecuado para nuestros pacientes. Esta mejor gestión de las tecnologías sanitarias aplicadas a nuestros pacientes (diagnósticas y terapéuticas), nos permitirá realizar en ellos intervenciones más eficaces, más eficientes y más seguras y, por tanto mejorará la salud de los pacientes polínicos de nuestra área sanitaria, atendiendo además al respeto del principio de justicia distributiva de los recursos sanitarios.

Por todo lo expuesto anteriormente, establecer el mapa de sensibilización alérgica a nivel molecular resulta imprescindible para poder abordar a continuación cuestiones tales como:

- Conocer el grado de concordancia de las diferentes técnicas diagnósticas.
- Establecer si los panalérgenos como la profilina, la polcalcina o la LTP nos ocultan la sensibilización real de los pacientes.
- Saber si la sensibilización a panalérgenos se asocia a una mayor severidad de la enfermedad alérgica y a un mayor tiempo de evolución de ésta.

Y es importante resaltar que todas estas cuestiones no son dispares sino que están íntimamente asociadas entre sí. Con el objetivo de tratar de dar respuesta a estas cuestiones es por lo que se plantea el presente estudio de investigación, que pretende ser la base para una tesis doctoral.

VI. OBJETIVOS

OBJETIVOS

Basándonos en todo lo expuesto anteriormente nos planteamos diversos objetivos en la realización de este trabajo, que exponemos a continuación:

Objetivo principal

Establecer el mapa de sensibilización a pólenes en el área sanitaria de Toledo mediante uso de técnicas de diagnóstico molecular, estableciendo al mismo tiempo el grado de concordancia de estas técnicas diagnósticas con las pruebas cutáneas convencionales y, valorando el papel de los panalérgenos como posibles factores que enmascaran el diagnóstico.

Aunque puedan parecer tres objetivos, la íntima asociación existente entre ellos hace que la respuesta a cada uno de ellos sea una respuesta común.

Objetivos secundarios

1. Conocer a qué alérgeno de pólenes se asocia la sensibilización a panalérgenos.
2. Conocer el grado de asociación de la alergia alimentaria que un porcentaje de nuestros pacientes polínicos presentan, así como establecer si su presencia se asocia de forma significativa a la sensibilización con algún polen específico.
3. Conocer la importancia como factor de riesgo de sensibilización a los panalérgenos que estudiemos de cada uno de los alérgenos de pólenes más frecuentes en nuestra área sanitaria.

4. Conocer el tipo de enfermedad alérgica respiratoria asociada a cada uno de los alérgenos y panalérgenos que estudiemos.
5. Conocer si existen posibles diferencias en la sensibilización de nuestros pacientes según la zona de procedencia del área sanitaria de Toledo.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

1. SELECCIÓN DE PACIENTES

Toda la información relativa a los pacientes se ha registrado en la historia clínica. En ella se encuentran los resultados de las pruebas de diagnóstico alérgico que se han llevado a cabo en los pacientes. Toda la inclusión y seguimiento de los pacientes se ha efectuado dentro de la práctica clínica habitual de nuestro servicio.

La obtención de la información no ha supuesto, en ningún caso, una sobrecarga de trabajo, ya que no se ha realizado ninguna prueba complementaria por parte del personal del Servicio de Alergia diferente a las que se realizan habitualmente en este tipo de pacientes. Todas las intervenciones que se han realizado a los pacientes (historia clínica, pruebas cutáneas y extracción de sangre) son las habituales para poder evaluar adecuadamente a los mismos.

1.1. Definición de la población en estudio: criterios de selección

Los pacientes incluidos en el estudio proceden de la derivación por parte del médico de Atención Primaria del área sanitaria de Toledo. Este área sanitaria, según datos de la Dirección General de Evaluación e Inspección de la Consejería de Sanidad de Castilla La Mancha de 2007 (<http://www.jccm.es/sanidad/salud/cata07a.pdf>), tiene una extensión de 8860,20 Km², una población de 419.975 habitantes, 116 municipios con 219 entidades singulares, 30 zonas básicas de salud y 6 distritos sanitarios (figura 42).

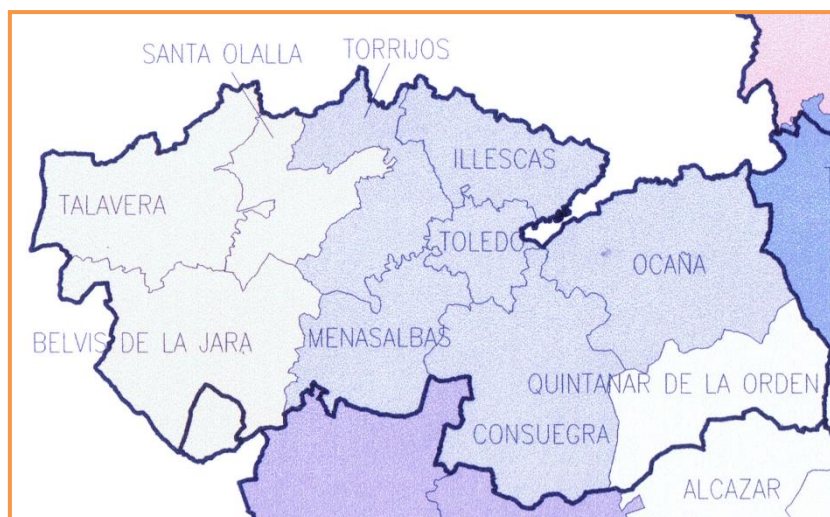


Figura 42. Área sanitaria de Toledo. Tomado de <http://www.jccm.es/sanidad/salud/cata07a.pdf>

Hemos incluido, de forma consecutiva, a todos aquellos pacientes mayores de 5 años y menores de 55 años que han acudido por primera vez al Servicio de Alergia del área sanitaria de Toledo para estudio alergológico. Los pacientes, para poder ser incluidos, debían tener historia clínica de polinosis de al menos 2 años de evolución y no debían haber recibido inmunoterapia previa a pólenes en los 5 años anteriores a su inclusión en el estudio, debiendo estar residiendo, al menos, los 6 últimos años de forma consecutiva en la misma zona.

Estos pacientes podían tener o no clínica de alergia alimentaria.

De forma previa a su inclusión, se ha informado adecuadamente a los pacientes o a sus padres, en caso de que fueran menores (Anexo 1) y se ha obtenido su consentimiento a participar en el estudio (Anexo 2), como se detalla más adelante al abordar los aspectos éticos del mismo.

El hecho de que los pacientes que incluimos no hubieran recibido previamente tratamiento con inmunoterapia específica, hacía presumible que la mayor parte de ellos serían pacientes que acudieran por primera vez

a nuestras consultas. Teniendo en cuenta que la alergia respiratoria por pólenes es una de los motivos de consulta más frecuentes en las consultas de alergia, según los datos publicados en *Alergológica* 2005⁵, y haciendo un cálculo aproximado de los pacientes nuevos que se ven al mes en nuestro Servicio de Alergia, estimamos que necesitaríamos unos seis meses para incluir el número de pacientes necesarios, para de esta manera no demorar innecesariamente una actitud terapéutica adecuada a los mismos. El periodo de inclusión fue desde enero hasta junio de 2010 ambos inclusive.

Para poder establecer de forma más adecuada el mapa de sensibilización alérgica, el área sanitaria se ha dividido en 5 zonas: Toledo capital, La Mancha, La Sagra, La Jara y Los Montes de Toledo. Hemos incluido pacientes procedentes de esas comarcas naturales que residen en poblaciones que pertenecen al área sanitaria de Toledo. (Figuras 43 y 44)



Figura 43. Mapa esquemático de las comarcas naturales de la provincia de Toledo. www.toledo-virtual.com

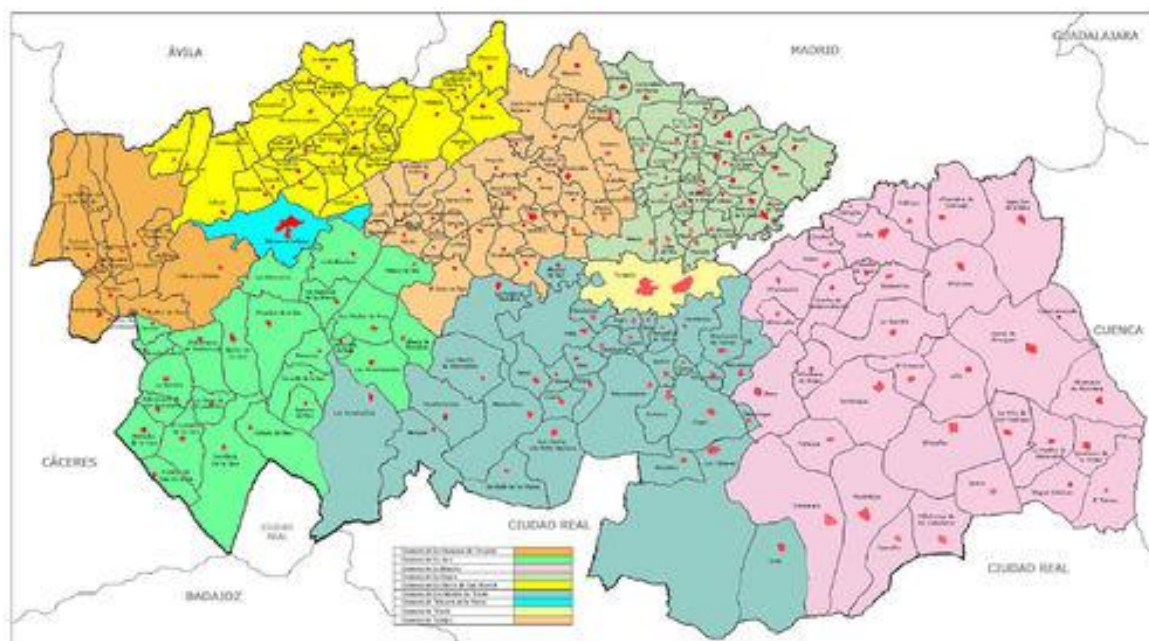


Figura 44. Mapa de detalle de las comarcas de la provincia de Toledo. Tomado de <http://www.zonu.com/detail/2010-10-22-12432/Comarcas-de-la-Provincia-de-Toledo.html>

1.2. Determinación del tamaño muestral

Mediante las técnicas habituales del diagnóstico alergológico, como la IgE específica y las pruebas cutáneas, se registran una cada vez mayor frecuencia de pacientes polisensibilizados. Estas técnicas diagnostican si existe una sensibilización frente a extracto completo, y la duda que se plantea es si realmente estas polisensibilizaciones son reales o existe algún factor responsable de su aparición, y que no sea el alérgeno mayoritario, responsable principal de la aparición de los síntomas alérgicos.

Como ya se ha explicado, en los años 90 se describieron los panalérgenos, que eran alérgenos comunes a plantas filogenéticamente diferentes¹⁰⁴ e incluso comunes también a alimentos. Esta característica nos hizo

plantearnos si estos panalérgenos serían los verdaderos responsables de este aumento en la frecuencia de polisensibilizaciones y que, al tratarse de alérgenos minoritarios, podrían resultar un factor de confusión a la hora de la interpretación clínica de las pruebas de diagnóstico alergológico.

La ausencia de estudios previos sobre este tema junto a la dificultad que suponía tratar de cuantificar el objetivo antes descrito, planteaba un problema serio para poder efectuar un cálculo preciso del número de pacientes necesarios para alcanzar dicho objetivo.

Lo que sí sabíamos era que la prevalencia de ciertos panalérgenos, como la profilina, se movía en torno al 20%. Cifra sobre la que oscilan los resultados del estudio EXPO referidos a la provincia de Toledo^{122,123}. Fijándonos en esta proporción, y calculando una precisión del intervalo de confianza de un 6%, nos daba un número de pacientes de 150.

1.3. Diagnóstico de enfermedad alérgica

Se ha realizado, mediante una valoración clínica, de acuerdo a las guías clínicas vigentes (ARIA¹²⁴ y GEMA¹²⁵), y mediante la realización de pruebas cutáneas y determinación de IgE específica. Con todos los pacientes se ha implementado la hoja de recogida de datos (anexo 3), y a todos se les ha realizado pruebas cutáneas y se les ha extraído una muestra de sangre, tanto para la determinación de IgE específica a extracto completo, en caso de que para nuestra práctica clínica habitual los resultados de las pruebas cutáneas no fueran suficientemente claros, como para la determinación de IgE específica mediante técnicas de diagnóstico molecular (Advia Centauro).

2. VARIABLES E INSTRUMENTOS DE MEDIDA

2.1. Datos demográficos y clínicos de los pacientes

De cada paciente se recogieron los siguientes datos:

- Edad
- Sexo
- Tiempo de evolución de la enfermedad
- Diagnóstico clínico (rinitis / conjuntivitis / asma)
- Lugar de residência (Toledo capital, La Mancha, La Sagra, Los Montes de Toledo, La Jara).
- Síntomas de alergia alimentaria y alimentos con los que aparecen los síntomas.
- Periodo en que presentan síntomas.
- Alérgenos causantes y medidas de las pruebas cutáneas (diámetro medio).

Todos estos datos se han recogido en la Hoja de Recogida de Datos (anexo 3).

2.2. Pruebas cutáneas

Las pruebas cutáneas que se han realizado son las mismas que se realizaban en la práctica clínica habitual de nuestro servicio a las que se han añadido polcalcina y melocotón. Se han realizado las pruebas cutáneas a los alérgenos siguientes:

- Pólenes: *Phleum pratense*, *Cynodon dactylon*, *Trisetum paniceum*, *Phragmites communis*, *Olea europea*, *Chenopodium album*, *Salsola*

kali, *Artemisia vulgaris*, *Platanus acerifolia*, *Plantago lanceolata*, *Cupressus sempervirens*, polcalcina y profilina.

- Alimentos: melocotón
- Controles: histamina (control positivo), suero salino (control negativo).

2.3. Determinación de IgE específica

Se ha realizado una extracción de sangre para la determinación de IgE específica. Se llevó a cabo la determinación de IgE específica por métodos tradicionales (Pharmacia CAP SystemTM, Pharmacia & Upjohn Diagnostics AB, Uppsala, Sweden), en aquellos pacientes en los que los resultados de las pruebas cutáneas no fueran suficientemente claros, según nuestra práctica clínica habitual, para dar pronta respuesta a su demanda asistencial.

La determinación de IgE específica mediante técnicas de diagnóstico molecular se realizó a todos los pacientes que participaron en el estudio, a los siguientes alérgenos:

- Pólenes: Olivo (Ole e 1), gramíneas (Phl p 1, Phl p 5, Cyn d 1), Salsola (Sal k 1), Artemisia (Art v 1), Plátano de sombra (Pla a 1 y 2), *Cupressus sempervirens* (Cup s 1).
- Panalérgenos: polcalcina (Che a 3), profilina (Ole e 2), LTP (Pru p 3).

En todos los casos, previa adecuada codificación de los pacientes y de las muestras, éstas se congelaron a -170°C hasta el momento de su procesado.

3. REALIZACIÓN DE PRUEBAS CUTÁNEAS

A los pacientes se les realizaron pruebas *in vivo* mediante test cutáneos o *prick* test (TC) con una batería de extractos estandarizados biológicamente, y algunos también con cuantificación en unidades de masa de sus alérgenos mayoritarios. Todos los extractos procedían de Laboratorios ALK Abelló S.A., Madrid, España, excepto el de *Trisetum*, que procedía de Laboratorios Immunotek, Madrid, España. Como queda reflejado anteriormente, se respetó el protocolo diagnóstico de polinosis de nuestro servicio, al que se añadieron extractos de polcalcina y melocotón.

Los extractos de pólenes incluidos en el estudio fueron *Phleum pratense* (30 HEP, 60 µg/ml), *Cynodon dactylon* (30 HEP, 60 µg/ml), *Phragmites comunis* (30 HEP, 60 µg/ml), *Olea europea* (30 HEP, Ole e 1: 180 µg/ml, Ole e 9: 6 µg/ml), *Artemisia vulgaris* (30 HEP, Art v 1: 35 µg/ml), *Platanus acerifolia* (30 HEP), *Cupressus sempervirens* (30 HEP), *Chenopodium album* (30 HEP), *Salsola kali* (30 HEP), *Plantago lanceolata* (30 HEP, Pla 1 1: 30 µg/ml), y *Trisetum paniceum* (1/100 UBE/ml, Laboratorios Immunotek, Madrid, España).

Tanto *Chenopodium album* como *Salsola kali* son Quenopodiáceas. En algunos hospitales utilizan sólo el extracto de *Chenopodium album* como marcador de sensibilización a la familia de las Quenopodiáceas en general, porque en estudios previos, se ha demostrado un alto grado de reactividad cutánea a nivel de tests cutáneos e IgE específica con extractos de *Chenopodium album* y *Salsola kali*¹²⁶. A pesar de esto, nosotros mantuvimos también *Salsola kali*, por un lado porque es práctica habitual en nuestro servicio, y por otro lado, porque se ha observado que Che a 1, el considerado alérgeno principal de *Chenopodium album*, se encuentra en muy baja concentración en el extracto de dicho polen. Dicho extracto contiene además otros alérgenos minoritarios no cuantificados como Che a

2 (profilina) y Che a 3 (polcalcina)¹²⁷, además de glicoproteínas, lo que posiblemente lo convierte en un extracto poco específico y hace que no refleje bien una sensibilización clínicamente relevante a quenopodiáceas. Por último, porque se ha observado en recientes estudios, diferencias cualitativas significativas en la composición alergénica de los extractos de *Chenopodium album* y *Salsola kali*, además de haber sido descrito Sal k 1 como principal alérgeno relevante en el extracto de *Salsola kali* y específico de ella¹²⁸. Por esto hemos creído conveniente diferenciar la sensibilización a estos dos pólenes e incluir a ambos en la batería de pruebas cutáneas que se realizaron a los pacientes.

Además de pólenes, se testaron también como marcadores de sensibilización cutánea, los siguientes panalérgenos: profilina, proteína transferidora de lípidos (LTP) y polcalcina. Se ha utilizado profilina purificada procedente de palmera datilera (nPho d 2, 50 µg/ml), extracto de piel de melocotón conformado prácticamente en un 100% por Pru p 3, su LTP (LTP 30 µg/ml), y extracto de polcalcina obtenido de un extracto de palmera (nPho d 2) del que se ha purificado previamente la profilina (1 µg/ml). Estos extractos han sido estandarizados también por ALK- Abelló, Madrid, España.

Asimismo, se han utilizado para la realización de las pruebas cutáneas como controles positivo y negativo, la histamina (10 mg/ml) y suero fisiológico, respectivamente.

Para la realización de las pruebas cutáneas que se llevaron a cabo, la técnica utilizada se describe a continuación:

Primero se desinfecta la piel de la cara ventral de ambos antebrazos con alcohol etílico de 96°, utilizando una torunda de algodón hidrófilo, dejándola secar a continuación. En la superficie de la piel donde se van a

realizar las pruebas cutáneas, se marcan con un rotulador, tantos puntos como alérgenos y controles se van a testar, guardando como mínimo 3 cm. de distancia entre cada uno de ellos. Al lado de cada marca se deposita una gota del extracto correspondiente y se practica una punción a través de cada gota con una lanceta (ALK-lancet, ALK-Abelló, Boge Allé 6-8, 2970 Horsholm, Dinamarca) diferente para cada extracto, con una inclinación de 90° con respecto al plano de la piel, sin producir sangrado ni arañar la piel con la punta de la lanceta.

Tras un periodo de espera de 15 minutos para que actúe el extracto, se seca la superficie de la piel con papel de celulosa absorbente. A continuación se utiliza una regleta transparente milimetrada y se mide el diámetro medio de las pápulas (diámetro mayor más diámetro menor dividido entre dos). Se considera positiva una prueba cutánea cuyo diámetro medio sea mayor o igual a 3 mm superior al del control negativo, siempre que el control positivo con Histamina se comporte como tal, siguiendo las recomendaciones de las guías de práctica clínica publicadas^{129,130,131}, las recomendaciones de la EAACI (European Academy of Allergy and Clinical Immunology)¹³², la Sociedad Nórdica de Alergología¹³³ y la fase II del protocolo ISAAC (Estudio Internacional de Asma y Alergias en Niños)¹³⁴.

Los pacientes con respuesta cutánea positiva con, al menos, uno de los alérgenos testados, fueron incluidos en el estudio. Se les implementó la hoja de recogida de datos y se les realizó una extracción sanguínea para el estudio *in vitro*.

Se dibujaron con rotulador el perímetro de las pápulas de todas las pruebas cutáneas positivas, y se marcaron en papel de celofán pegándolas posteriormente sobre hojas de la historia clínica de cada paciente, donde han quedado adecuadamente archivadas.

4. DIAGNÓSTICO DE ALERGIA A ALIMENTOS

En el caso de pacientes con clínica de alergia alimentaria, se ha procedido con la metodología diagnóstica habitual de nuestro servicio. Además de una historia clínica meticulosa, se realizan pruebas cutáneas con extractos comerciales. Si es preciso se recurre a pruebas cutáneas con el alimento natural (*prick by prick*). En ocasiones se realiza la determinación analítica de IgE específica por CAP (como se explica en la página siguiente). Cuando hay resultados discordantes entre la historia clínica y los resultados de las pruebas cutáneas y/o la determinación de IgE específica, se procede a realizar una provocación controlada con el alimento, la mayoría de las veces mediante una provocación abierta, y en otras mediante una provocación simple ciego.

5. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

Además de la realización de la historia clínica y del registro de los datos obtenidos en la misma, se implementaron las hojas de recogidas de datos (HRD) elaboradas específicamente para este estudio, y que también han quedado archivadas en las historias clínicas de los pacientes (anexo 3).

Tras codificar la HRD y fecharla, se comprobaron y se registraron si el paciente reunía todos los criterios de inclusión. Se recogieron datos de edad, sexo, zona de residencia, tiempo de evolución de la enfermedad, diagnóstico clínico (asma, rinitis, conjuntivitis), periodo de síntomas compatible con la sensibilización a pólenes, existencia de síndrome de alergia oral o algún otra enfermedad por alergia alimentaria y, se recogieron las medidas del diámetro mayor y menor de los alérgenos y controles testados.

6. DETERMINACIÓN EN SUERO DE INMUNOGLOBULINA E ESPECÍFICA.

Se determinaron los niveles de IgE específica frente a extracto completo mediante la técnica habitualmente empleada en clínica (Pharmacia CAP System™, Pharmacia & Upjohn Diagnostics AB, Uppsala, Sweden) a aquellos pacientes en los que por los resultados de las pruebas cutáneas y según la práctica clínica habitual convenía realizársela.

También se determinó la IgE específica frente a moléculas alergénicas de los diferentes pólenes y los panalérgenos incluidos en el estudio a todos los pacientes que participaron en el estudio. Para esto se utilizó el analizador Advia-Centauro® (AC) (Laboratorios Bayer Health-Care Diagnostics Division, Tarrytown, NY, USA)¹³⁵. El sistema consiste en la determinación cuantitativa de IgE utilizando un único método de calibración basado en alérgenos recombinantes de referencia. Comparado con otros sistemas de determinación de IgE específica existentes, esta técnica emplea una arquitectura en *sándwich* inverso, usando anticuerpos monoclonales de ratón anti-IgE humana, unidos mediante enlaces covalentes a partículas paramagnéticas (PPM) en la fase sólida y capturando así la IgE de la muestra. Esta IgE específica capturada reacciona con el alérgeno marcado con biotina en la fase líquida, la cual es detectada con quimioluminiscencia usando estreptavidina marcada con un éster de acridinium (figuras 45 y 46).

Este sistema permite la determinación alérgeno-específica para la medición de IgE sin la interferencia de otros tipos de inmunoglobulinas o de IgE inespecífica. El ensayo presenta una alta precisión, relación lineal, amplio rango de determinaciones (0,35-100 KU/l) y buena reproducibilidad. Presenta una sensibilidad del 90% y una especificidad del 98%, detectando especialmente bien la IgE de alta afinidad. La concordancia de sistema

CAP de Pharmacia es del 94%, tomando como puntos de corte de sensibilización valores de IgE de 0.35 KU/l¹³⁶.

Los alérgenos que se determinaron fueron los siguientes:

- Los considerados alérgenos mayores de los pólenes incluidos en las pruebas cutáneas, como son: Phl p 1, Phl p 5 (gramíneas) Cin d 1 (*Cynodon dactylon*), Ole e 1 (olivo), Art v 1 (artemisia), Sal k 1 (salsola), Pla 1 1 (plantago), Cup s 1 (ciprés) y Pla a 1 y 2 (plátano de sombra). Incluimos también Ole e 9 (olivo).
- Profilina, prodecente de un polen prevalente en nuestra área sanitaria Ole e 2 (olivo). No hemos incluido otras profilinas por la alta homología existente entre ellas.
- Proteína transferidora de lípidos (LTP) de melocotón (Pru p 3)
- Polcalcina de *Chenopodium*: Che a 3.

Se consideraron como positivos, valores iguales o superiores a 0,35 kU/l¹³⁵.



Figura 45: Plataforma tecnológica ADVIA-Centauro®

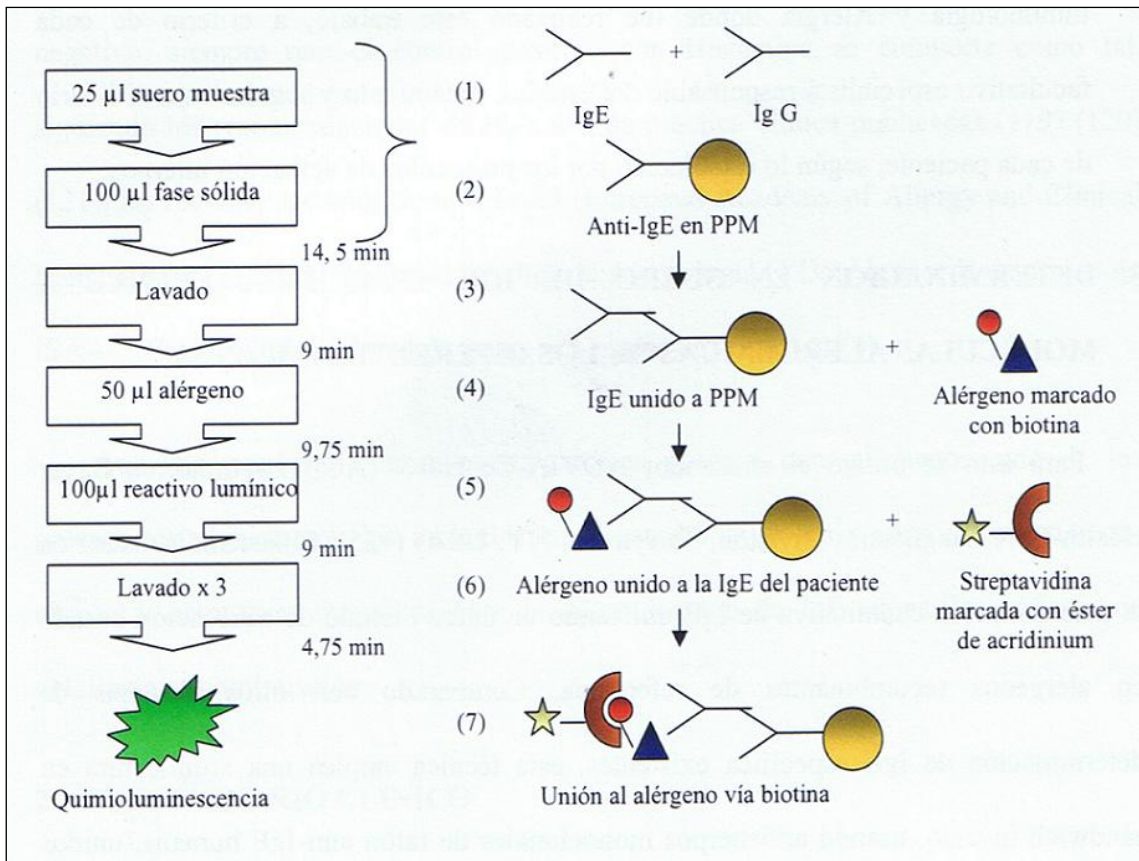


Figura 46: Sistema ADVIA-Centauro® para la determinación de IgE específica

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se analizaron estadísticamente los datos obtenidos de las técnicas *in vivo* e *in vitro* y de la hoja de recogida de datos.

El análisis estadístico fue realizado con la colaboración de una empresa externa (SGS Life Sciences Services), por lo que era importante que cada paciente fuera identificado exclusivamente mediante un código numérico que asegurara que ningún dato de los registrados en las hojas de recogida de información pudiera vincularse a un paciente concreto.

El programa utilizado para el análisis de datos fue el programa SAS versión 9.1.

El análisis descriptivo univariante de los datos, se realizó en las variables cualitativas por medio de frecuencias absolutas y relativas. Las variables de tipo cuantitativo se describieron por medio del número de valores válidos, la media y el intervalo de confianza al 95% para la media, así como para los valores extremos de distribución, la mediana y el rango intercuartílico (IQR).

Aquellas variables que indican el nivel de alérgenos se escribieron igualmente de forma cuantitativa, por medio del número de valores válidos y la mediana de la distribución, y de forma cualitativa, por medio de las frecuencias absolutas y porcentual de positivos al alérgeno (considerando positivos aquellos que estuvieran por encima de 0.35 en los alérgenos AC y los que estaban por encima de 3 en los TC).

Para analizar la relación entre variables cualitativas, se utilizó el test de la Chi cuadrado siempre que cumpliera todos los supuestos necesarios para ello, aplicándose en otro caso el Test Exacto de Fisher.

El análisis de la concordancia en la evaluación de las diferentes sensibilidades de los alérgenos según se realizaran éstas por medio de AC ó TC se realizó por medio del índice *kappa*.

La relación entre las variables cuantitativas se describió dada la naturaleza no gaussiana de los indicadores cuantitativos de niveles de alérgenos, por medio del Coeficiente de Spearman, aplicando el test correspondiente para verificar si dicha correlación era significativamente distinta de cero, aplicándose para la detección de diferencias entre grupos de pacientes el test no paramétricos de la U de Mann-Whitney (con grupos menores de 30).

Finalmente, se aplicaron modelos de regresión logística con el fin de conocer cuál era el nivel de riesgo de ser sensible a los panalérgenos (profilina, polcalcina y LTP) según la sensibilidad de los restantes alérgenos.

8. ASPECTOS ÉTICOS

El estudio se realizó de acuerdo con los principios contenidos en la Declaración de Helsinki¹³⁷ y en cumplimiento con la misma se procedió a obtener la aprobación por parte del Comité Ético de Investigación Clínica del Complejo Hospitalario de Toledo.

8.1. Evaluación beneficio-riesgo para los sujetos en investigación

El estudio no ha conllevado ningún riesgo añadido para los pacientes, ya que no se ha llevado a cabo la realización de prueba alguna no incluida en la rutina habitual de nuestro servicio.

8.2. Hoja de información y formulario de consentimiento

Se informó adecuadamente al paciente, o en su caso, a sus padres, sobre su participación en el estudio clínico, habiendo aclarado en tal caso, que esta participación es voluntaria y no supone ningún cambio ni en su tratamiento ni en su atención médica respecto a los que recibiría en caso de no participar.

En los anexos 1 y 2 se adjuntan respectivamente, la hoja de información al paciente y el formulario de obtención del consentimiento del paciente.

No se incluyó ningún paciente en el estudio sin que hubiera dado su consentimiento. Los documentos de consentimiento informado fueron archivados en la historia clínica de los pacientes quienes fueron informados acerca de la naturaleza del estudio, objetivo y duración. Los pacientes han tenido tiempo suficiente para considerar si querían o no participar en el

estudio. Además, recibieron información de que su participación en el estudio era voluntaria, que en cualquier momento podían decidir abandonar el estudio sin que ello supusiera menoscabo alguno de su relación con el médico, ni afectará al tipo de tratamiento que el paciente debía tomar para el adecuado control de su enfermedad alérgica.

8.3. Confidencialidad de los datos

Para preservar la confidencialidad de los pacientes incluidos en el estudio, según establece la Ley Orgánica de 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, cada paciente fue identificado por un código numérico. De esta manera, se aseguró que ningún dato de los registrados en las hojas de recogida de información pudiera vincularse a un paciente concreto.

Sólo los médicos del Servicio de Alergia tuvimos conocimiento de a qué paciente concreto correspondía cada código, y en ningún caso esta información fue revelada a terceras partes, como por ejemplo, a la empresa externa que se encargó del análisis estadístico de los datos.

Las hojas de recogida de información y de consentimiento informado se archivaron de forma apropiada para asegurar la confidencialidad de los datos, junto con el protocolo y demás material del estudio.

VIII. RESULTADOS

RESULTADOS

1. Características generales de la muestra

Se ha incluido información de 180 pacientes alérgicos provenientes de 5 diferentes zonas de residencia (tabla 5).

LUGAR DE RESIDENCIA	N	%
LA JARA	5	2.78
LA MANCHA	32	17.78
LA SAGRA	77	42.78
MONTES TOLEDO	25	13.89
TOLEDO	41	22.78

Tabla 5. Distribución de los pacientes según sus zonas de residencia.

La muestra en estudio está equilibrada según sexo (tabla 6), y la edad de los pacientes se encuentre entre los 5 y los 54 años, siendo la media de edad 26 años (tabla 7).

SEXO	N	%
VARÓN	88	48,9
MUJER	92	51,1

Tabla 6. Sexo de los pacientes incluidos.

	N	Media	Desv. Est.	Min.	Max.	Mediana	IQR	I.C. 95%	
								Inf.	Sup.
EDAD	180	26.1	11.7	5	54	27	17	24.4	27.8

Tabla 7. Edad de los pacientes incluidos en el estudio

Desv. Est.: Desviación estándar. Min.: Mínimo. Max.: Máximo. IQR: Rango intercuartílico. IC.: intervalo de confianza. Inf.: Inferior. Sup.: Superior.

Por grupos de edad (tabla 8), se observa que el 19% de los pacientes son pacientes pediátricos (14 años o menos).

GRUPOS DE EDAD	N	%
14 AÑOS Ó MENOS	34	18.89
15 AÑOS Ó MÁS	146	81.11

Tabla 8. Grupos de edad

2. Descripción de la enfermedad

El tiempo de evolución de la enfermedad está entre los 2 años y los 30 años (tabla 9).

TIEMPO DE EVOLUCIÓN	Media	Desv. Est.	Min.	Max.	Mediana	IQR	I.C. 95%	
							Inf.	Sup.
	8.3	6.4	2	30	5	9	7.3	9.2

Tabla 9. Tiempo de evolución de la enfermedad

La presencia de los síntomas de los pacientes en los diferentes meses del año queda reflejada en la figura 47 y en la tabla 10. Como puede observarse, salvo en diciembre, en el resto de los meses pueden existir síntomas de polinosis. Se observa un claro incremento desde el mes de marzo y continúa subiendo en abril y en mayo. Los niveles de síntomas en junio son también muy elevados, pero éstos disminuyen a partir de este mes con un discreto repunte en septiembre.

MESES CON SÍNTOMAS	N	%	MESES CON SÍNTOMAS	N	%
ENERO	12	6.7	JULIO	30	16.7
FEBRERO	20	11.1	AGOSTO	24	13.3
MARZO	38	21.1	SEPTIEMBRE	31	17.2
ABRIL	129	71.7	OCTUBRE	19	10.6
MAYO	174	96.7	NOVIEMBRE	1	0.6
JUNIO	164	91.1	DICIEMBRE	0	0.00

Tabla 10. Meses con presencia de síntomas.

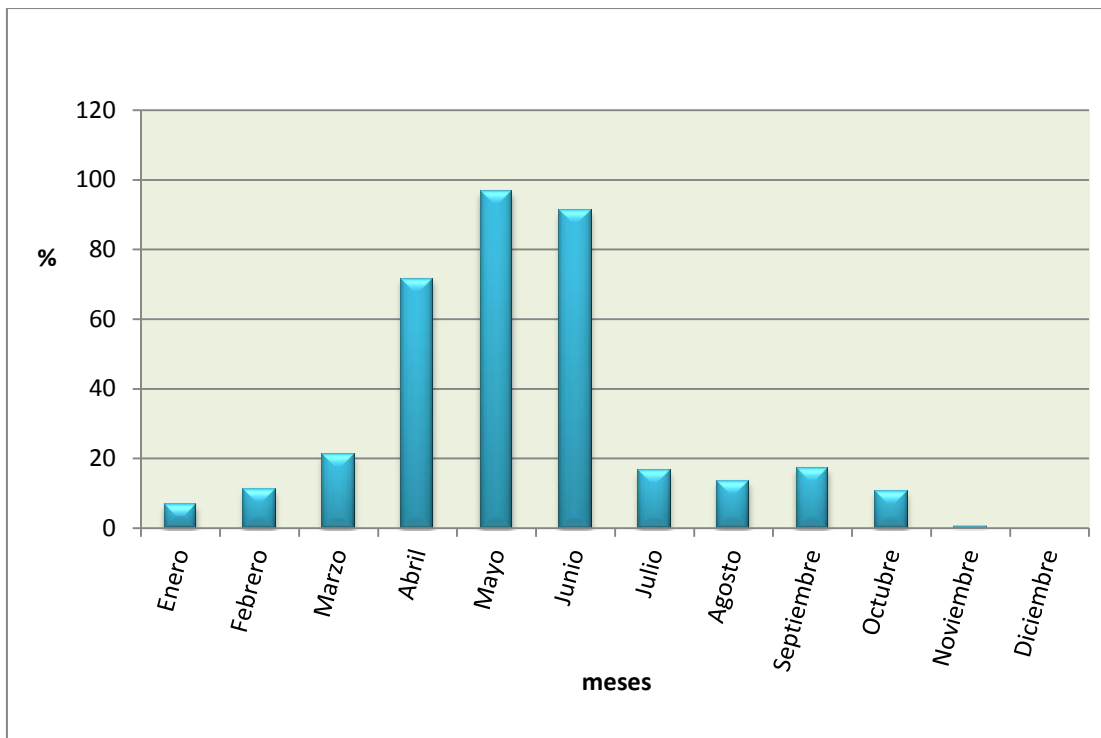


Figura 47. Distribución de los síntomas de los pacientes durante los meses del año

Con respecto a la enfermedad alérgica respiratoria, los pacientes incluidos en el estudio presentaban síntomas de asma, de rinitis y de conjuntivitis o asociaciones entre ellos (figura 48). Se observa que todos los pacientes excepto uno, presentan rinitis o rinitis y conjuntivitis. Del total de pacientes incluidos hay 70 (39%) que tienen asma. Sólo un paciente presentaba asma sin referir síntomas nasales u oculares.

Los pacientes afectados de síndrome de alergia oral (SAO), así como los afectados por otras alergias alimentarias se muestran en las tablas 11 y 12 respectivamente. Casi un 12 % de los pacientes presentaban síndrome de alergia oral asociado a su polinosis. Un 6,7 % presentaban otras alergias alimentarias.

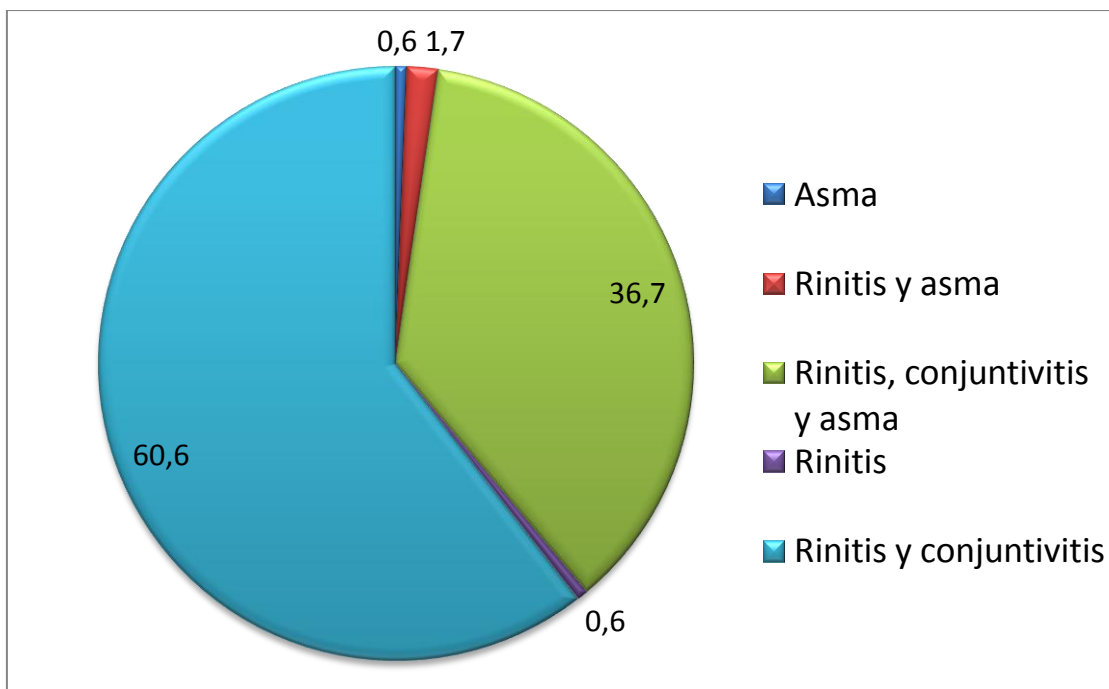


Figura 48. Distribución de frecuencias de síntomas de enfermedad alérgica respiratoria. Con puntuado los pacientes con asma.

SAO	N	%
SI	21	11,7
NO	159	88,3

Tabla 11. Síndrome de Alergia Oral (SAO).

Otras alergias alimentarias	N	%
SI	12	6,7
NO	168	93,3

Tabla 12. Otras alergias alimentarias

Los veintiún pacientes afectados de Síndrome de Alergia Oral (11,7%) y los doce afectados por otras enfermedades de alergia a alimentos (6,7%) pertenecen a todas las zonas de residencia contempladas. Los alimentos implicados son muy diversos e incluyen frutas (melón, sandía, kiwi, melocotón, manzana, mango, etc.), tomate, berenjena, frutos secos (cacahuete, pistacho, etc.), huevo y mariscos. Los doce pacientes afectados por otras alergias alimentarias incluyen a ocho con urticaria (dos por frutas, una por frutas y frutos secos, cuatro por mariscos y una por mariscos y huevo), y cuatro con anafilaxia (una por manzana, otra por varias frutas y frutos secos y dos más por mariscos).

3. Determinación de la prevalencia de sensibilización a los diferentes alérgenos

3.1. Determinación de la prevalencia de sensibilización a los extractos de pólenes completos, profilina, polcalcina y piel de melocotón mediante pruebas cutáneas.

Considerando el porcentaje de pacientes sensibilizados por prueba cutánea, tomando como umbral de sensibilidad que la semisuma de los diámetros mayor y menor de las pápulas sea de 3, resulta que la mayor prevalencia de sensibilización cutánea se produjo frente a los extractos de pólenes de *Phleum pratense* (86,2%) y *Trisetum paniceum* (81,4%) que son gramíneas. Se ha encontrado una prevalencia alta también al extracto de *Chenopodium album* (78,4 %) y *Plantago lanceolata* (77,9 %), seguidos de *Phagmites communis* (74,1 %), que es otra gramínea, *Olea europea* (73,7 %), y *Salsola kali* (61,5%). Siguen en frecuencia *Cupressus sempervirens* (55 %), *Platanus acerifolia* (46%) y *Artemisia vulgaris* (37,5 %).

En cuanto a la sensibilización a panalérgenos el que con más frecuencia se observa es la polcalcina con un 36,3 %, seguido por la profilina con un 33,9 %, y por último por la piel de melocotón, fuente de LTP con un 14% (tabla 13 y figura 49).

Del total de pacientes estudiados hay 14 monosensibilizados (8%), 15 sensibilizados a dos alérgenos (8,6%), 14 sensibilizados a 3 alérgenos (8%) y 136 sensibilizados a 4 ó más alérgenos (75,4%) (figura 50). Por tanto, la polisensibilización a pólenes es la situación predominante entre los pacientes incluidos en el estudio.

ALÉRGENOS PRUEBA CUTÁNEA	POSITIVOS		
	N	%	MEDIANA DEL DIÁMETRO MEDIO (mm)
<i>OLEA EUROPAEA</i>	129	73.71	7.50
<i>PHLEUM PRATENSE</i>	150	86.21	7.75
<i>CUPRESSUS ARIZÓNICA</i>	94	54.97	6.00
<i>CYNODON DACTYLON</i>	123	71.93	5.50
<i>SALSOLA KALI</i>	104	61.54	6.25
<i>ARTEMISIA VULGARIS</i>	63	37.50	5.50
<i>PLANTAGO LANCEOLATA</i>	134	77.91	5.50
<i>TRisetum PANICEUM</i>	140	81.40	6.00
<i>PHRAGMITES COMMUNIS</i>	126	74.12	5.50
PIEL DE MELOCOTÓN	23	14.02	5.00
<i>PLATANUS ACERIFOLIA</i>	77	45.83	5.50
<i>CHENOPODIUM ALBUM</i>	134	78.36	5.50
POLCALCINA	61	36.31	5.00
PROFILINA	57	33.93	6.00

Tabla 13. Frecuencia de sensibilización a pólenes, profilina, polcalcina y piel de melocotón mediante pruebas cutáneas, y mediana del diámetro de las pápulas.

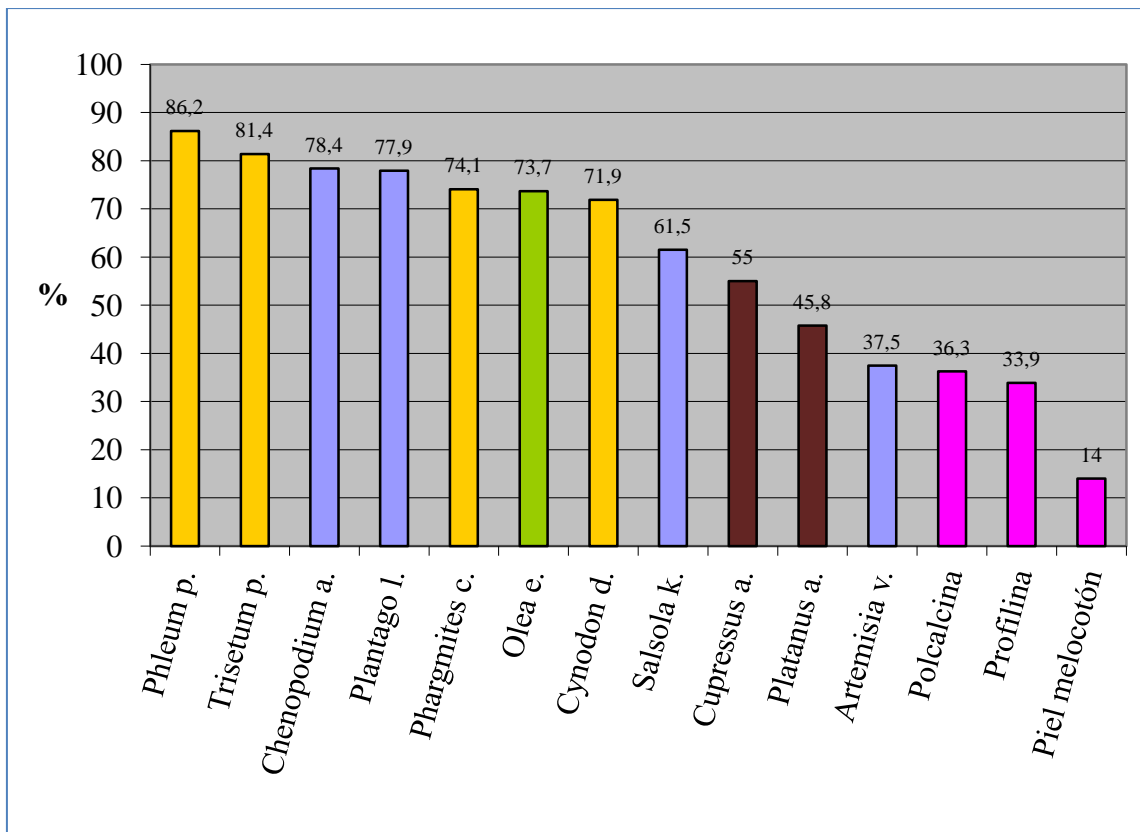


Figura 49. Frecuencia de sensibilización a pólenes, profilina, polcalcina y piel de melocotón mediante pruebas cutáneas en orden decreciente.

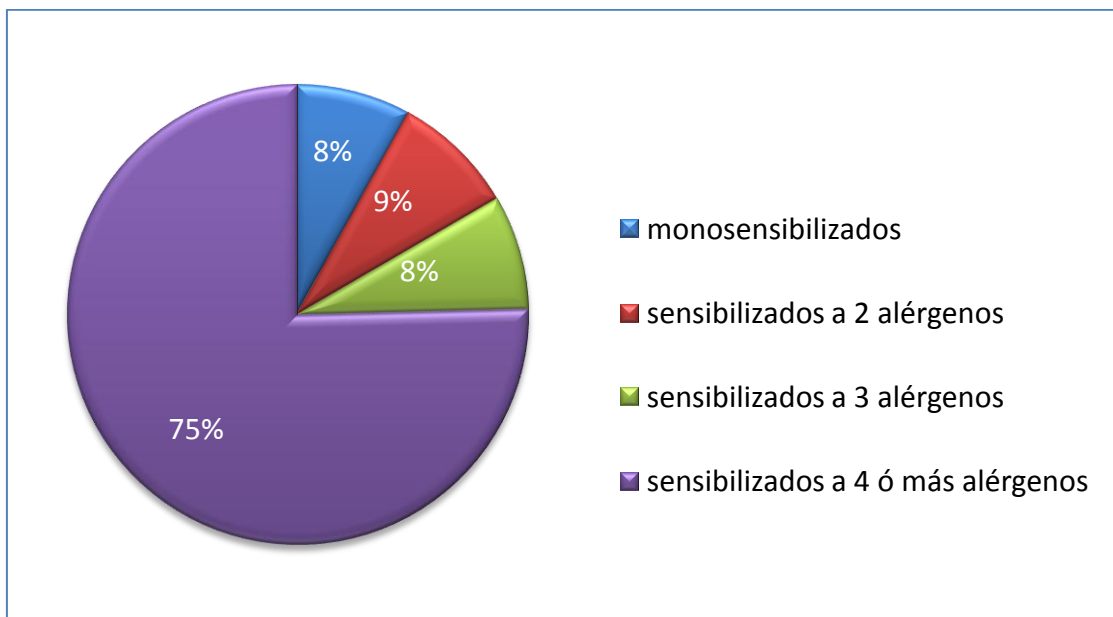


Figura 50. Distribución de pacientes sensibilizados a uno o más alérgenos mediante pruebas cutáneas

Los 14 pacientes monosensibilizados se distribuyen según se refleja en la figura 51. El alérgeno más frecuentemente encontrado en estos casos es *Olea europea* con un 45%. Los cinco aeroalérgenos restantes se encuentran a partes iguales.

Al analizar los resultados puede observarse que no hay ningún paciente monosensibilizado a *Plántago lanceolata*, pero hay 102 pacientes con pruebas cutáneas positivas a dicho polen (78 %), en su mayoría pacientes sensibilizados a 4 ó más pólenes. Sólo en tres pacientes aparece formando parte de una sensibilización a tres pólenes (en un paciente sensibilizado a *Olea europea* y *Chenopodium album*, y en dos pacientes con gramíneas y *Chenopodium album*).

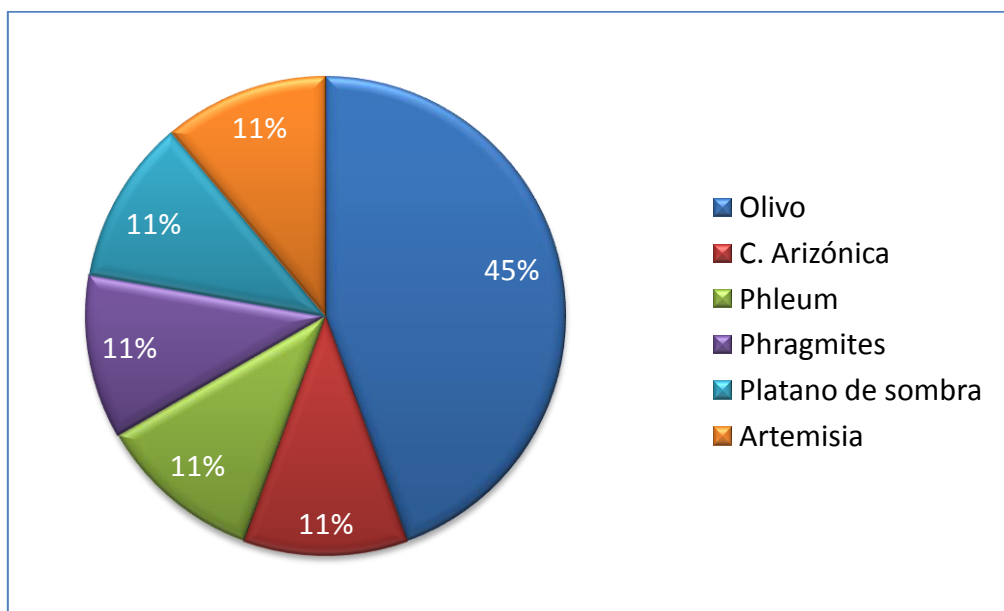


Figura 51. Distribución de los aeroalérgenos responsables de monosensibilización mediante pruebas cutáneas.

En cuanto a la sensibilización a panalérgenos, se observa que el 51,4% de los pacientes incluidos en el estudio están sensibilizados a uno o a varios

(figura 52). Teniendo en cuenta el total de pacientes sensibilizados a panalérgenos, la polcalcina es el más frecuentemente encontrado (36,3%), en segundo lugar la profilina (33,9%), y por último la piel de melocotón como fuente de LTP (14 %).

El 55,6 % de los pacientes sensibilizados a panalérgenos lo están sólo a uno de ellos. En los pacientes monosensibilizados a panalérgenos el orden de frecuencia de sensibilización es profilina (25,6%), polcalcina (24,4%) y LTP Pru p3 (5,6%). El resto (44.5 %) están sensibilizados a dos ó a los tres panalérgenos estudiados. Puede observarse, por tanto, que la monosensibilización a panalérgenos es la situación más frecuentemente encontrada entre los pacientes sensibilizados a panalérgenos (figura 53).

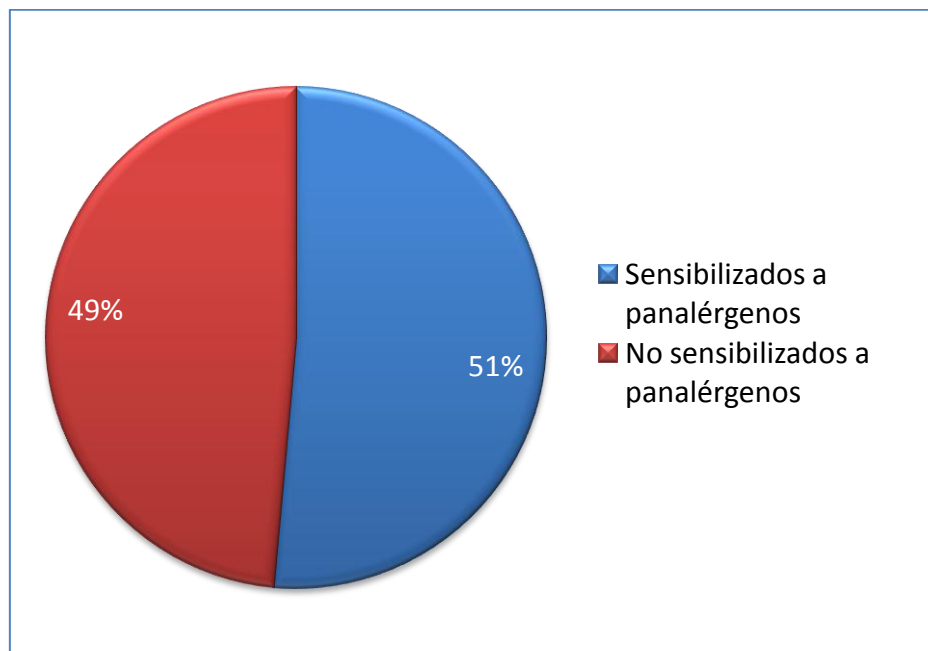


Figura 52. Porcentaje de pacientes sensibilizados a panalérgenos mediante pruebas cutáneas.

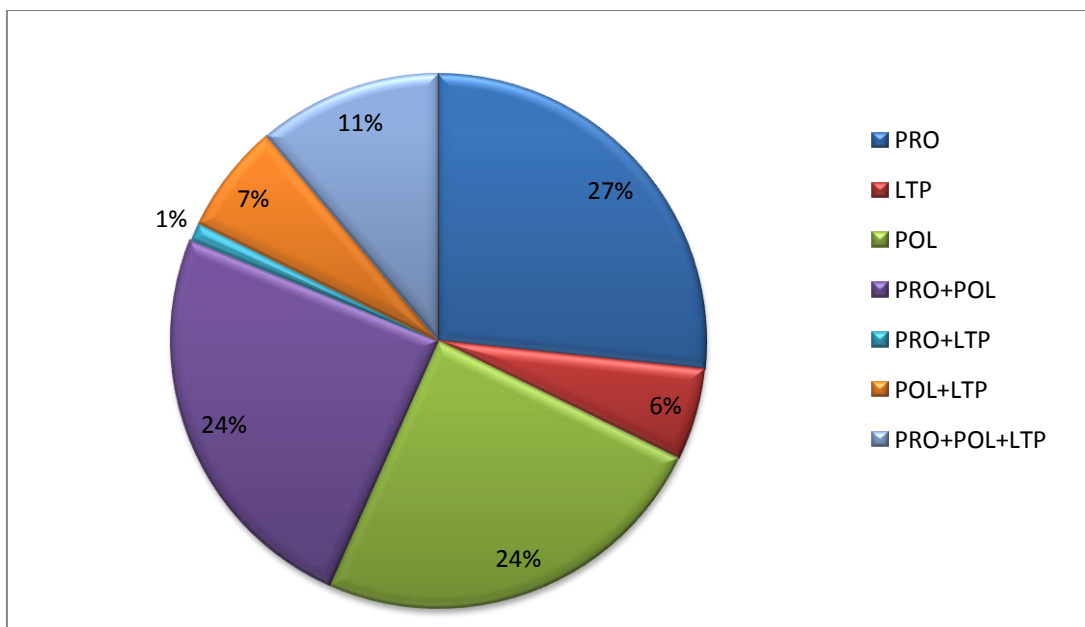


Figura 53. Distribución de frecuencias de sensibilización en los pacientes sensibilizados a panalérgenos mediante pruebas cutáneas. PRO: profilina. LTP: proteína transferidora de lípidos. POL: polcalcina.

3.2. Determinación de la prevalencia de sensibilización a los extractos completos por IgE CAP (nivel de sensibilidad >0,35 kU/l).

Cabe recordar que la determinación de IgE específica mediante CAP se ha realizado sólo en aquéllos pacientes en los que se ha considerado necesario para dar pronta respuesta a las necesidades asistenciales que se han planteado durante la realización del estudio, para evitar actitudes maleficientes que pudieran generarse al retrasar una decisión terapéutica adecuada siguiendo la buena praxis asistencial que se lleva a cabo en el servicio de Alergología de Toledo.

En las siguientes tablas (14 y 15) se exponen los datos correspondientes a la determinación de IgE específica mediante CAP, tanto en niños como en adultos.

ALERGENOS IgE	N	MEDIANA	POSITIVOS		
			N	%	MEDIANA
Dermatophagoides pteronysinus	4	0.99	3	75.00	1.60
Dermatofagoides farinae	4	1.57	3	75.00	2.67
Lepidoglyphus destructor	2	24.41	2	100.0	24.41
Olivo	24	3.30	21	87.50	3.87
Plátano de sombra	12	2.18	12	100.0	2.18
Arizonica	14	1.16	12	85.71	1.53
Alternaria	5	1.31	3	60.00	3.14
Gramma mayor	20	10.50	20	100.0	10.50
Hierba timotea	33	20.60	31	93.94	23.30
Carrizo	20	14.20	20	100.0	14.20
Gramma	4	19.86	4	100.0	19.86
Plantago	23	0.60	17	73.91	1.61
Artemisia	5	0.34	2	40.00	1.00
Salsola kali	17	1.24	12	70.59	3.01
Cenizo	24	0.96	19	79.17	1.29
Gato	8	1.02	5	62.50	1.13
Perro	4	0.61	3	75.00	0.80
Melocotón	4	1.01	4	100.0	1.01
Espiguilla	1	100.00	1	100.0	100.00
Abedul	5	4.48	4	80.00	5.15

Tabla 14. Sensibilidad por IgE CAP en pacientes pediátricos (nivel de sensibilidad >0.35)

ALERGENOS IgE	N	MEDIANA	POSITIVOS		
			N	%	MEDIANA
Dermatophagoides pteronysinus	16	0.36	8	50.00	1.06
Dermatofagoides farinae	16	0.34	7	43.75	0.53
Lepidoglyphus destructor	2	0.41	1	50.00	0.48
Olivo	115	4.95	102	88.70	5.45
Plátano de sombra	54	1.75	40	74.07	3.42
Arizonica	90	1.52	61	67.78	4.04
Alternaria	14	0.34	2	14.29	2.67
Gramma mayor	84	4.73	74	88.10	6.61
Hierba timotea	130	11.50	115	88.46	16.00
Carrizo	89	6.24	84	94.38	6.51
Gramma	16	20.50	13	81.25	27.50
Plantago	102	0.65	62	60.78	1.90
Artemisia	47	2.59	41	87.23	3.14
Salsola kali	97	2.64	75	77.32	4.38
Cenizo	112	0.71	68	60.71	1.73
Gato	16	2.71	13	81.25	2.71
Perro	19	3.20	16	84.21	3.65
Melocotón	7	1.99	7	100.0	1.99
Espiguilla	11	29.90	8	72.73	58.50
Abedul	19	5.90	15	78.95	6.65

Tabla 15. Sensibilidad por IgE CAP en pacientes adultos (nivel de sensibilidad >0.35)

Como puede observarse en la figura 54, salvo con Melocotón, en que los niveles de positividad de la IgE específica ocurre en todos los pacientes en que se ha solicitado, en el resto de alérgenos disminuyen los porcentajes de positividad, que van desde el 95,4% en el caso del Carrizo hasta el 63,2% en el caso del Plantago. En la figura 55 se exponen los valores de la mediana de la IgE específica obtenidos en kU/l.

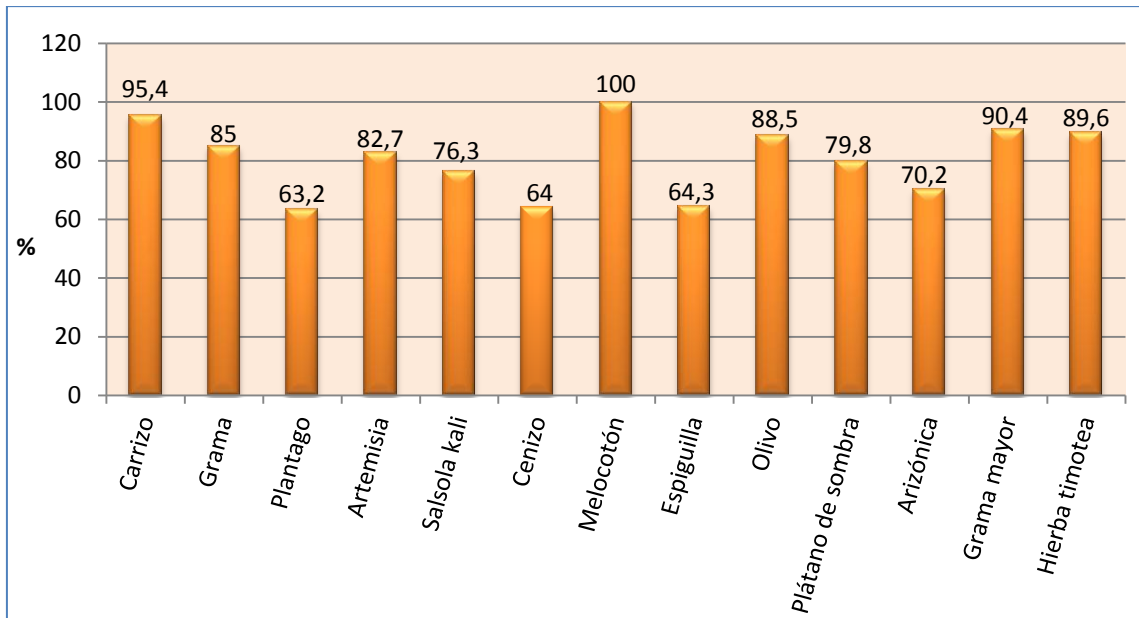


Figura 54. Porcentaje de positividad de IgE específica (CAP) de los pacientes a los que se les ha solicitado (con pruebas cutáneas positivas).

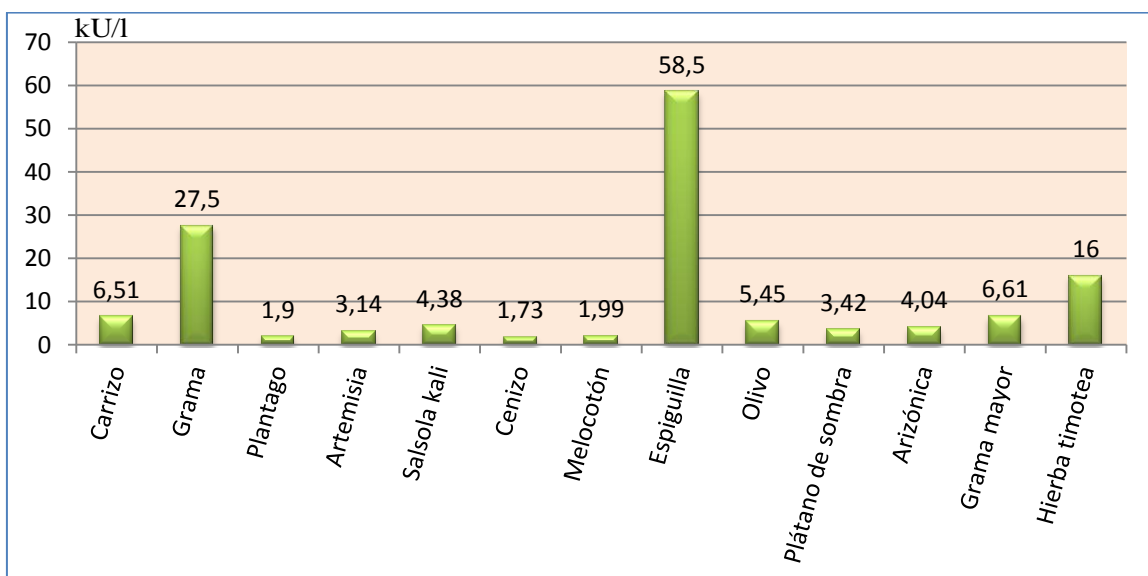


Figura 55. Valores de la mediana de la Ig E específica (kU/l)

3.3. Determinación de la prevalencia de sensibilización a las diferentes moléculas alérgicas mediante el método Advia Centauro (AC).

Se observa que la mayor prevalencia correspondió a Phl p 1 (75,3 %) y Ole e 1 (59,9 %), alérgenos mayoritarios de gramíneas y olivo respectivamente. A continuación sigue Cyn d 1 (5,2%) alérgeno mayor de *Cynodon dactylon*, que es una gramínea, seguidos por el alérgeno mayor de *Cupressus sempervirens* Cup s 1 (45,8 %) y por otro alérgeno mayor perteneciente a la familia de las gramíneas como el Phl p 5 por (43,1 %), al que sigue Sal k 1, alérgeno mayor de *Salsola kali* (33,5 %). La sensibilización a Ole e 9, alérgeno menor del polen de olivo afecta al 6 % de los pacientes incluidos en el estudio (figura 56).

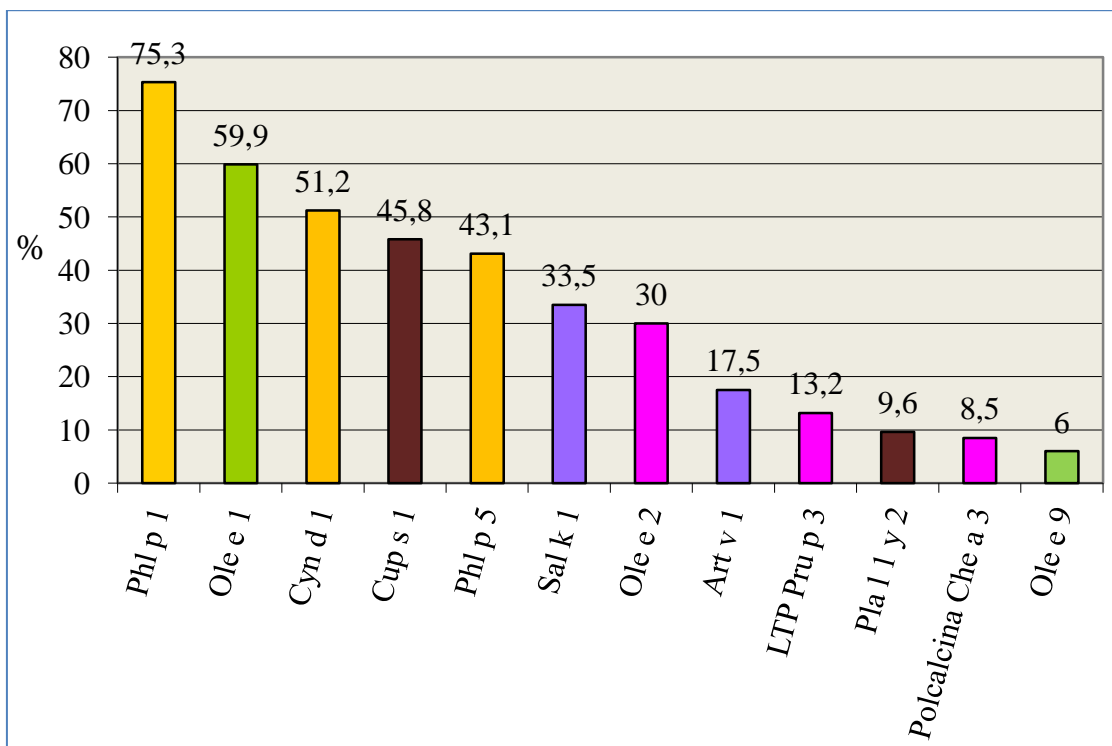


Figura 56. Prevalencia de sensibilización a las moléculas alérgicas según AC

En la figura 57 podemos observar los resultados obtenidos de la mediana de la IgE específica. Destacan los valores de Phl p 5, seguidos de Phl p 1, ambos alérgenos de las gramíneas

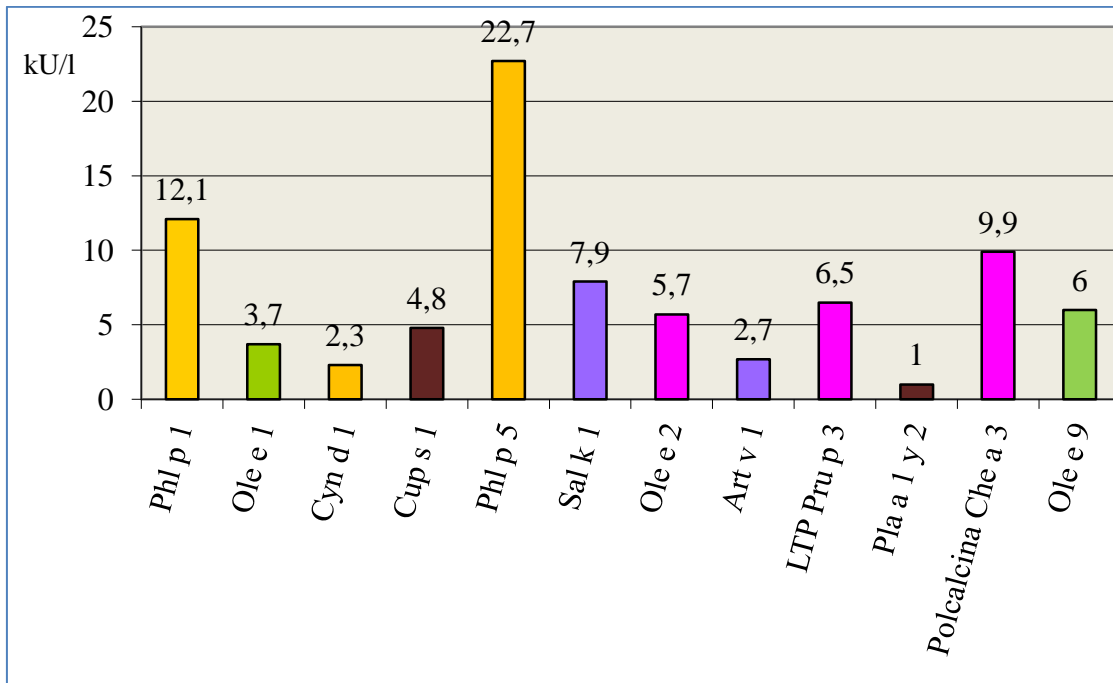


Figura 57. Mediana de los valores de IgE específica (kU/l)

De los resultados obtenidos puede observarse que predominan ciertos perfiles de sensibilización a pólenes en la población estudiada. El 24,9 % de los pacientes de la muestra están monosensibilizados, es decir, están sensibilizados sólo a un alérgeno. Por lo tanto, las $\frac{3}{4}$ partes de los pacientes están polisensibilizados (figura 58).

El polen de gramíneas es el que con mayor frecuencia ha sido responsable de monosensibilizaciones en nuestros pacientes (11,6 %). El 4 % de los pacientes están monosensibilizados a olivo, el 2,9 % a artemisa y lo mismo a salsola y el 2,3 % lo están a cupresáceas.

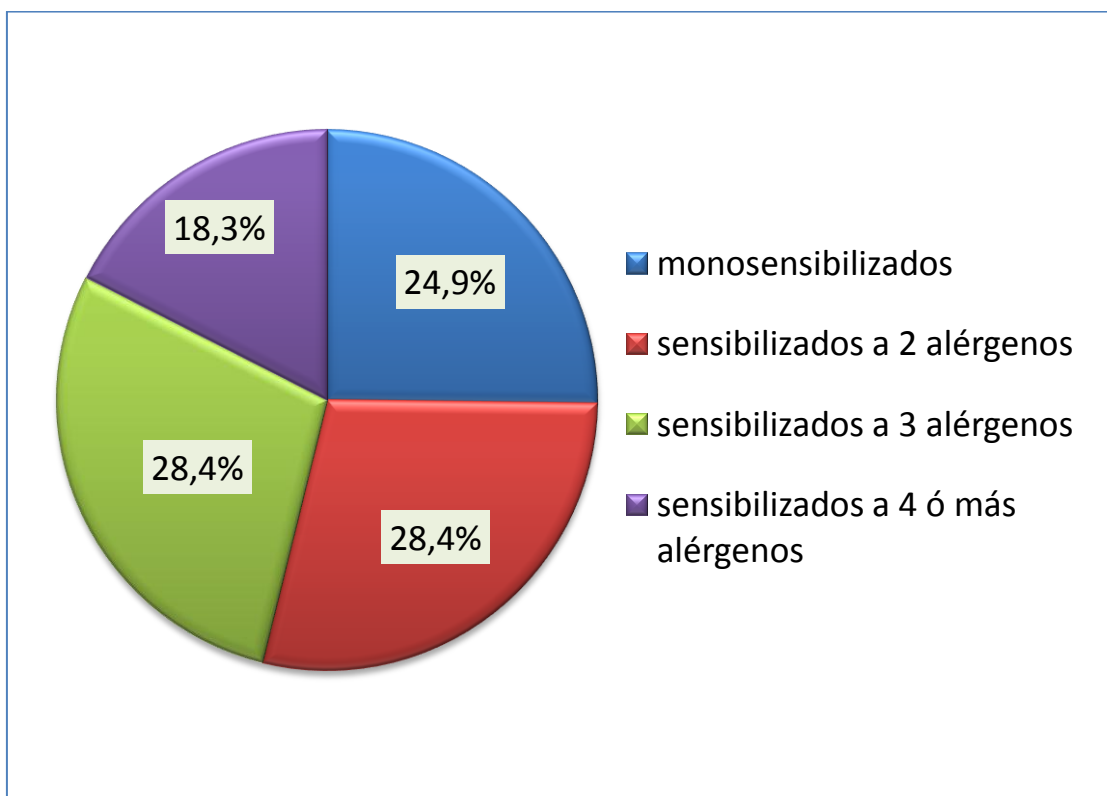


Figura 58. Distribución de monosensibilizaciones y polisensibilizaciones a dos, tres, ó cuatro ó más alérgenos.

En el 75,1 % de los pacientes, que están polisensibilizados, se encuentran diversas asociaciones de sensibilización. Cabe destacar que en todas las asociaciones halladas participan las gramíneas (figura 59).

Cuando la sensibilización es a dos pólenes, lo que ocurre en el 28,4 % de todos los pacientes, destaca en frecuencia la asociación de sensibilización a gramíneas y a olivo (11 %), seguido por la asociación de gramíneas y cupresáceas (7,5 %). La asociación de gramíneas y salsola es responsable del 3,5 % de los casos.

Cuando la sensibilización es a tres pólenes, lo que ocurre también en el 28,4 % de los pacientes, la asociación de gramíneas, olivo y cupresáceas aparece como responsable del 11 % de los pacientes, mientras que

gramíneas, olivo y salsola aparecen en el 6,4 % de los pacientes. La asociación de sensibilización a artemisia, olivo y gramíneas afecta al 4% de los pacientes incluidos en el estudio. Hay un 17,3 % de pacientes que están sensibilizados a 4 ó más aeroalérgenos. La polisensibilización a cupresáceas, olivo, gramíneas, plátano de sombra y salsola da cuenta del 4 % de los pacientes estudiados y la asociación de sensibilización a artemisia, cupresáceas, olivo, gramíneas y salsola del 3,5%.

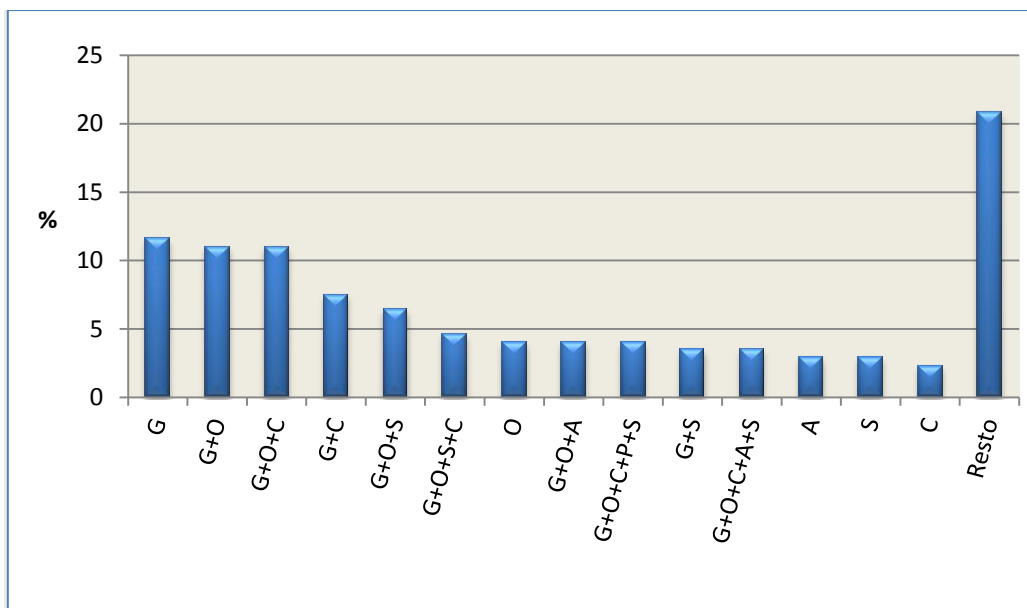


Figura 59. Frecuencia de sensibilización a los diferentes pólenes. G: gramíneas. O: Olivo. C: cupresáceas. S: salsola. A: artemisia. P: plátano de sombra.

En cuanto a las familias de panalérgenos estudiadas, se observa que el 41,7% de los pacientes incluidos en el estudio están sensibilizados a uno o a varios (figura 60). Destaca la profilina Ole e 2 con una prevalencia de 29,1 % de todos los pacientes polínicos incluidos. La LTP Pru p 3 es la segunda en frecuencia con un 13,1 % y por último los niveles de

sensibilización a polcalcina Che a 3 aparecen en el 8,6 % de los pacientes incluidos.

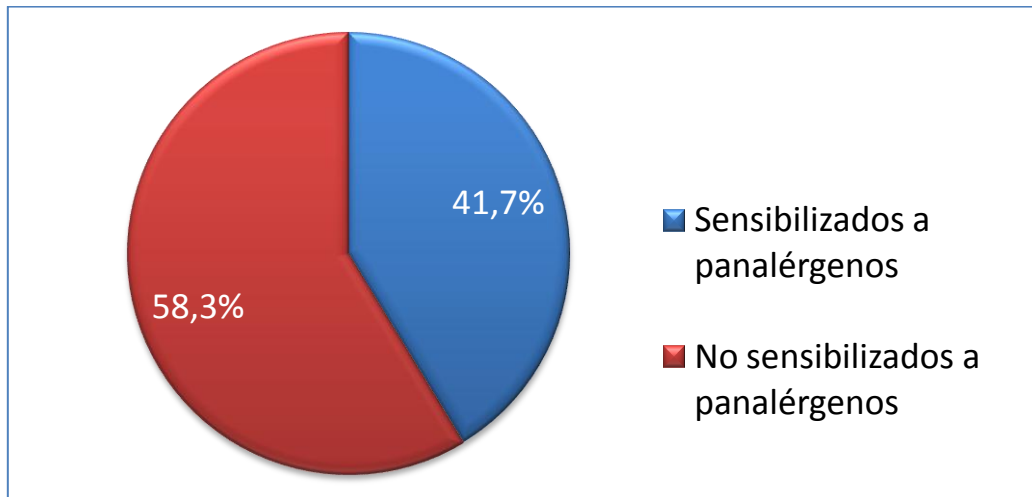


Figura 60. Porcentaje de pacientes sensibilizados a panalérgenos mediante AC

Más de las tres cuartas partes (76,7%) de los pacientes sensibilizados a panalérgenos están sensibilizados sólo a uno. El resto (23,3%) lo están a dos ó a los tres panalérgenos estudiados (figura 61).

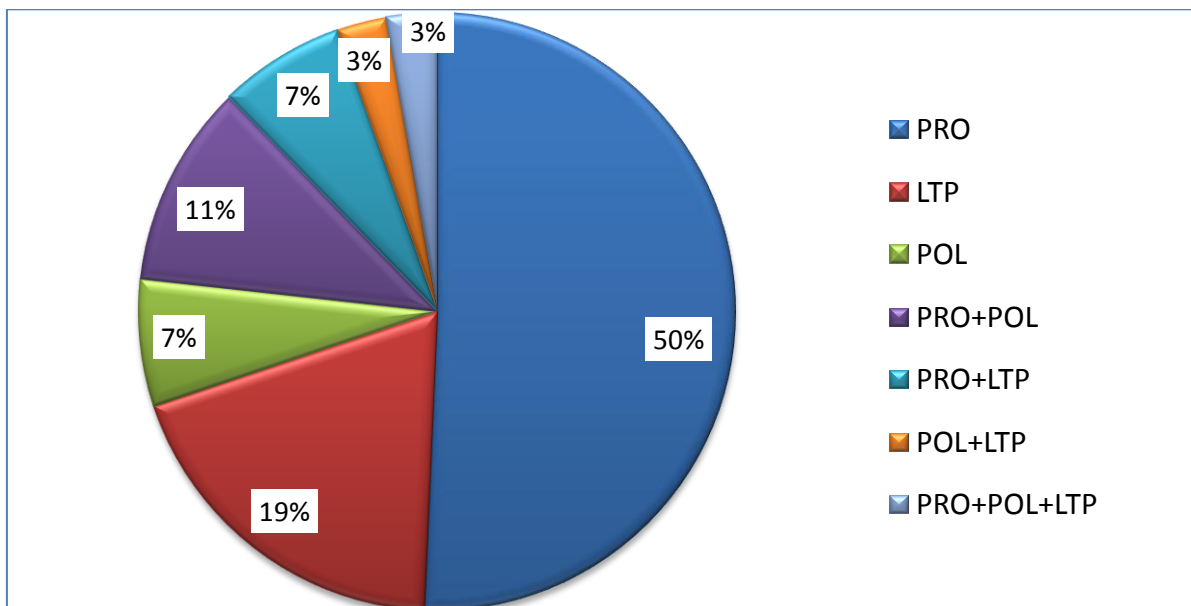


Figura 61. Distribución de frecuencias de sensibilización en los pacientes sensibilizados a panalérgenos mediante Advia Centauro. PRO: profilina. LTP: proteína transferidora de lípidos. POL: polcalcina.

3.4. Comparación de la sensibilización a pólenes y a panalérgenos mediante pruebas cutáneas y método Advia Centauro.

Como se observa en la figura 62 el porcentaje de pacientes sensibilizados sólo a un alérgeno valorado mediante pruebas cutáneas es del 8%. El resto lo están a 2 ó más alérgenos. Un 75,4% de los pacientes están polisensibilizados a 4 ó más alérgenos. Estos datos son muy diferentes a los obtenidos mediante IgE por el método Advia Centauro. Con este método casi la cuarta parte de los pacientes (24,9%) están monosensibilizados. Se encuentra un 18,3% de pacientes polisensibilizados a 4 ó más alérgenos, menos de la cuarta parte que lo obtenido mediante pruebas cutáneas.

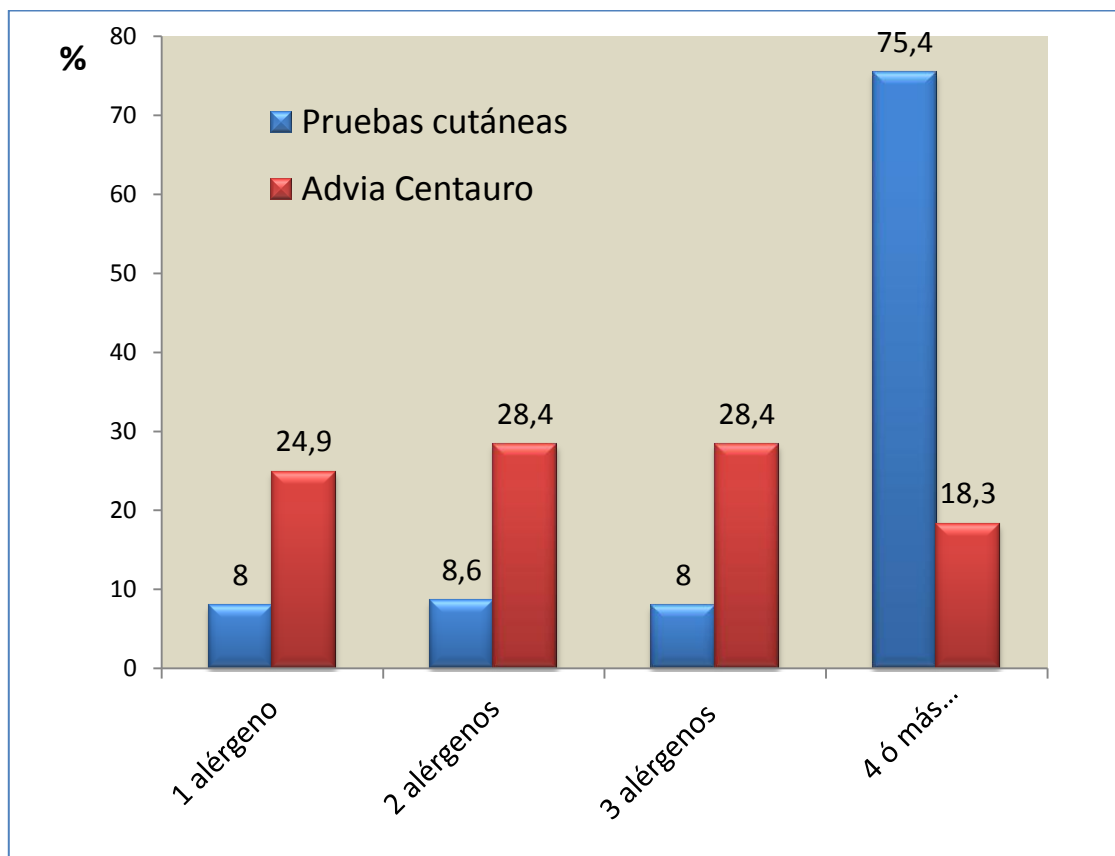


Figura 62. Comparación de la sensibilización a pólenes y a panalérgenos mediante pruebas cutáneas y método Advia Centauro.

En la figura 63 se exponen los resultados obtenidos mediante ambas técnicas diagnósticas sobre la sensibilización o no a panalérgenos. Mediante pruebas cutáneas se diagnostican un 51% de pacientes sensibilizados a panalérgenos. Esta cifra baja a un 41% mediante Advia Centauro.

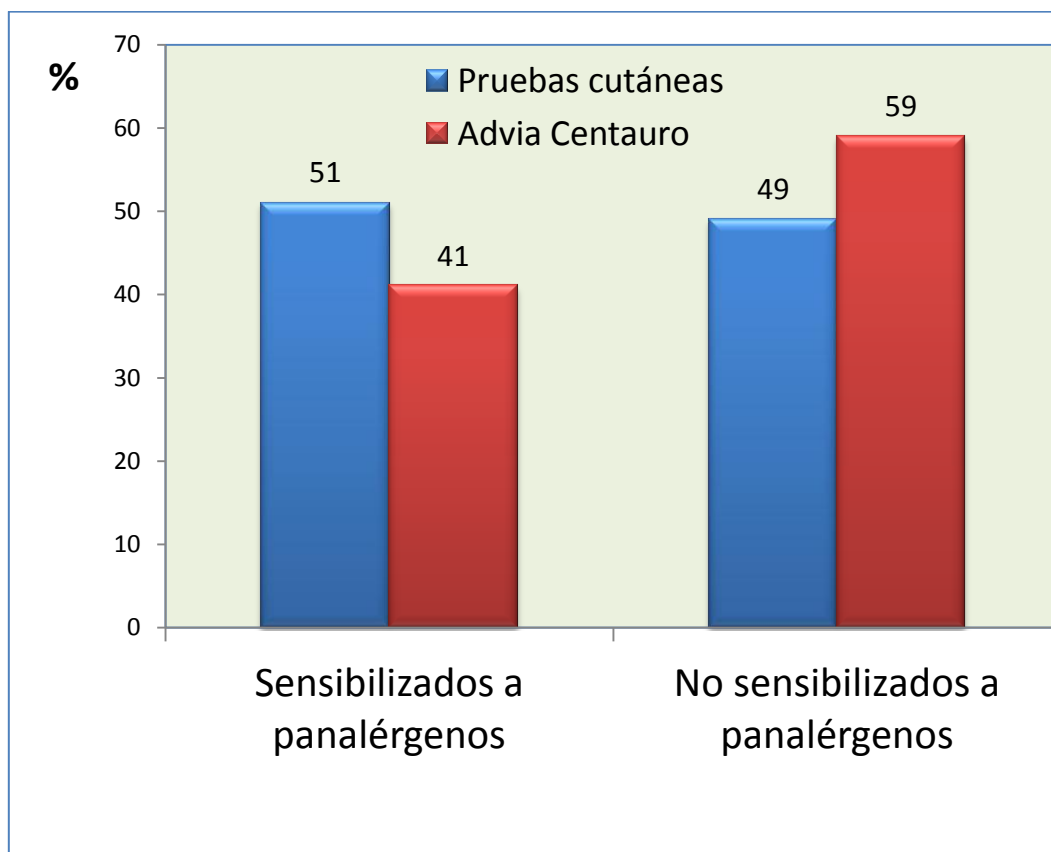


Figura 63. Distribución de frecuencias de los pacientes sensibilizados y no sensibilizados a panalérgenos mediante pruebas cutáneas y AC.

4. Perfil de sensibilización de los pacientes por zonas de residencia.

4.1. Perfil de sensibilización de los pacientes por zonas de residencia mediante pruebas cutáneas.

En la tabla 16 se presentan los datos de sensibilización a los alérgenos estudiados mediante prueba cutánea teniendo en cuenta el lugar de residencia de los pacientes. Puede observarse cómo no hay diferencias estadísticamente significativas con ninguno de ellos. En el caso concreto de La Jara, con tan sólo cinco pacientes es difícil sacar conclusiones válidas.

RESIDENCIAS	LA JARA		LA MANCHA		LA SAGRA		MONTES TOLEDO		TOLEDO CAPITAL		P VALOR	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
<i>OLEA EUROPAEA</i>	2	40.0	20	64.5	55	73.3	19	76.0	33	84.6	0.1496	0.1408
<i>PHLEUM PRATENSE</i>	4	80.0	25	80.7	69	92.0	21	84.0	31	81.6	0.4236	0.2817
<i>CUPRESSUS ARIZÓNICA</i>	2	40.0	14	43.8	36	50.0	16	64.0	26	70.3	0.1296	0.1228
<i>CYNODON DACTYLON</i>	3	60.0	20	62.5	57	79.2	16	66.7	27	71.1	0.4097	0.3420
<i>SALSOLA KALI</i>	2	40.0	23	71.9	44	62.9	14	58.3	21	55.3	0.5229	0.5188
<i>ARTEMISIA VULGARIS</i>	1	20.0	9	28.1	25	35.7	8	33.3	20	54.1	0.1678	0.1823
<i>PLANTAGO LANCEOLATA</i>	3	60.0	26	81.3	56	77.8	21	87.5	28	71.8	0.5138	0.4773
<i>TRisetum PANICEUM</i>	3	60.0	22	73.3	61	82.4	22	88.0	32	84.2	0.4379	0.3979
<i>PHRAGMITES COMMUNIS</i>	3	60.0	20	64.5	56	78.8	19	79.2	28	71.8	0.5129	0.4686
PIEL DE MELOCOTÓN	1	20.0	3	9.38	9	13.0	4	17.4	6	17.1	0.8655	0.7523
<i>PLATANUS ACERIFOLIA</i>	3	60.0	12	37.5	35	48.6	10	43.5	17	47.2	0.8084	0.8121
<i>CHENOPODIUM ALBUM</i>	2	40.0	29	90.6	57	79.2	21	87.5	25	65.8	0.0179	0.0200
POLCALCINA	2	40.0	13	40.6	24	33.8	10	41.7	12	33.3	0.9223	0.9044
PROFILINA	2	40.0	8	25.0	23	32.4	9	37.5	15	41.7	0.6639	0.6423

Tabla 16. Sensibilización de los pacientes por prueba cutánea y lugar de residencia (nivel de sensibilidad $\emptyset > 3$).

4.2. Perfil de sensibilización de los pacientes por zonas de residencia por IgE Advia Centauro (nivel de sensibilidad >0,35).

En la tabla 17 se muestran los resultados de los niveles de sensibilización a las moléculas alérgicas estudiadas mediante IgE por el método Advia Centauro. Como puede apreciarse no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de sensibilización a los diferentes alérgenos y el lugar de residencia.

LUGARES DE RESIDENCIA	LA JARA		LA MANCHA		LA SAGRA		MONTES TOLEDO		TOLEDO		P VALOR	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
Art v 1	.	.	2	13.3	15	34.1	4	28.6	8	38.1	0.2679	0.3042
Cup s 1	2	66.7	12	63.2	29	59.2	14	77.8	18	62.1	0.7325	0.7449
Ole e 9	.	.	3	18.8	5	10.4	1	7.7	1	4.00	0.5354	0.6202
Ole e 1	2	40.0	14	63.6	44	77.2	13	61.9	26	74.3	0.2906	0.2686
Ole e 2	1	50.0	7	77.8	19	79.2	8	80.0	14	87.5	0.7829	0.6839
Phl p 1	4	100	18	85.7	55	96.5	18	85.7	30	88.2	0.3620	0.2600
Phl p 5	2	40.0	8	36.4	31	54.4	15	68.2	16	50.0	0.2943	0.2984
Pla a 1 y 2	.	.	4	18.2	6	10.9	2	10.5	4	13.3	0.8355	0.8919
Polcalcina Che a 3	1	100	1	20.0	6	66.7	3	75.0	3	33.3	0.2146	0.2497
LTP Pru p 3	1	25.0	6	24.0	6	12.0	3	15.0	6	16.2	0.7317	0.6120
Sal k 1	.	.	13	52.0	22	44.9	8	40.0	12	37.5	0.4583	0.5302

Tabla 17. Sensibilización por IgE Advia Centauro frente a lugar de residencia (nivel de sensibilización >0,35).

5. Perfil de sensibilización de los pacientes según grupos de edad

A continuación se muestra la sensibilización de los diferentes grupos de pacientes según el grupo de edad, ya sean pacientes pediátricos (con 14 ó menos años) o pacientes adultos (con más de 14 años).

5.1. Sensibilización de los pacientes pediátricos

5.1.1. Sensibilización de los pacientes pediátricos mediante prueba cutánea.

A continuación se muestra la sensibilización de los pacientes pediátricos a los alérgenos valorados mediante prueba cutánea. Se presenta tanto la prevalencia de sensibilización (figura 64), como la mediana del diámetro medio (mm) de las pruebas cutáneas (figura 65).

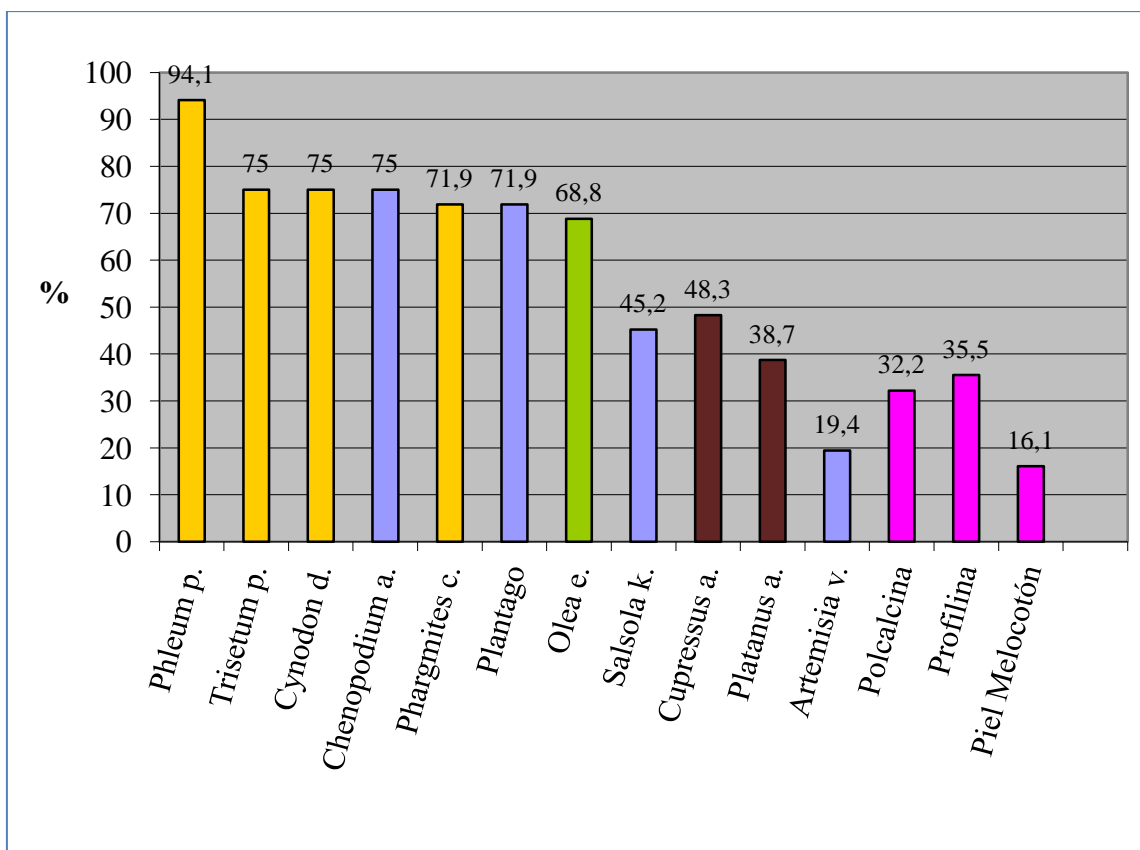


Figura 64. Sensibilización por prueba cutánea en pacientes pediátricos (sensibilidad $\varnothing >3\text{mm}$)

Se observa un predominio de la sensibilización a gramíneas (en color amarillo), seguidos por *Chenopodium album* y *Plantago lanceolata*. El olivo se sitúa a continuación.

En cuanto a las medianas del tamaño de las pápulas, destacan las de gramíneas, olivo y profilina.

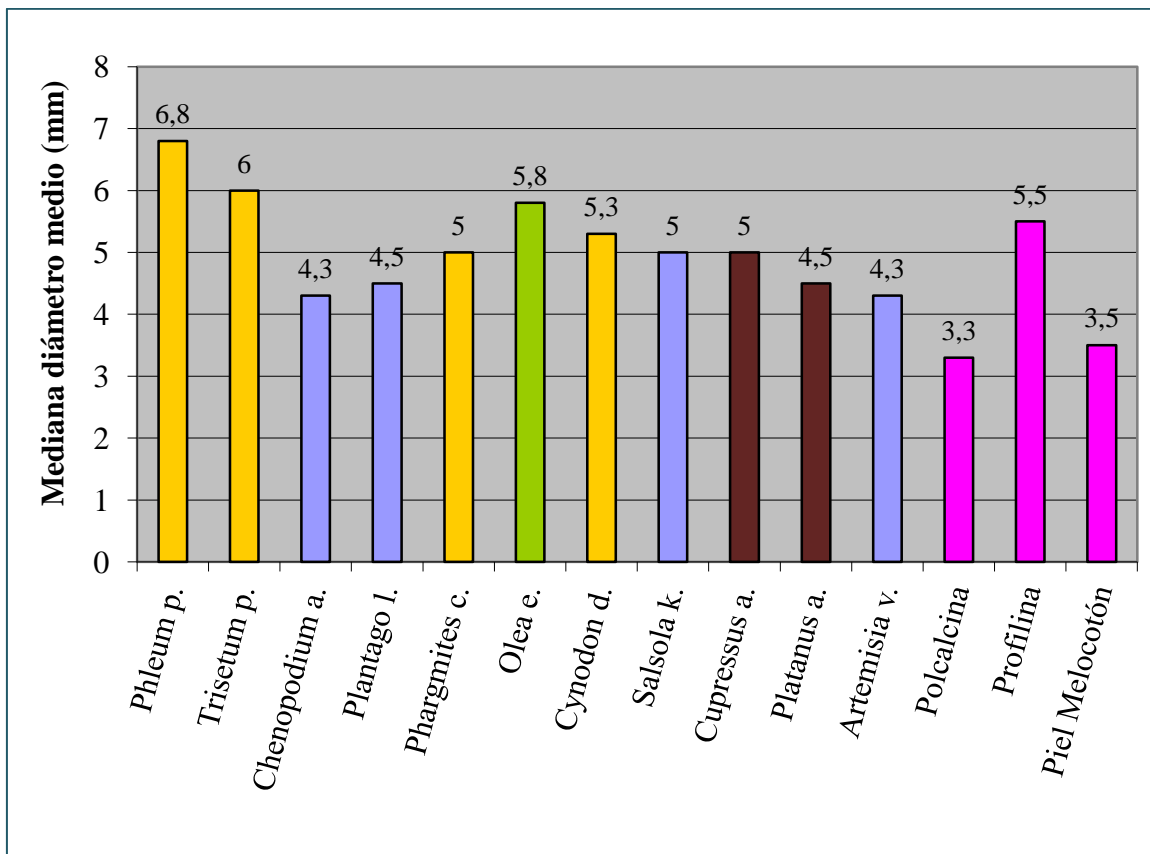


Figura 65. Medianas del diámetro medio (mm) de las pruebas cutáneas

5.1.2. Sensibilización de los pacientes pediátricos mediante determinación de IgE específica por Advia Centauro.

A continuación se muestra la sensibilización de los pacientes pediátricos a los componentes alérgicos medidos mediante IgE específica Advia

Centauro. Se presenta tanto la prevalencia de sensibilización (figura 66), como la mediana de los valores de IgE específica (figura 67).

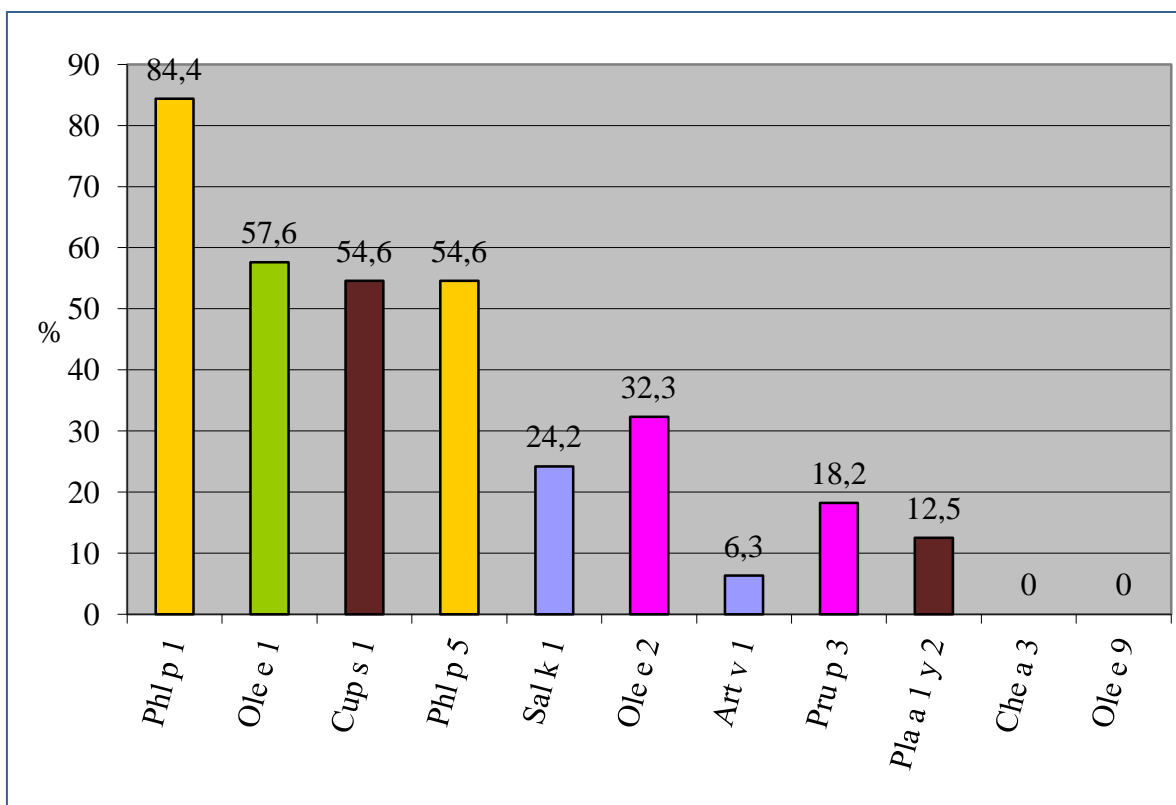


Figura 66. Prevalencia de la sensibilización a componentes alérgicos mediante Advia Centauro.

Destaca el Phl p 1, alérgeno mayor de las gramíneas, que se encuentra en el 84,4% de los niños, seguido a distancia por el alérgenos mayor del olivo (Ole e 1) con un 57,6% y por el alérgeno mayor de las cupresáceas con un 54,6%. Con respecto a los panalérgenos, el más frecuentemente encontrado es la profilina (Ole e 2) en casi un tercio de los niños y LTP Pru p 3 en un 18,2%. No se ha encontrado ningún niño sensibilizado a polcalcina.

En cuanto a los niveles de la mediana de la IgE específica, se resumen en la figura 67. Puede observarse que los niveles más elevados corresponden a los alérgenos de las gramíneas y a la LTP Pru p 3.

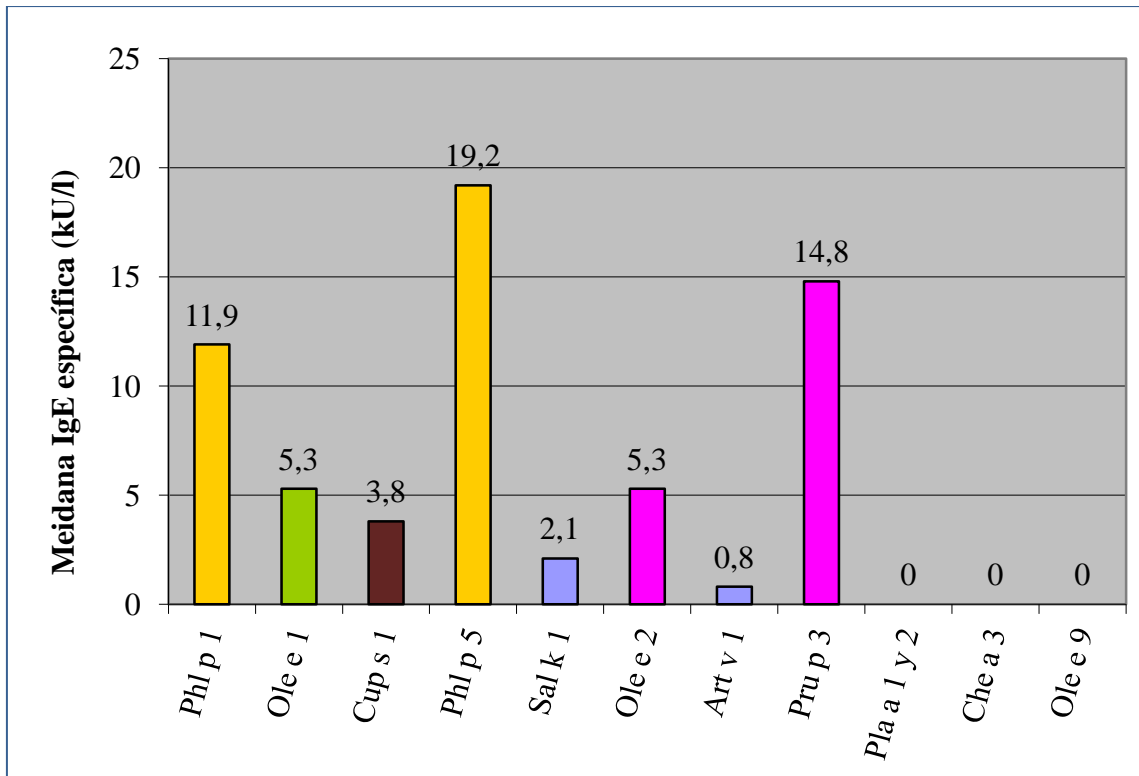


Figura 67. Valores de la mediana de IgE específica en pacientes pediátricos

5.2. Sensibilización de los pacientes adultos.

5.2.1. Sensibilización de los pacientes adultos mediante pruebas cutáneas.

Mostramos a continuación el perfil de sensibilización encontrado en los pacientes de 15 ó más años de edad mediante pruebas cutáneas (figura 68).

Los alérgenos más prevalentes corresponden a los de las gramíneas (en amarillo), seguido por el *Chenopodium album* y el *Plantago lanceolata*. Después de *Phragmites communis* aparece *Olea europea*. Los panalérgenos aparecen al final de la serie, siendo el más prevalente la polcalcina, seguidos de la profilina y la piel de melocotón.

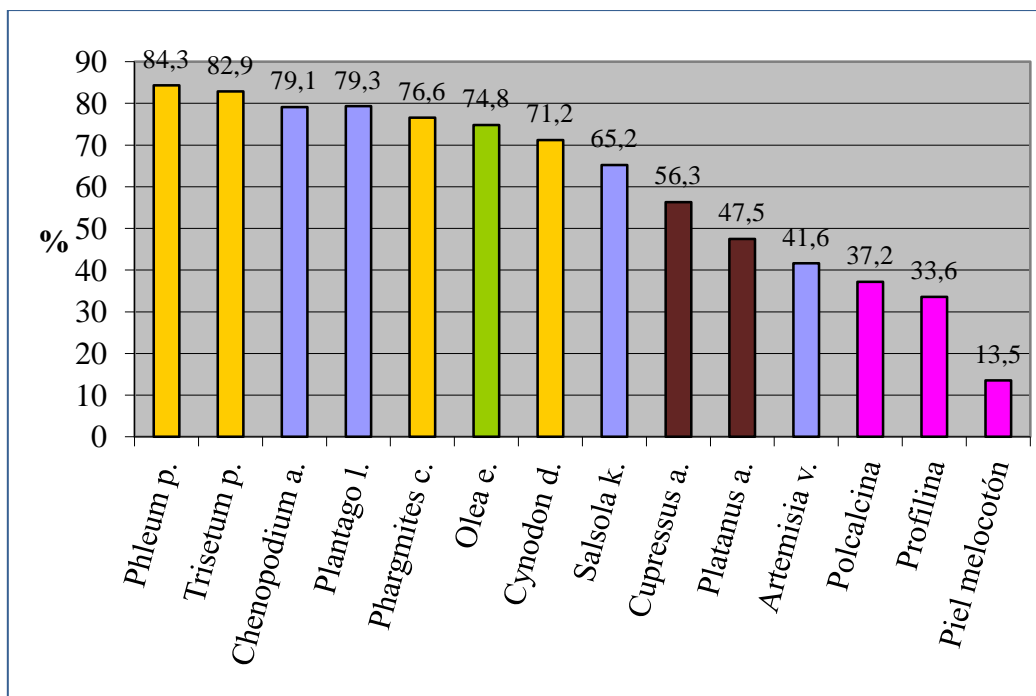


Figura 68. Sensibilización de los pacientes adultos mediante pruebas cutáneas (sensibilización $\emptyset >3$)

Los valores de las medianas del diámetro medio de las pruebas cutáneas se exponen en la figura 69. Destacan *Phleum pratense*, *Olea europea* y profilina.

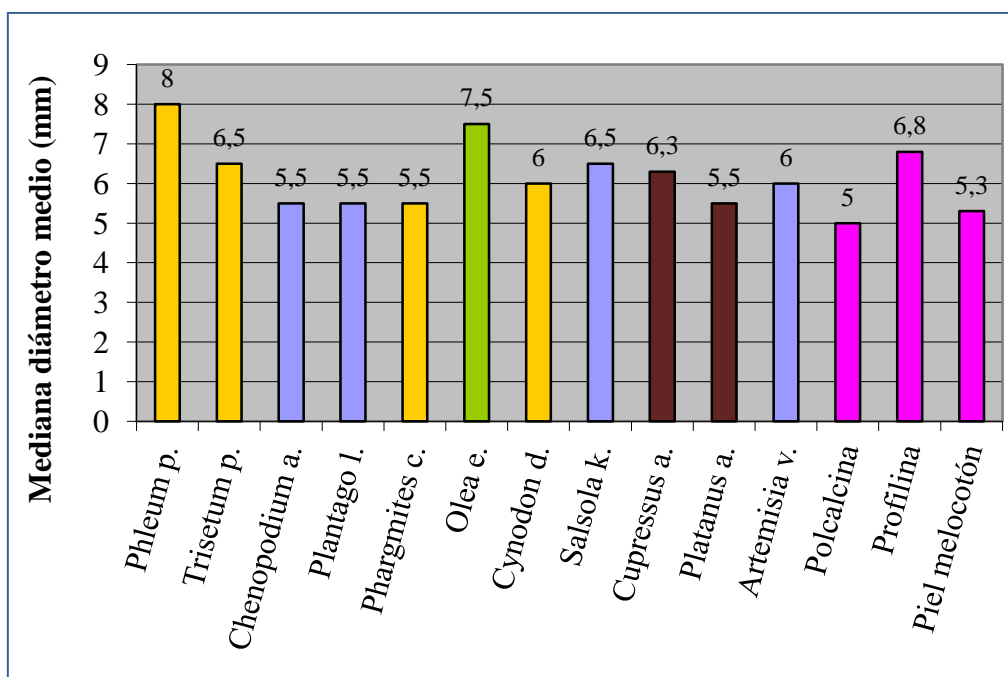


Figura 69. Valores de las medianas del diámetro medio de las pruebas cutáneas.

5.2.2. Sensibilización de los pacientes adultos mediante IgE Advia Centauro (sensibilidad >0,35)

A continuación se muestra el perfil de sensibilización a componentes alérgicos encontrado en los pacientes de 15 ó más años de edad mediante determinación de IgE Advia Centauro.

Destaca como el alérgeno más prevalente Phl p 1 con un 73,3%, seguido del alérgeno mayor de *Olea europea* (60,5%) y en tercer lugar el alérgeno mayor de *Salsola kali* (53,8%). Casi el 30% están sensibilizados a profilina y casi el 12% lo están a LTP Pru p 3 y casi un 11% a polcalcina. Más de un 7% están sensibilizados a Ole e 9, alérgeno menor de *Olea europea* (figura 70).

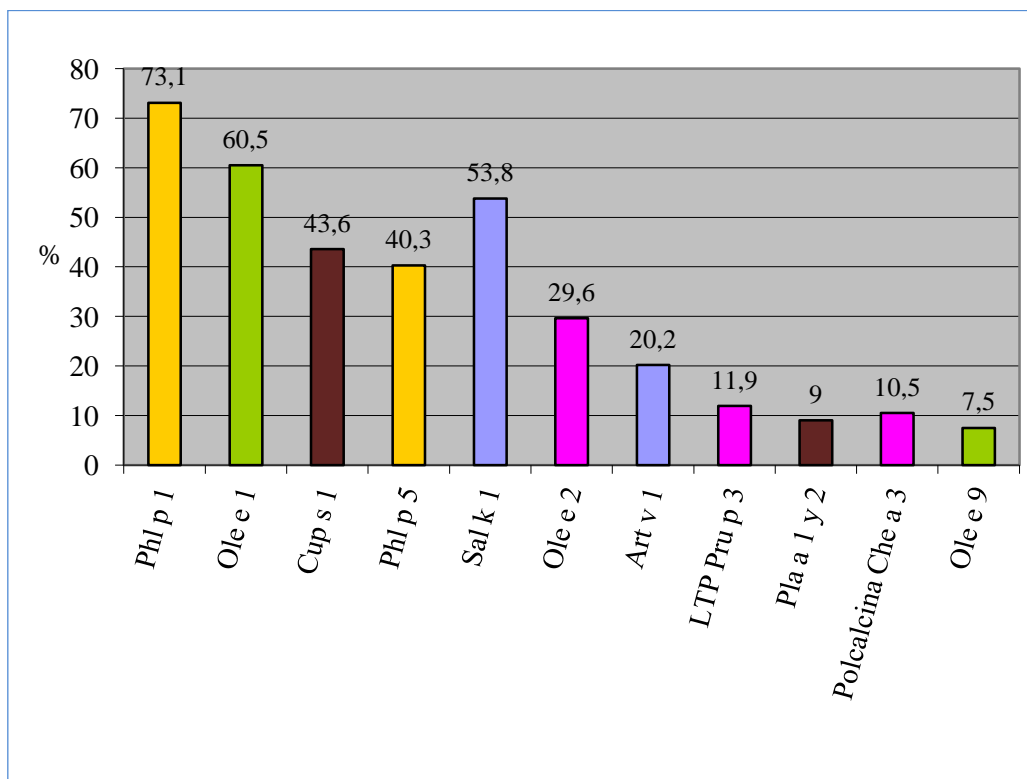


Figura 70. Sensibilización por IgE Advia Centauro en pacientes adultos (nivel de sensibilidad >0,35)

Con respecto a la mediana de los valores de la IgE específica destaca la respuesta a Phl p 5, seguido por la de Phl p 1 y Sal k 1. Con respecto a los panalérgenos, el nivel más alto corresponde a polcalcina, seguido de profilina y LTP (figura 71).

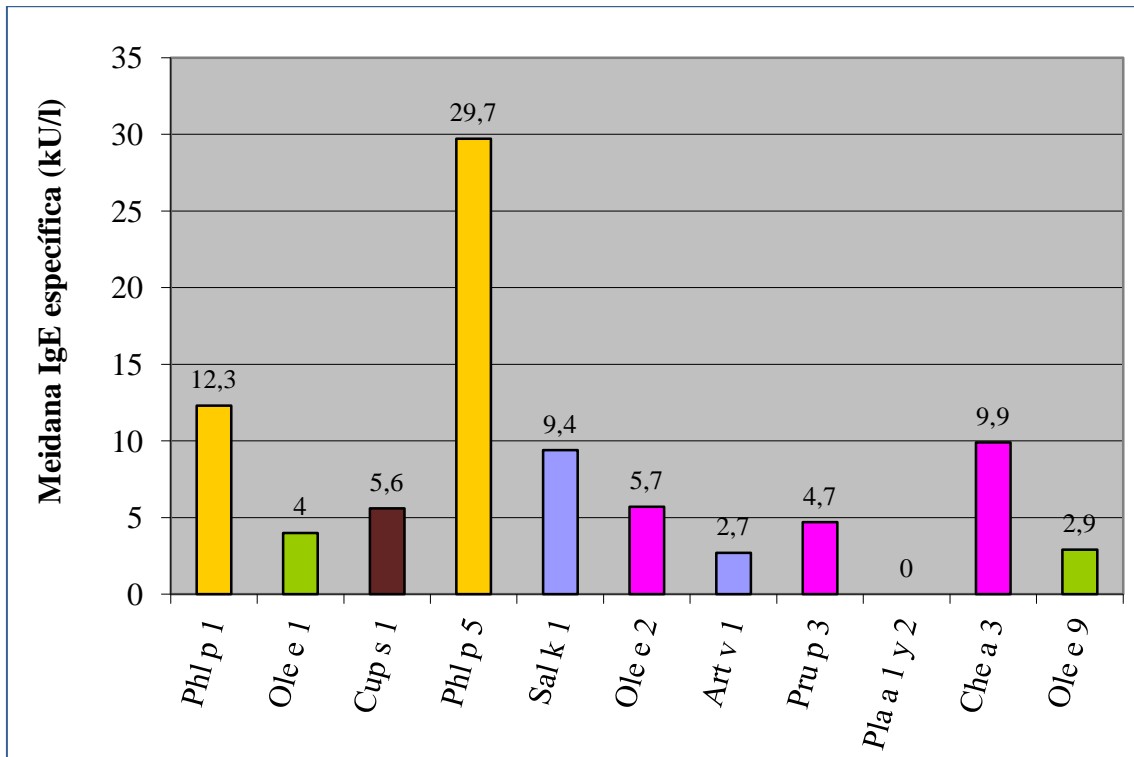


Figura 71. Valores de las medianas de IgE específica (kU/l) en pacientes adultos mediante Advia Centauro.

5.3. Comparación de la sensibilización a alérgenos entre los grupos de edad

5.3.1 Comparación de la sensibilización a alérgenos entre los grupos de edad por pruebas cutáneas.

En la figura 72 y en la tabla 18 se exponen las diferencias en cuanto a la sensibilización de los pacientes según el grupo de edad al que pertenecen, medidos por pruebas cutáneas.

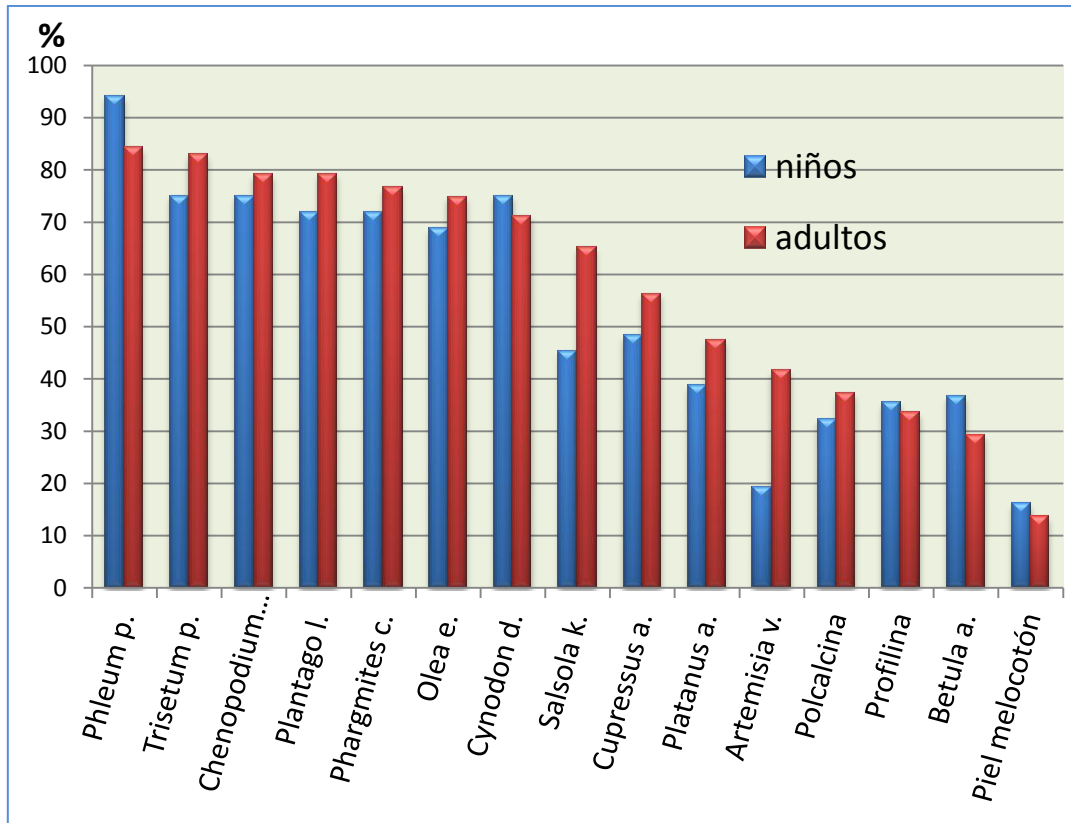


Figura 72. Comparación de los niveles de sensibilización encontrados según grupos de edad, mediante pruebas cutáneas.

Puede observarse que excepto en *Phleum pratense* y *Cynodon dactylon* (gramíneas ambas) en que los niveles de sensibilización es mayor en el grupo de menor edad, en el resto, la tendencia es a un mayor nivel de sensibilización en la edad adulta. Las diferencias alcanzan significación estadística con respecto a la sensibilización a *Salsola kali* y a *Artemisia vulgaris*. Esta tendencia puede reflejar el aumento de la sensibilización a pólenes con la edad.

Con respecto a la sensibilización a panalérgenos, no se encuentran diferencias con significación estadística. En la infancia es más frecuente la sensibilización a profilina, quizás en relación con la mayor sensibilización encontrada en ese grupo de edad a *Phleum pratense*. También es mayor la sensibilización a LTP. La sensibilización a polcalcina es más frecuente en adultos.

GRUPO DE EDAD	≤ 14 AÑOS		> 14 AÑOS		P VALOR	
	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
<i>OLEA EUROPAEA</i>	22	68.75	107	74.83	0.4803	0.5084
<i>PHLEUM PRATENSE</i>	32	94.12	118	84.29	0.1359	0.1720
<i>CUPRESSUS ARIZÓNICA</i>	14	48.28	80	56.34	0.4265	0.5395
<i>CYNODON DACTYLON</i>	24	75.00	99	71.22	0.6681	0.8279
<i>SALSOLA KALI</i>	14	45.16	90	65.22	0.0381	0.0432
<i>ARTEMISIA VULGARIS</i>	6	19.35	57	41.61	0.0208	0.0238
<i>PLANTAGO LANCEOLATA</i>	23	71.88	111	79.29	0.3620	0.3543
<i>TRisetum PANICEUM</i>	24	75.00	116	82.86	0.3028	0.3183
<i>PHRAGMITES COMMUNIS</i>	23	71.88	103	74.64	0.7478	0.8232
PIEL DE MELOCOTÓN	5	16.13	18	13.53	0.7079	0.7742
<i>PLATANUS ACERIFOLIA</i>	12	38.71	65	47.45	0.3780	0.4286
<i>CHENOPODIUM ALBUM</i>	24	75.00	110	79.14	0.6084	0.6364
POLCALCINA	10	32.26	51	37.23	0.6035	0.6823
PROFILINA	11	35.48	46	33.58	0.8395	0.8363
<i>BETULA ALBA</i>	11	36.67	38	29.23	0.4258	0.5103

Tabla 18. Comparación entre grupos de edad de la sensibilización por pruebas cutáneas (nivel de sensibilidad $\emptyset >3$)

5.3.2. Comparación de la sensibilización a las moléculas alergénicas entre los grupos de edad mediante la determinación de IgE Advia Centauro.

En la figura 73 y en la tabla 19 se exponen los resultados comparativos entre los niveles de sensibilización por IgE Advia Centauro según grupos de edad.

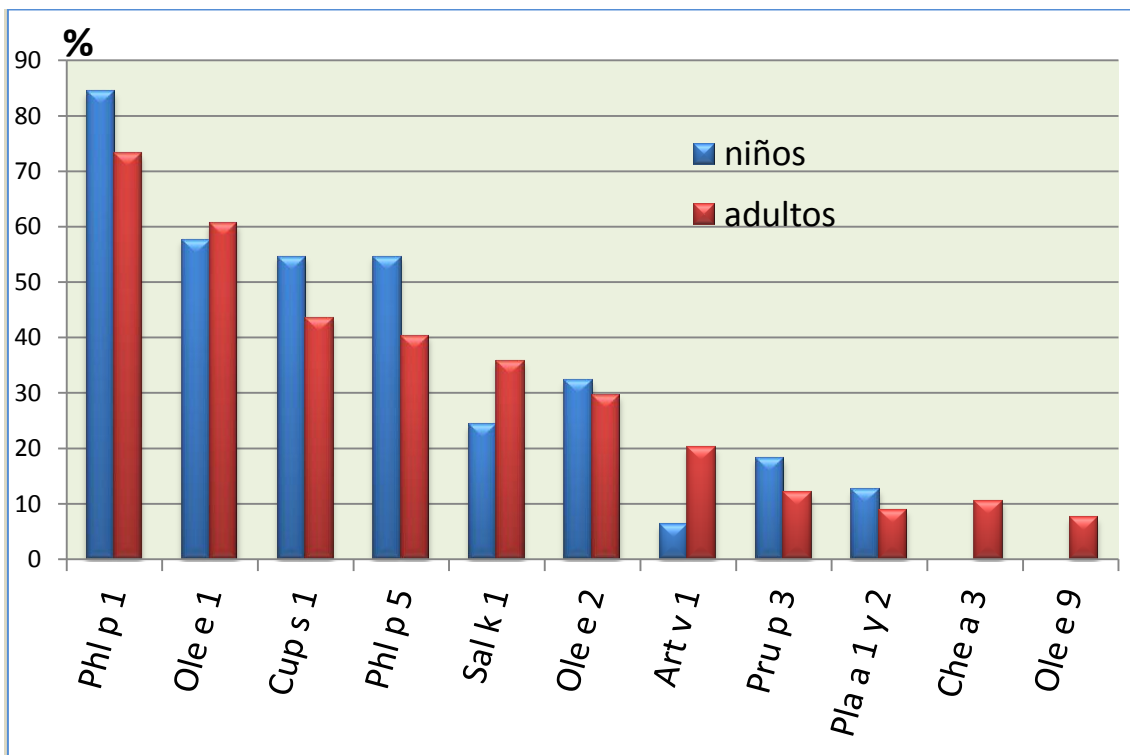


Figura 73. Comparación de la sensibilización a las moléculas alergénicas entre los grupos de edad mediante la determinación de IgE específica Advia Centauro.

Puede observarse que no hay datos con diferencias estadísticamente significativas excepto a Art v 1, pero es interesante llamar la atención sobre los importantes niveles de sensibilización a profilina (Ole e 2) y a LTP (Pru p 3) en el grupo de menor edad. Posiblemente, aunque ésto no tenga significación estadística, sí hay que tenerlo en cuenta en términos de

relevancia clínica, en contexto de la referida “marcha alérgica” de los pacientes más jóvenes.

GRUPO DE EDAD	≤ 14 AÑOS		> 14 AÑOS		P VALOR	
	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
Art v 1	2	7.69	27	36.99	0.0048	0.0051
Cup s 1	18	72.00	57	61.29	0.3233	0.3595
Ole e 9	.	.	10	12.05	0.0741	0.1124
Ole e 1	19	63.33	80	72.73	0.3162	0.3670
Ole e 2	10	90.91	39	78.00	0.3295	0.4384
Phl p 1	27	93.10	98	90.74	0.6894	1.0000
Phl p 5	18	60.00	54	50.00	0.3320	0.4100
Pla a 1 y 2	4	15.38	12	11.54	0.5934	0.7383
Polcalcina Che a 3	.	.	14	51.85	0.3085	1.0000
LTP Pru p 3	6	27.27	16	14.04	0.1226	0.2010
Sal k 1	7	28.00	48	46.15	0.0994	0.1182

Tabla 19. Comparación entre grupos de edad de la sensibilización a moléculas alérgicas mediante IgE Advia Centauro.

6. Perfil de sensibilización de los pacientes según sus patologías

Como se ha descrito anteriormente, excepto un paciente que sólo presenta síntomas de asma sin afectación nasal ni ocular, el resto, tienen síntomas de rinitis y/o conjuntivitis. Centraremos el estudio en analizar los perfiles de sensibilización según que los pacientes tengan o no asma, o tengan o no clínica de alergia alimentaria.

6.1. Perfil de sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de asma.

Como ya se ha indicado previamente, del total de pacientes incluidos hay 70 (38,9%) que tienen síntomas de asma (figura 74). Sólo un paciente presenta síntomas de asma sin referir síntomas nasales u oculares.



Figura 74. Pacientes con y sin asma incluidos en el estudio.

6.1.1. Perfil de sensibilización de los pacientes con síntomas de asma.

6.1.1.1. Sensibilización de los pacientes con síntomas de asma, a alérgenos completos, mediante pruebas cutáneas.

En la figura 75 se presentan los datos de los pacientes que refieren síntomas de asma con pruebas cutáneas positivas a los diferentes alérgenos completos estudiados.

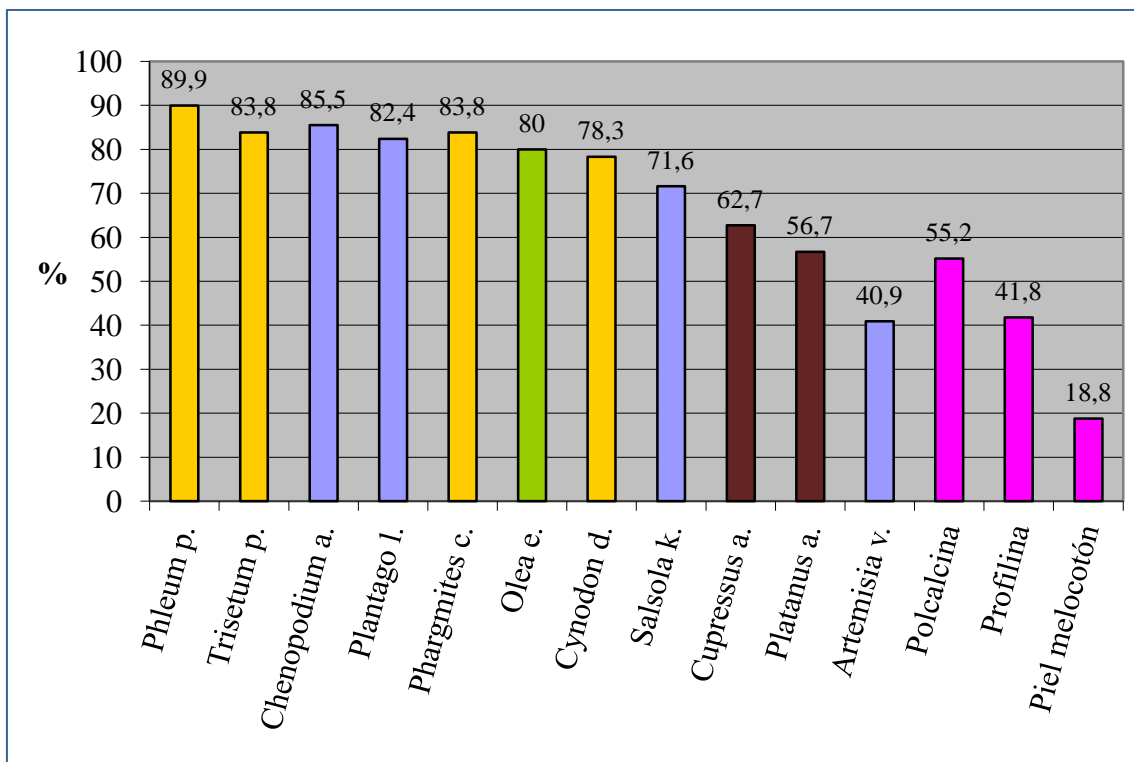


Figura 75. Niveles de sensibilización a los diferentes alérgenos completos estudiados mediante prueba cutánea, de los pacientes con síntomas de asma.

Como puede observarse destaca la sensibilización a gramíneas (en amarillo) seguido por la sensibilización a *Chenopodium album* y *Plantago lanceolata*. *Olea europea* aparece después de *Phragmites communis*.

Con respecto a la sensibilización a panalérgenos el más frecuentemente encontrado es la polcalcina, seguidos por la profilina y por la piel de melocotón.

En cuanto a las medianas del diámetro medio de las pápulas encontradas, las mayores corresponden a *Phleum pratense* seguido por *Olea europea*. La profilina es el panalérgeno con pápulas de mayor tamaño (figura 76).

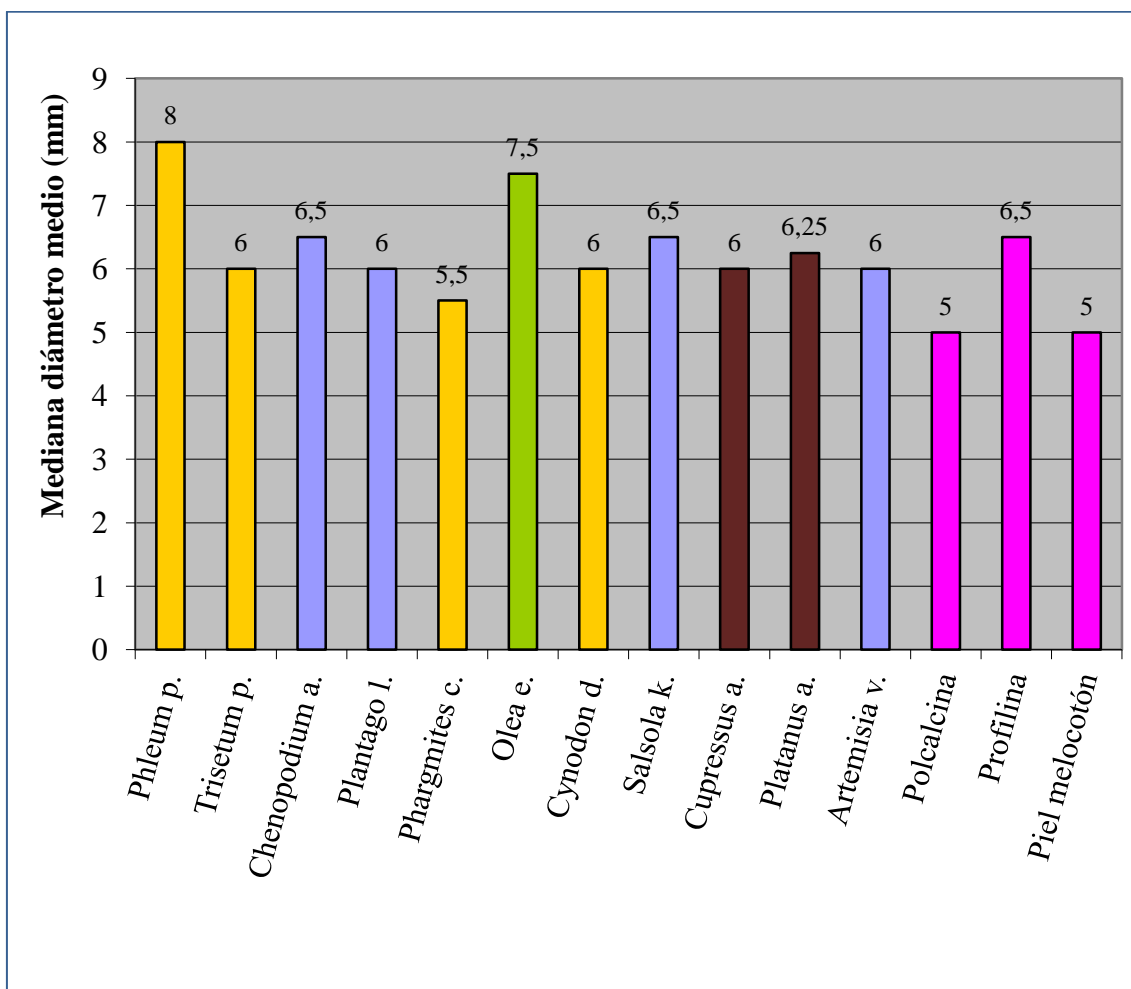


Figura 76. Niveles de la mediana del diámetro medio a alérgenos completos estudiados mediante prueba cutánea, de los pacientes con síntomas de asma.

6.1.1.2. Sensibilización de los pacientes con síntomas de asma, a moléculas alérgicas, mediante IgE Advia Centauro.

En la figura 77 se muestran los datos de la sensibilización a moléculas alergénicas determinadas por IgE Advia Centauro, en pacientes con síntomas de asma.

Más de las tres cuartas partes están sensibilizados a los alérgenos mayores de gramíneas y olivo, algo más de la mitad lo están al alérgeno mayor de las cupresáceas y a Phl p 5. Algo más de la tercera parte están sensibilizados al alérgeno mayor de *Salsola kali*. El 40 % están sensibilizados a profilina (Ole e 2), que se convierte en el alérgenos más prevalente en los pacientes asmáticos, seguido por la polcalcina y LTP. Uno de cada 9 pacientes está sensibilizados a Ole e 9, alérgeno menor de *Olea europea*.

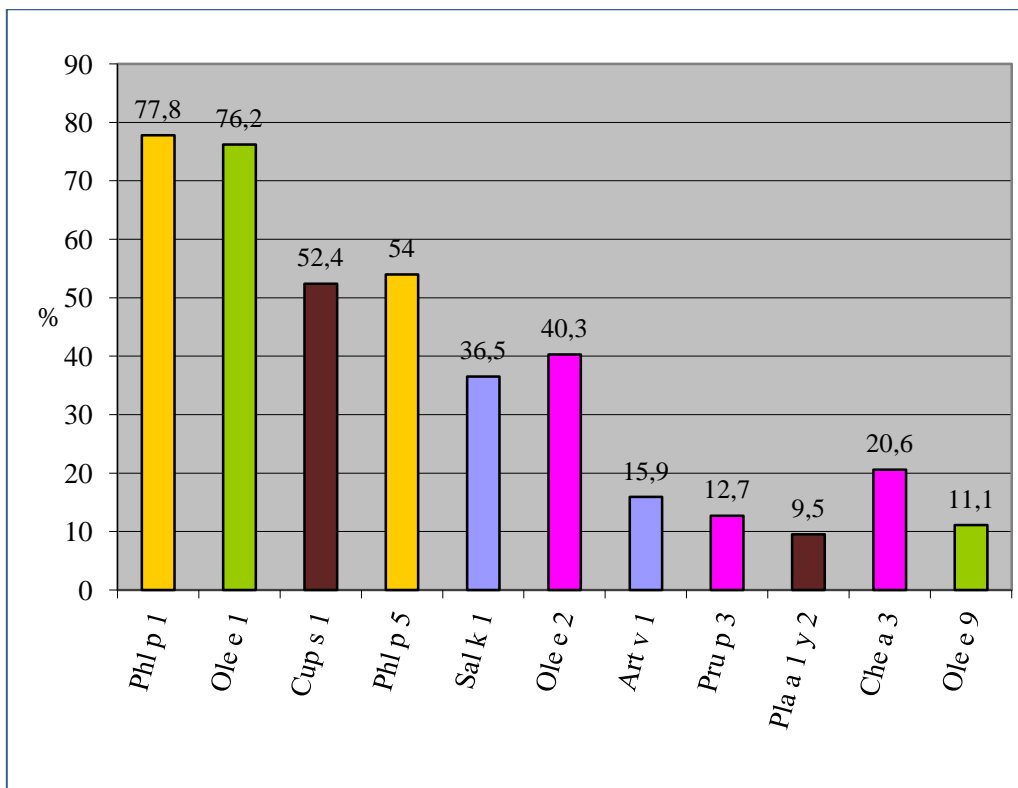


Figura 77. Sensibilización a moléculas alergénicas en pacientes con síntomas de asma, mediante IgE Advia Centauro.

Con respecto a la mediana de los valores de IgE específica destacan por encima de los demás los niveles de Phl p 5 y Sal k 1 (figura 78).

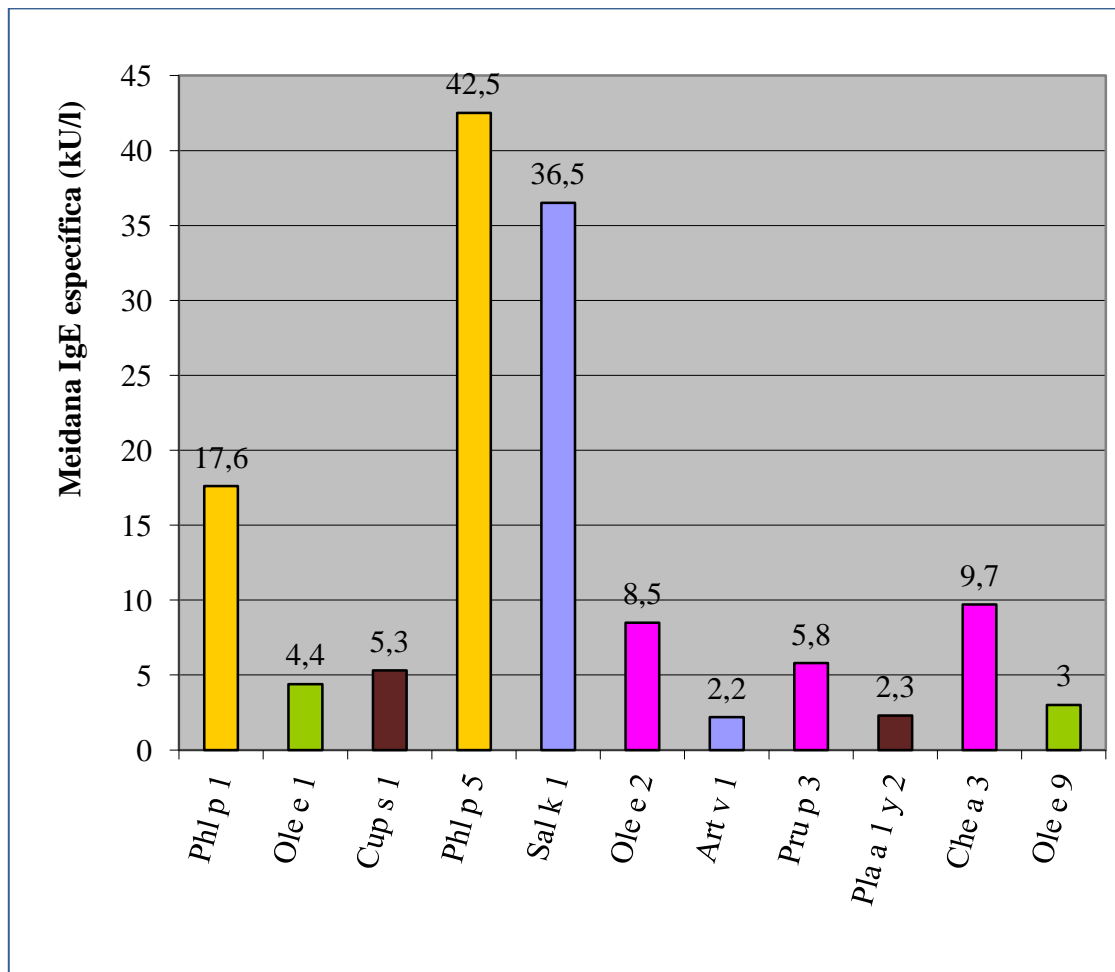


Figura 78. Valores de la mediana de la IgE específica por AC (kU/l) en pacientes con síntomas de asma.

6.1.2. Sensibilización de los pacientes sin síntomas de asma.

6.1.2.1. Sensibilización de los pacientes sin síntomas de asma, a alérgenos completos, mediante pruebas cutáneas.

En la figura 79 se presentan los datos de los pacientes que no refieren síntomas de asma con pruebas cutáneas positivas a los diferentes alérgenos completos estudiados mediante pruebas cutáneas. Hay que recordar que son pacientes con síntomas de rinitis y/o conjuntivitis alérgica.

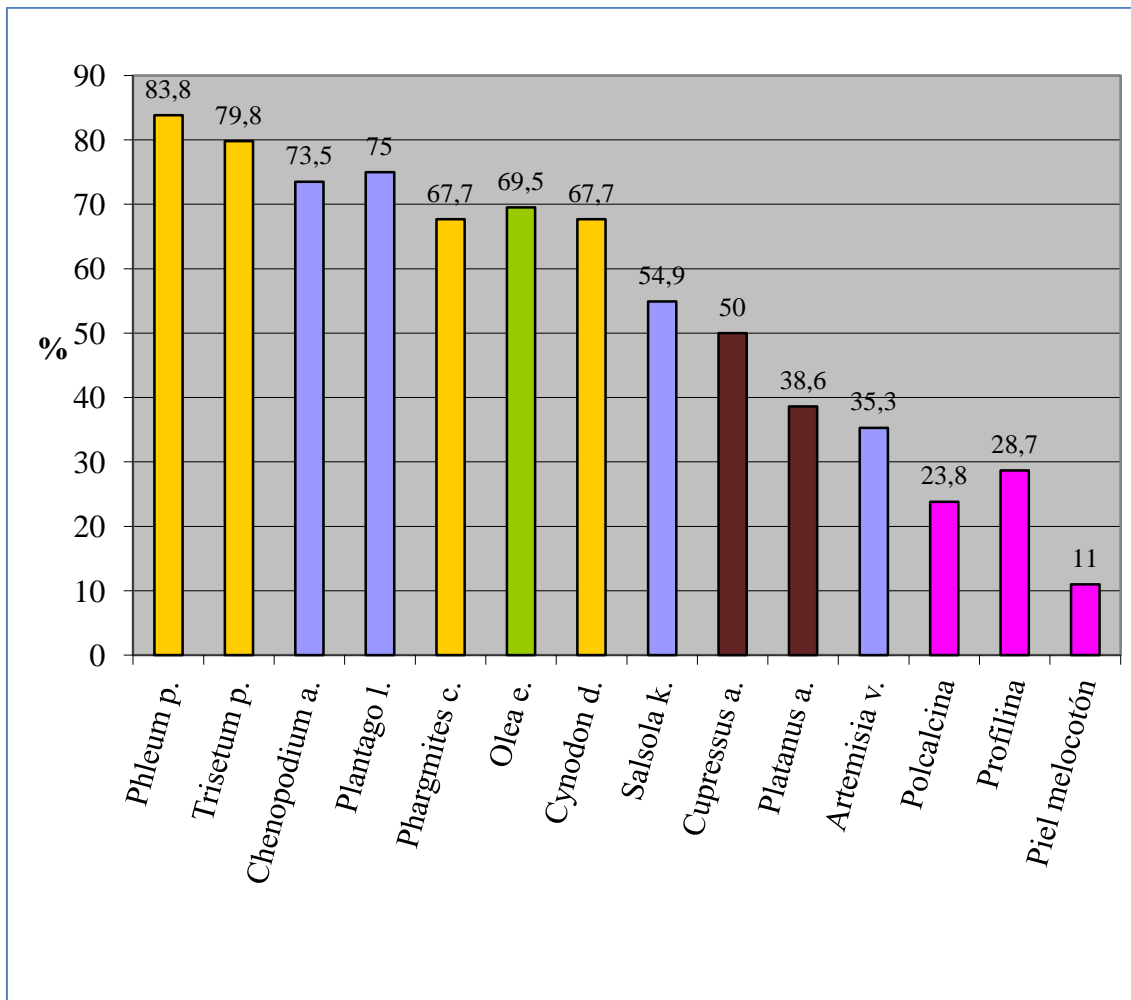


Figura 79. Sensibilización por pruebas cutáneas en pacientes sin síntomas de asma.

Los alérgenos más prevalentes son *Phleum pratense* y *Trisetum paniceum* (gramíneas ambos), seguido por *Chenopodium album* y *Plantago lanceolata*. El olivo aparece en sexto lugar después de *Phragmites communis*.

El panalérgeno más frecuentemente encontrado es la profilina (en casi un 30 % de los casos), seguidos de polcalcina (casi la cuarta parte) y de piel de melocotón (algo más del 10%).

En la figura 80 se exponen los valores de la mediana de las pruebas cutáneas en pacientes sin asma.

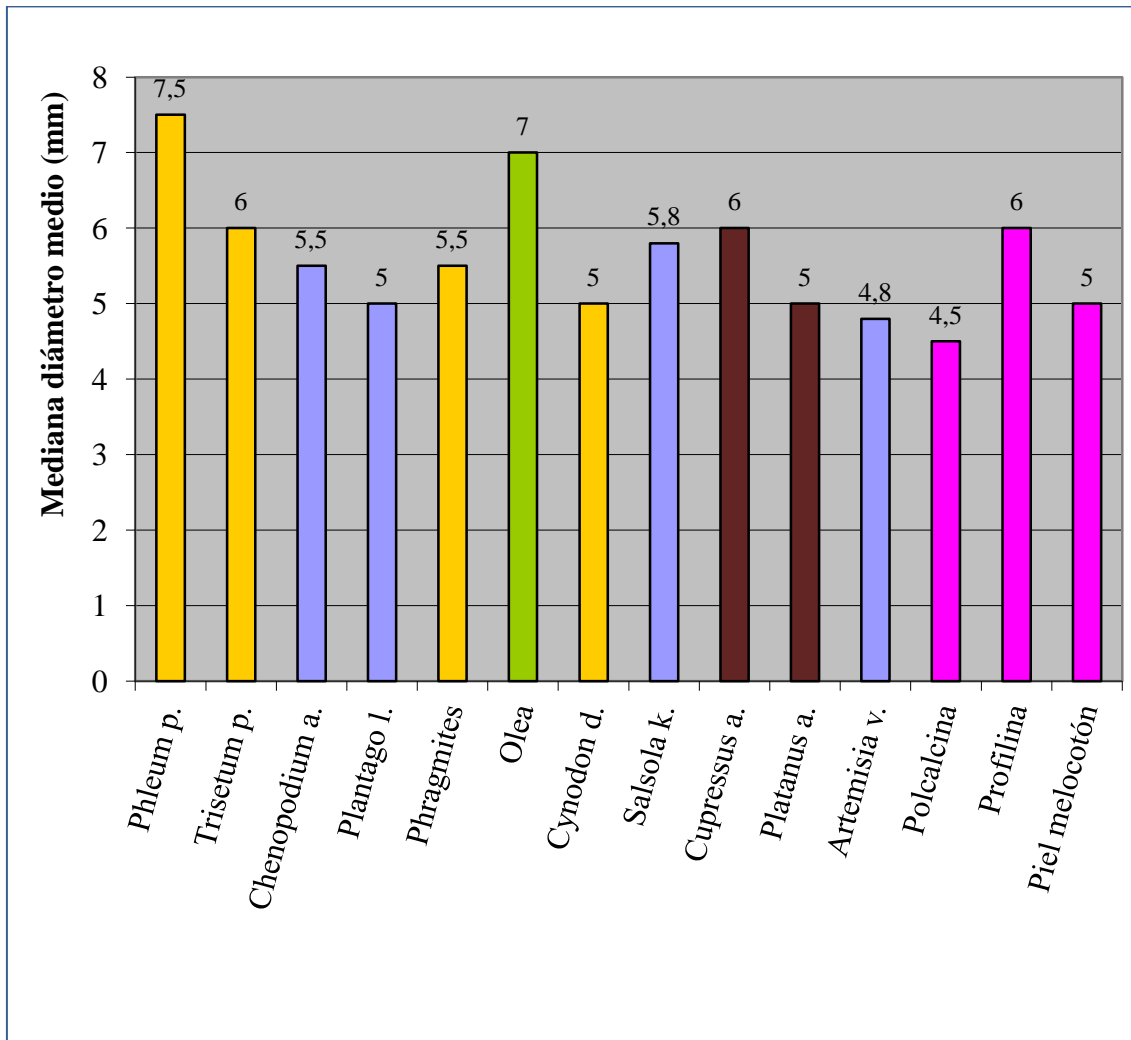


Figura 80. Valores de la mediana de las pruebas cutáneas en pacientes sin asma (mm)

Destaca el tamaño de las pruebas cutáneas con *Phleum pratense* y *Olea europea*. Entre los panalérgenos destaca la profilina.

6.1.2.2. Sensibilización de los pacientes sin síntomas de asma, a moléculas alergénicas, mediante IgE Advia Centauro.

En la figura 81 se muestran los datos de la sensibilización a moléculas alergénicas determinadas por IgE Advia Centauro, en pacientes sin síntomas de asma.

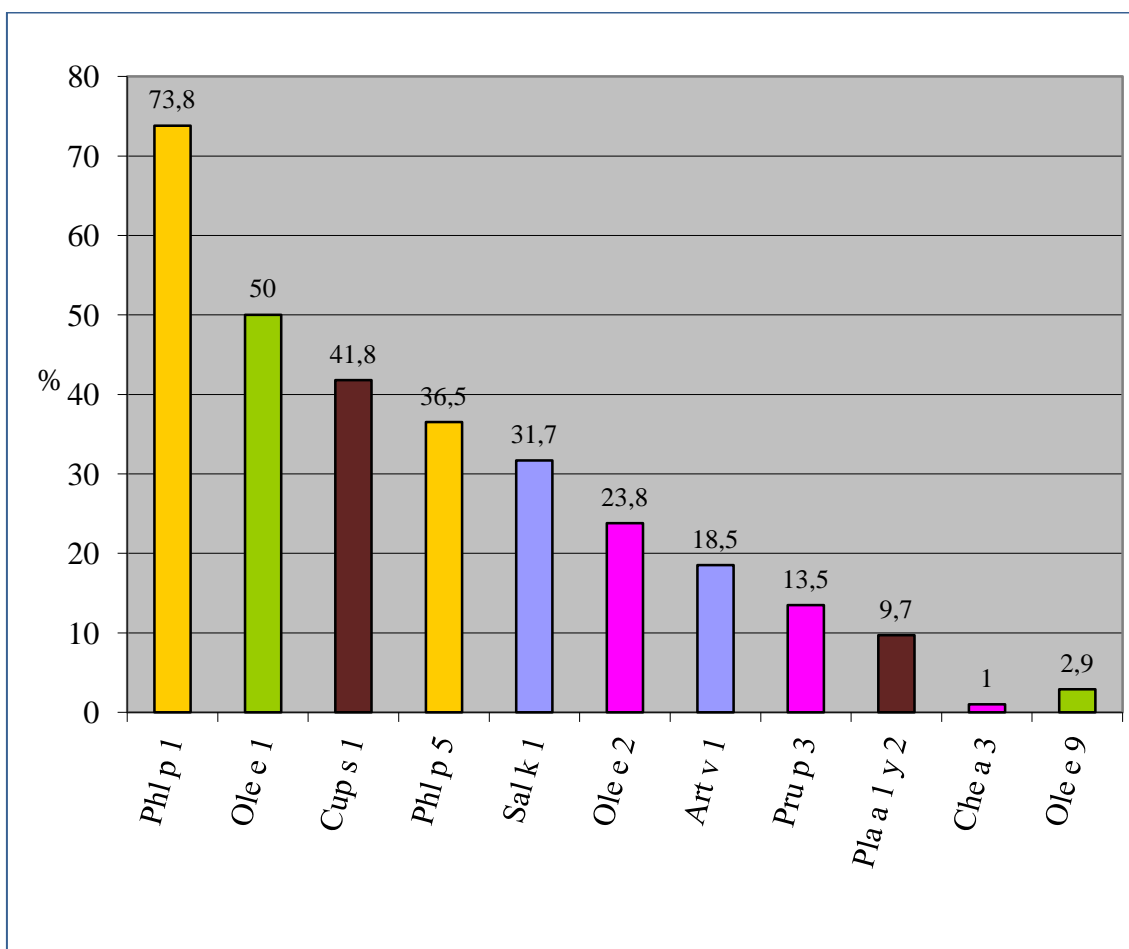


Figura 81. Sensibilización a moléculas alergénicas en pacientes sin síntomas de asma, mediante IgE Advia Centauro.

Puede observarse que casi tres cuartas partes de los pacientes están sensibilizados a Phl p 1, alérgeno mayor de las gramíneas, y la mitad a Ole e 1, alérgeno mayor del olivo. A continuación aparece Cup s 1, Phl p 5 y Sal

k1. La profilina (Ole e 2) destaca entre los panalérgenos, con un 23,8% de pacientes sensibilizados. Escasamente el 3% están sensibilizados a Ole e 9.

Con respecto a la mediana de la Ig E específica por Advia Centauro (figura 82), en pacientes sin asma, destaca los niveles de polcalcina. Aunque sólo el 1% están sensibilizados a este panalérgeno, la mediana de la IgE Advia Centauro es de 25,8 kU/l. Destacan, asimismo, los niveles de IgE frente a los alérgenos de las gramíneas, Phl p 5 (20,5 kU/l) y Phl p 1 (10,4 kU/l).

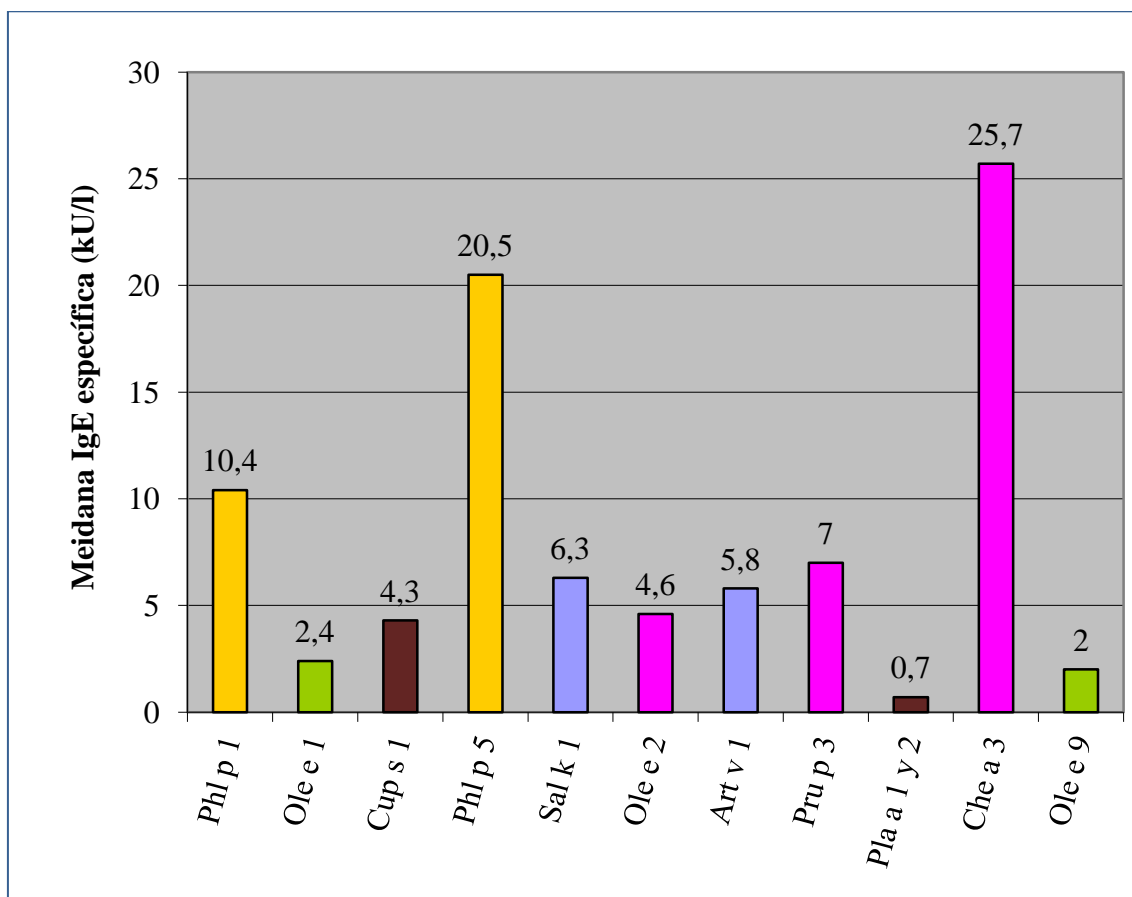


Figura 82. Valores de la mediana de la IgE específica Advia Centauro en pacientes sin asma (kU/l)

6.1.3. Comparación de la sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de síntomas de asma.

6.1.3.1. Comparación de la sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de síntomas de asma, a alérgenos completos, mediante pruebas cutáneas.

En la figura 83 y en la tabla 20 se muestran los datos de sensibilización a alérgenos completos mediante pruebas cutáneas de los pacientes con y sin síntomas de asma, y el correspondiente análisis estadístico.

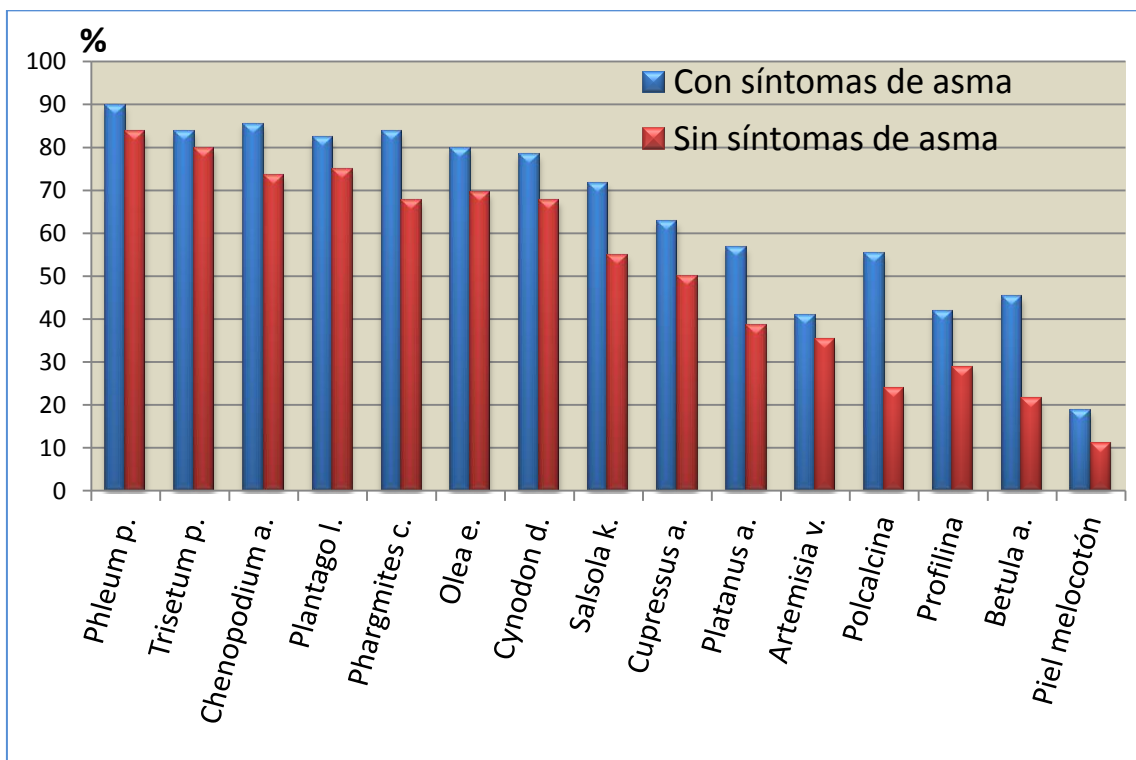


Figura 83. Sensibilización a alérgenos completos mediante pruebas cutáneas en pacientes con y sin asma.

En los pacientes con asma el porcentaje de sensibilización a los diferentes alérgenos es superior al de los pacientes sin asma.

Se observa que tiene significación estadística, para presentar síntomas de asma, la sensibilización a pólenes por prueba cutánea a *Salsola kali*, *Phargmites comunnis*, *Platanus acerifolia* y *Betula alba*. Pero descata la sensibilización a polcalcina entre quienes presentan síntomas de asma. La sensibilización a *Chenopodium album* y a profilina presentan unas diferencias próximas a la significación estadística para presentar asma.

ASMA	SI		NO		P VALOR	
	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
<i>OLEA EUROPAEA</i>	56	80.00	73	69.52	0.1230	0.1607
<i>PHLEUM PRATENSE</i>	62	89.86	88	83.81	0.2579	0.3690
<i>CUPRESSUS ARIZÓNICA</i>	42	62.69	52	50.00	0.1036	0.1171
<i>CYNODON DACTYLON</i>	54	78.26	69	67.65	0.1297	0.1654
<i>SALSOLA KALI</i>	48	71.64	56	54.90	0.0287	0.0357
<i>ARTEMISIA VULGARIS</i>	27	40.91	36	35.29	0.4628	0.5153
<i>PLANTAGO LANCEOLATA</i>	56	82.35	78	75.00	0.2558	0.3474
<i>TRisetum PANICEUM</i>	57	83.82	83	79.81	0.5082	0.5534
<i>PHRAGMITES COMMUNIS</i>	57	83.82	69	67.65	0.0183	0.0205
PIEL DE MELOCOTÓN	12	18.75	11	11.00	0.1632	0.1743
<i>PLATANUS ACERIFOLIA</i>	38	56.72	39	38.61	0.0211	0.0269
<i>CHENOPODIUM ALBUM</i>	59	85.51	75	73.53	0.0620	0.0876
POLCALCINA	37	55.22	24	23.76	<.0001	<.0001
PROFILINA	28	41.79	29	28.71	0.0796	0.0966
<i>BETULA ALBA</i>	28	45.16	21	21.43	0.0015	0.0026

Tabla 20. Sensibilización a alérgenos completos mediante pruebas cutáneas en pacientes con y sin asma.

6.1.3.2. Comparación de la sensibilización de los pacientes a moléculas alergénicas según presencia o ausencia de síntomas de asma mediante IgE Advia Centauro.

En la figura 84 y en la tabla 21 se exponen los datos de sensibilización a componentes alergénicos mediante IgE Advia Centauro, en pacientes con y sin asma.

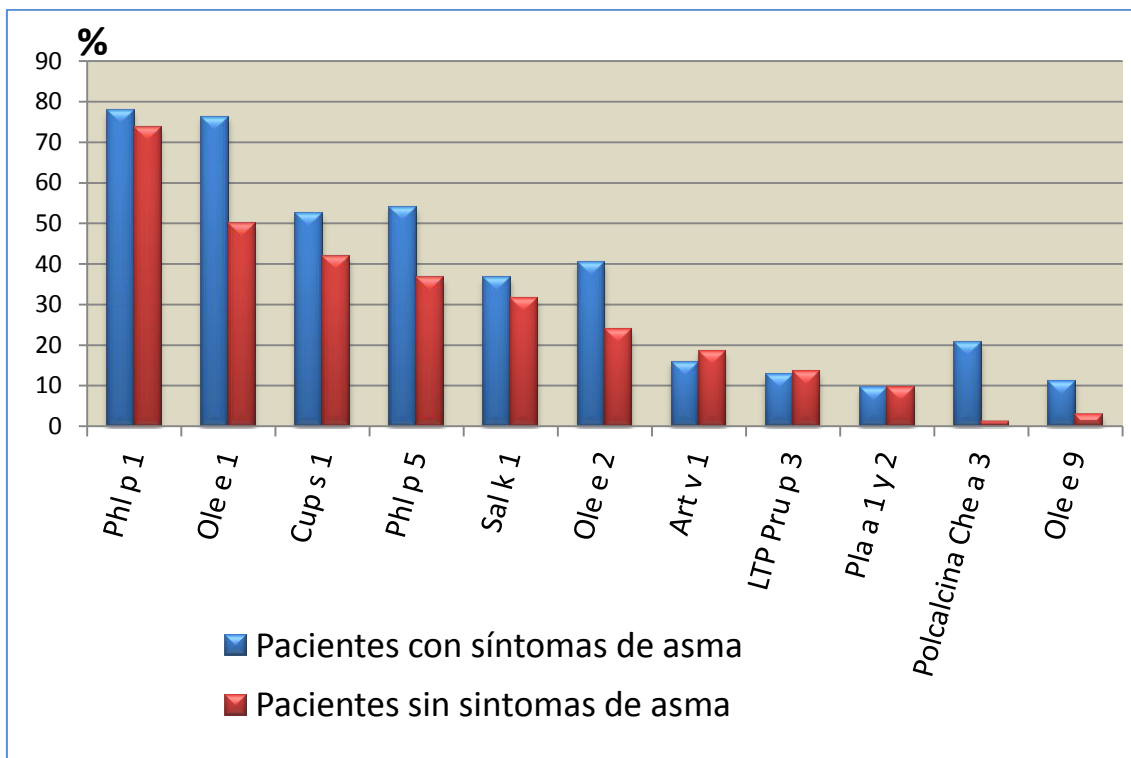


Figura 84. Sensibilización a componentes alergénicos mediante AC en pacientes con y sin asma.

Mediante la determinación de IgE por Advia Centauro, se encuentra que los pacientes sensibilizados a Ole e 1 y a Polcalcina, tienen más posibilidades de presentar asma (con significación estadística). Se aproximan a la significación estadística las sensibilizaciones a Ole e 9 y a Phl P 5.

Como puede observarse, mientras que por pruebas cutánea la sensibilización a *Salsola kali*, *Phragmites communis*, *Platanus acerifolia* y *Betula alba*, son los alérgenos que aumentan las posibilidades de desarrollar asma, mediante IgE específica Advia Centauro, es la sensibilización a olivo y a polcalcina la que aumenta dichas posibilidades.

ASMA	SI		NO		P VALOR	
	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
Art v 1	10	25.00	19	32.20	0.4396	0.5043
Cup s 1	33	68.75	42	60.00	0.3320	0.4363
Ole e 9	7	15.56	3	4.84	0.0601	0.0911
Ole e 1	47	82.46	52	62.65	0.0114	0.0139
Ole e 2	25	86.21	24	75.00	0.2715	0.3430
Phl p 1	49	92.45	76	90.48	0.6902	0.7662
Phl p 5	34	60.71	38	46.34	0.0970	0.1191
Pla a 1 y 2	6	11.76	10	12.66	0.8796	1.0000
Polcalcina Che a 3	13	76.47	1	9.09	0.0005	0.0013
LTP Pru p 3	8	15.09	14	16.87	0.7842	1.0000
Sal k 1	22	45.83	33	40.74	0.5719	0.5860

Tabla 21. Sensibilización a componentes alérgicos mediante AC en pacientes con y sin asma.

6.2. Comparación de la sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO.

6.2.1. Comparación de la sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO mediante pruebas cutáneas.

Los resultados obtenidos se exponen en la figura 85 y en la tabla 22.

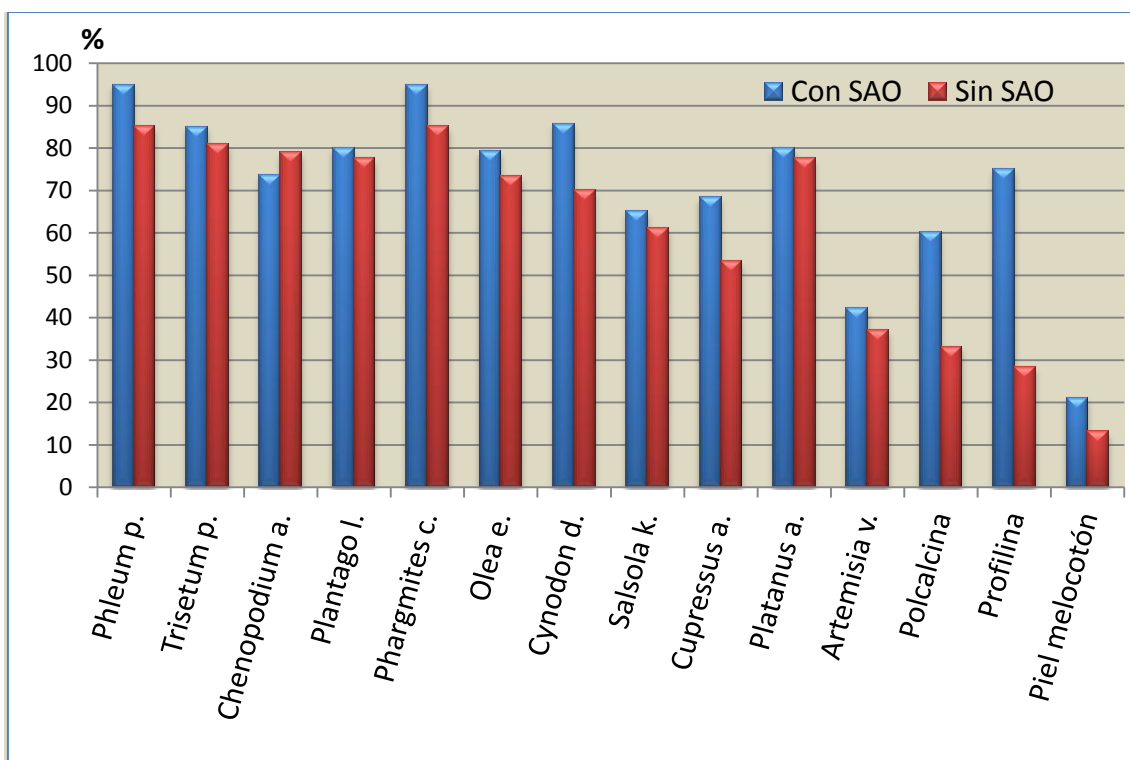


Figura 85. Sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO, mediante pruebas cutáneas.

Puede observarse cómo la sensibilización a Polcalcina y Profilina presentan diferencias estadísticamente significativas para la presencia de SAO. No ocurre lo mismo con el otro panalérgeno estudiado (LTP de la piel de melocotón).

Casi alcanza la significación estadística la sensibilización a *Platanus acerifolia*.

SAO	SI		NO		P VALOR	
	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
<i>OLEA EUROPAEA</i>	16	76.19	113	73.38	0.7835	1.0000
<i>PHLEUM PRATENSE</i>	19	95.00	131	85.06	0.2254	0.3163
<i>CUPRESSUS ARIZÓNICA</i>	13	68.42	81	53.29	0.2113	0.2326
<i>CYNODON DACTYLON</i>	18	85.71	105	70.00	0.1334	0.1945
<i>SALSOLA KALI</i>	13	65.00	91	61.07	0.7347	0.8106
<i>ARTEMISIA VULGARIS</i>	8	42.11	55	36.91	0.6597	0.8019
<i>PLANTAGO LANCEOLATA</i>	16	80.00	118	77.63	0.8103	1.0000
<i>TRisetum PANICEUM</i>	17	85.00	123	80.92	0.6595	1.0000
<i>PHRAGMITES COMMUNIS</i>	16	80.00	110	73.33	0.5226	0.5996
PIEL DE MELOCOTÓN	4	21.05	19	13.10	0.3481	0.3117
<i>PLATANUS ACERIFOLIA</i>	13	65.00	64	43.24	0.0668	0.0933
<i>CHENOPODIUM ALBUM</i>	14	73.68	120	78.95	0.5994	0.5648
POLCALCINA	12	60.00	49	33.11	0.0189	0.0255
PROFILINA	15	75.00	42	28.38	<.0001	<.0001

Tabla 22. Sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO, mediante pruebas cutáneas, y el correspondiente estudio estadístico.

6.2.2. Comparación de la sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO mediante IgE Advia Centauro.

En la figura 86 y en la tabla 23, se exponen los resultados de la sensibilización encontrada mediante IgE Advia Centauro, en pacientes con y sin SAO.

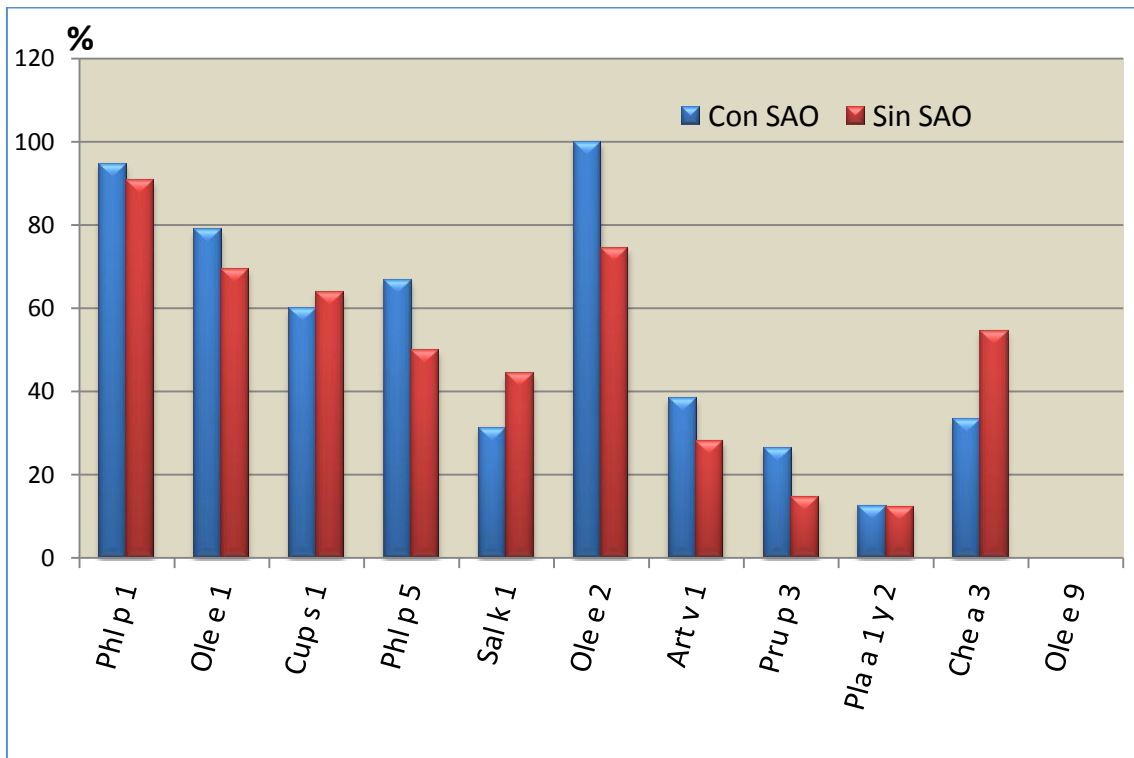


Figura 86. Sensibilización de los pacientes según presencia o ausencia de SAO, mediante pruebas cutáneas.

Todos los pacientes con SAO están sensibilizados a profilina. La sensibilización a este panalérgeno es estadísticamente más frecuente en quienes presenta SAO que en quienes no lo presentan. Es más frecuente el SAO en pacientes sensibilizados a LTP Pru p 3, aunque los valores no adquieren significación estadística. Con respecto a la sensibilización a polcalcina, aunque tampoco se encuentran valores estadísticamente

significativos, ocurre lo contrario que con profilina y con LTP Pru p 3, es decir, los niveles de sensibilización a polcalcina son mayores en pacientes sin SAO.

SAO	SI		NO		P VALOR	
	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
Art v 1	5	38.46	24	27.91	0.4358	0.5160
Cup s 1	9	60.00	66	64.08	0.7592	0.7794
Ole e 9	.	.	10	10.87	.	.
Ole e 1	15	78.95	84	69.42	0.3963	0.5883
Ole e 2	14	100.0	35	74.47	0.0349	0.0519
Phl p 1	18	94.74	107	90.68	0.5614	1.0000
Phl p 5	12	66.67	60	50.00	0.1868	0.2143
Pla a 1 y 2	2	12.50	14	12.28	0.9801	1.0000
Polcalcina Che a 3	2	33,33	12	54,55	0,3570	0.6483
LTP Pru p 3	5	26.32	17	14.53	0.1957	0.1937
Sal k 1	5	31.25	50	44.25	0.3251	0.4219

Tabla 23. Sensibilización a componentes alérgicos determinados mediante IgE Advia Centauro en pacientes con y sin SAO

7. Sensibilización a pólenes de los pacientes según que estén o no sensibilizados a panalérgenos.

A continuación nos vamos a ocupar de analizar la sensibilización a los alérgenos testados, según que los pacientes estén o no sensibilizados a panalérgenos. Lo haremos tanto si la sensibilización se ha medido mediante pruebas cutáneas como mediante la determinación de IgE específica.

Con el fin de hacer comparaciones entre los pacientes sensibilizados a los diferentes panalérgenos, se han creado cuatro grupos de pacientes. Por un lado los que no están sensibilizados ni a profilina ni a polcalcina, por otro, los pacientes sensibilizados solamente a polcalcina, por otro, los pacientes sensibilizados solamente a profilina, y por último, los pacientes sensibilizados a ambas. No se ha incluido un grupo de sensibilizados a LTP debido a que el número de pacientes sensibilizados es muy bajo.

7.1. Sensibilización a pólenes en pacientes sensibilizados a panalérgenos por prueba cutánea.

7.1.1. Sensibilización de los pacientes a los alérgenos estudiados por pruebas cutáneas según que estén o no sensibilizados a polcalcina y profilina mediante pruebas cutáneas.

En la figura 87 y en la tabla 24 se exponen los resultados de sensibilización a polcalcina y/o profilina en pacientes sensibilizados a los diferentes pólenes testados.

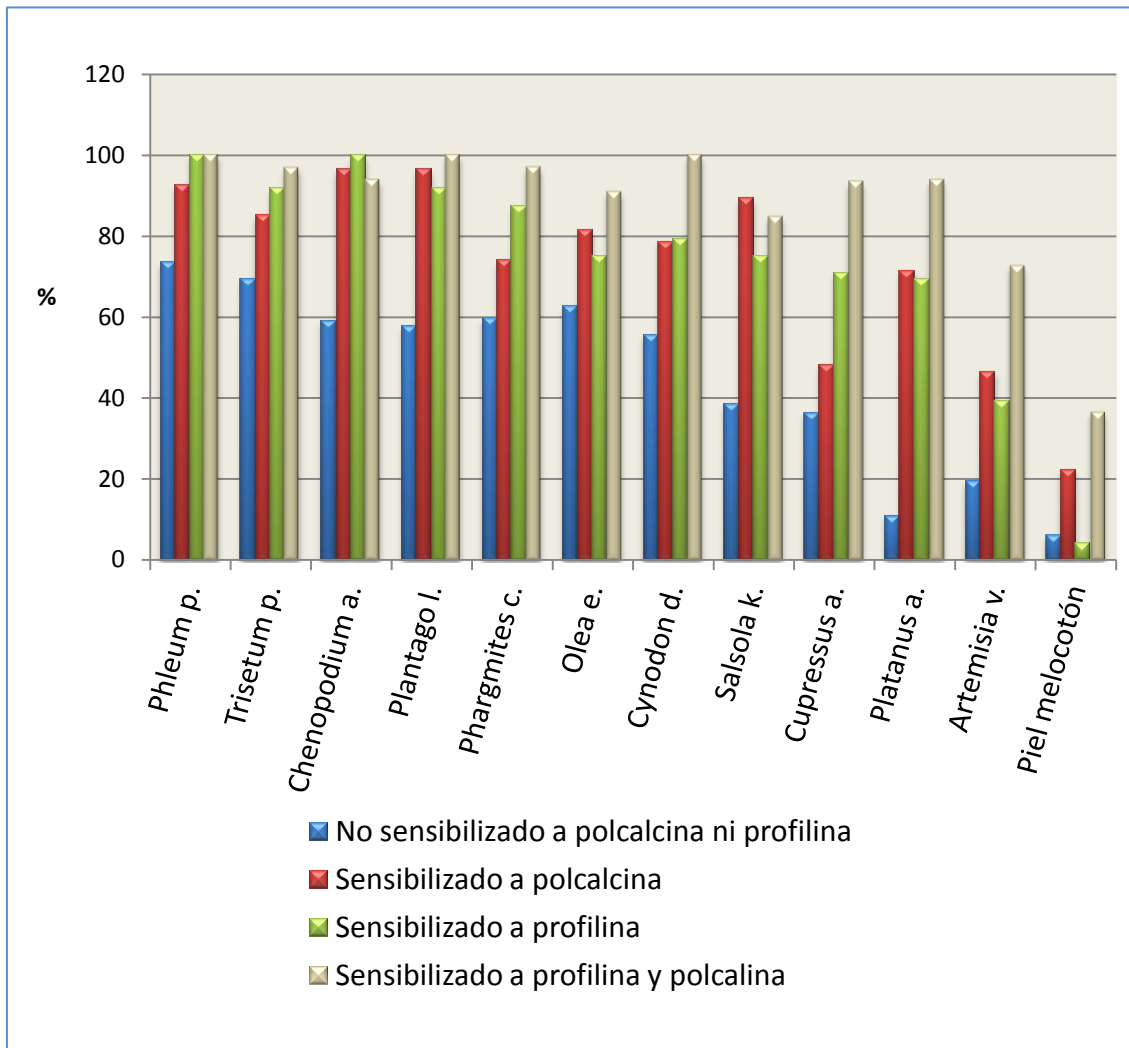


Figura 87. Sensibilización a pólenes mediante pruebas cutáneas según se esté o no sensibilizado a profilina, polcalcina, a ambas o a ninguna.

Como puede observarse, el tener pruebas cutáneas positivas a polcalcina y a profilina es más frecuente en quien tiene pruebas cutáneas positivas a pólenes. Estas diferencias son estadísticamente significativas con todos los alérgenos testados excepto con polen de olivo, en el que los niveles, no obstante, casi alcanzan dicha significación estadística.

PRUEBAS CUTÁNEAS PANALÉRGENOS	NO SENSIBLE		SENSIBLE POLCALCINA		SENSIBLE PROFILINA		PROFILINA Y POLCALCINA		P-VALOR	
	N	%	N	%	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
<i>OLEA EUROPAEA</i>	52	62.65	22	81.5	18	75	30	90.9	0.0121	0.0104
<i>PHLEUM PRATENSE</i>	61	73.49	25	92.6	24	100	33	100	0.0001	<.0001
<i>CUPRESSUS ARIZÓNICA</i>	30	36.14	13	48.2	17	70.8	29	93.6	<.0001	<.0001
<i>CYNODON DACTYLON</i>	46	55.42	22	78.6	19	79.2	32	100	<.0001	<.0001
<i>SALSOLA KALI</i>	31	38.27	25	89.3	18	75	28	84.9	<.0001	<.0001
<i>ARTEMISIA VULGARIS</i>	16	19.28	13	46.4	9	39.1	24	72.7	<.0001	<.0001
<i>PLANTAGO LANCEOLATA</i>	48	57.83	27	96.4	22	91.7	33	100	<.0001	<.0001
<i>TRisetum PANICEUM</i>	57	69.51	23	85.2	22	91.7	31	96.9	0.0028	0.0020
<i>PHRAGMITES COMMUNIS</i>	49	59.76	20	74.1	21	87.5	32	97.0	0.0002	<.0001
PIEL DE MELOCOTÓN	5	6.02	6	22.2	1	4.2	11	36.7	0.0001	0.0002
<i>PLATANUS ACERIFOLIA</i>	9	10.84	20	71.4	16	69.6	31	93.9	<.0001	<.0001
<i>CHENOPODIUM ALBUM</i>	49	59.04	27	96.4	23	100.0	31	93.9	<.0001	<.0001
POLCALCINA	.	.	28	100	.	.	33	100	.	.
PROFILINA	24	100.0	33	100	.	.

Tabla 24. Sensibilización a pólenes mediante pruebas cutáneas según se esté o no sensibilizado a profilina, polcalcina, a ambas o a ninguna, y el correspondiente estudio estadístico

7.1.2. Sensibilización de los pacientes a moléculas alergénicas (IgE Advia Centauro) según que estén o no sensibilizados a polcalcina y profilina mediante pruebas cutáneas.

Según puede verse en la figura 88, la sensibilización a Cup s 1 (alérgeno mayor de *Cupressus arizónica*), a Ole e 1 (alérgeno mayor de *Olea*

europa) y a Phl p 5 (alérgeno perteneciente al grupo 5 del polen de gramíneas), mediante IgE Advia Centauro, se encuentra con mayor frecuencia en pacientes sensibilizados a panalérgenos (polcalcina, profilina o ambos) mediante pruebas cutáneas, con diferencias estadísticamente significativas. Es evidente que la sensibilización a Ole e 2 y a Che a 3 también es más frecuente en quien tiene pruebas cutáneas positivas con profilina y polcalcina, ya que Ole e 2 es una profilina y Che a 3 es una polcalcina.

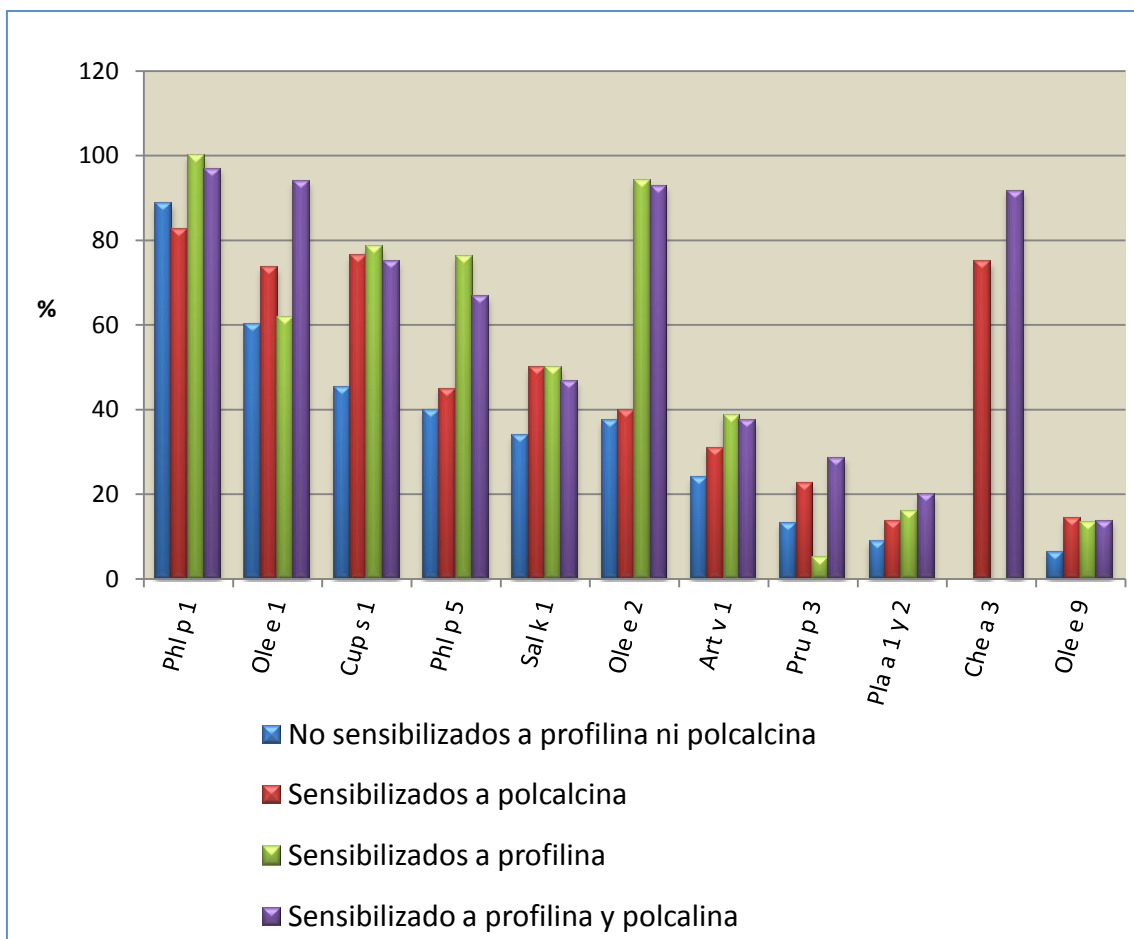


Figura 88. Sensibilización a panalérgenos mediante pruebas cutáneas según la sensibilización encontrada a moléculas alérgicas mediante Advia Centauro.

7.2. Sensibilización de los pacientes según que estén o no sensibilizados a polcalcina (Che a 3) por IgE Advia Centauro.

7.2.1. Sensibilización a alérgenos completos valorados por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a polcalcina (Che a 3) por IgE Advia Centauro (figura 89).

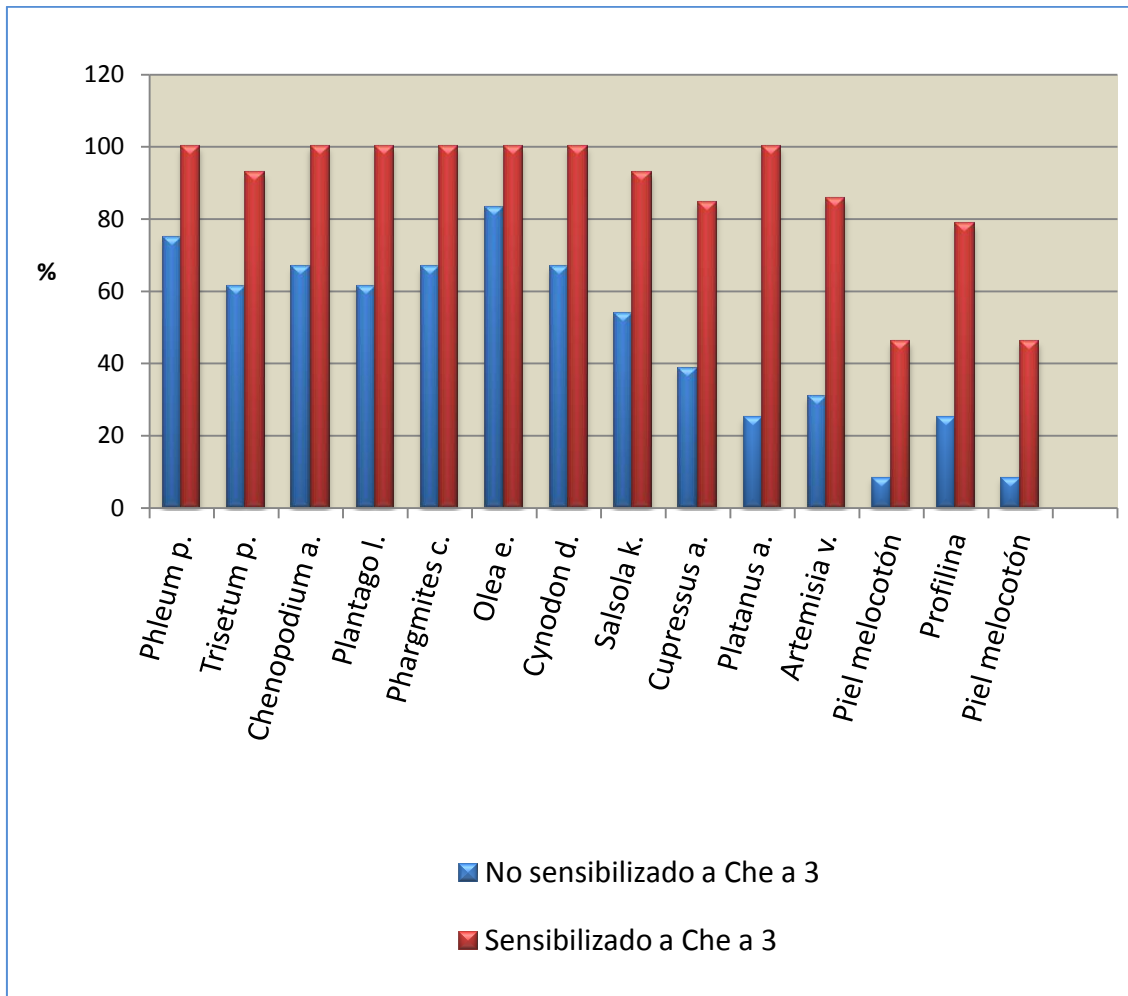


Figura 89. Sensibilización a alérgenos completos valorados por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a polcalcina (Che a 3) por IgE Advia Centauro

Puede observarse que la sensibilización a pólenes y a profilina como alérgeno completo mediante prueba cutánea, es más frecuente en sensibilizados a polcalcina (Che a 3) mediante Advia Centauro. Existe significación estadística con todos lo alérgenos testados excepto con *Olea europea* y *Trisetum paniceum*.

7.2.2. Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por IgE Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a polcalcina (Che a 3) por IgE Advia Centauro (figura 90 y tabla 25).

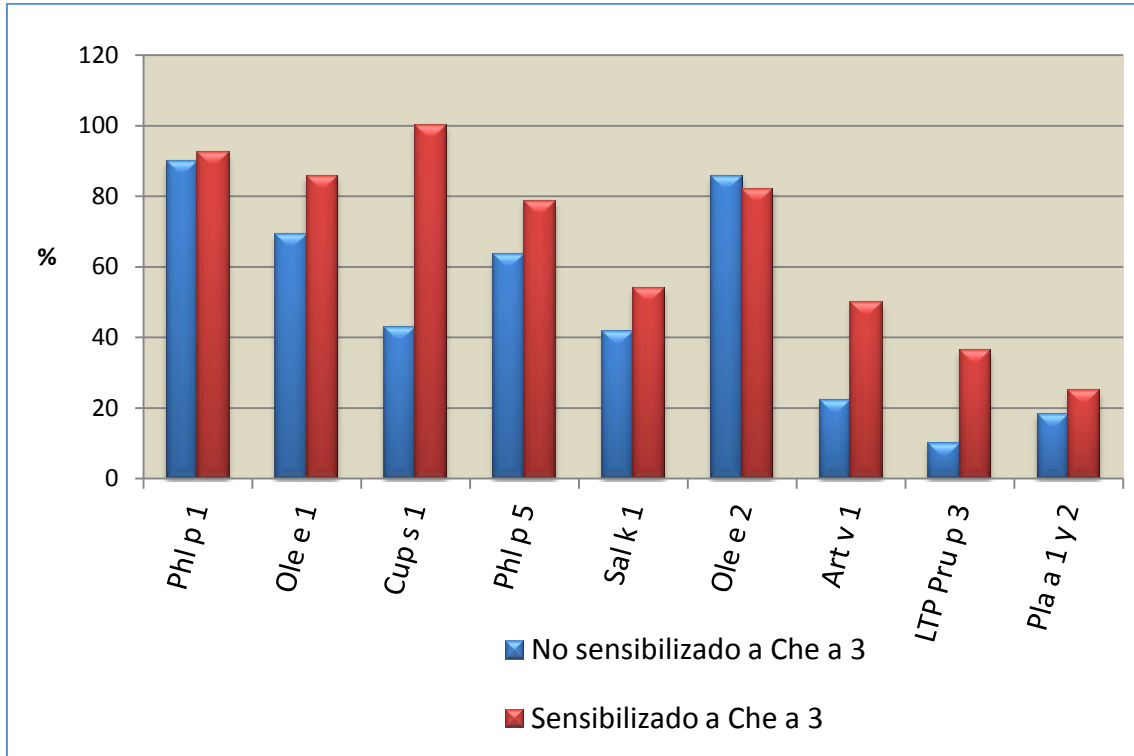


Figura 90. Sensibilización a moléculas alergénicas según si los pacientes están o no sensibilizados a polcalcina (Che a 3), ambos por Advia Centauro.

Puede observarse que la sensibilización a Cup s 1 es más frecuente en sensibilizados a Che a 3, con significación estadística. Esto no ocurre con el resto de alérgenos estudiados, en los que aunque siempre (salvo en el caso de Ole e 2) es más frecuente estar sensibilizado a un alérgeno si se está sensibilizado a polcalcina (Che a 3) no llega a alcanzarse la significación estadística.

POLCALCINA Che a 3	POSITIVO		NEGATIVO		P-VALOR	
	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
Art v 1	6	50.0	2	22.2	0.1946	0.3666
Cup s 1	10	100.0	3	42.9	0.0063	0.0147
Ole e 9	4	36.4	.	.	<i>0.0549</i>	0.1032
Ole e 1	12	85.7	9	69.2	0.3033	0.3845
Ole e 2	9	81.8	6	85.7	0.8288	1.0000
Phl p 1	12	92.3	9	90.0	0.8456	1.0000
Phl p 5	11	78.6	7	63.6	0.4090	0.6564
Pla a 1 y 2	3	25.0	2	18.2	0.6921	1.0000
LTP Pru p 3	4	36.4	1	10.0	0.1566	0.3108
Sal k 1	7	53.9	5	41.7	0.5425	0.6951

Tabla 25. Sensibilización a moléculas alergénicas según si los pacientes están o no sensibilizados a polcalcina (Che a 3), ambos por Advia Centauro.

7.3. Sensibilización de los pacientes según que estén o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro.

7.3.1. Sensibilización a alérgenos completos valorados por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro (figura 91 y tabla 26).

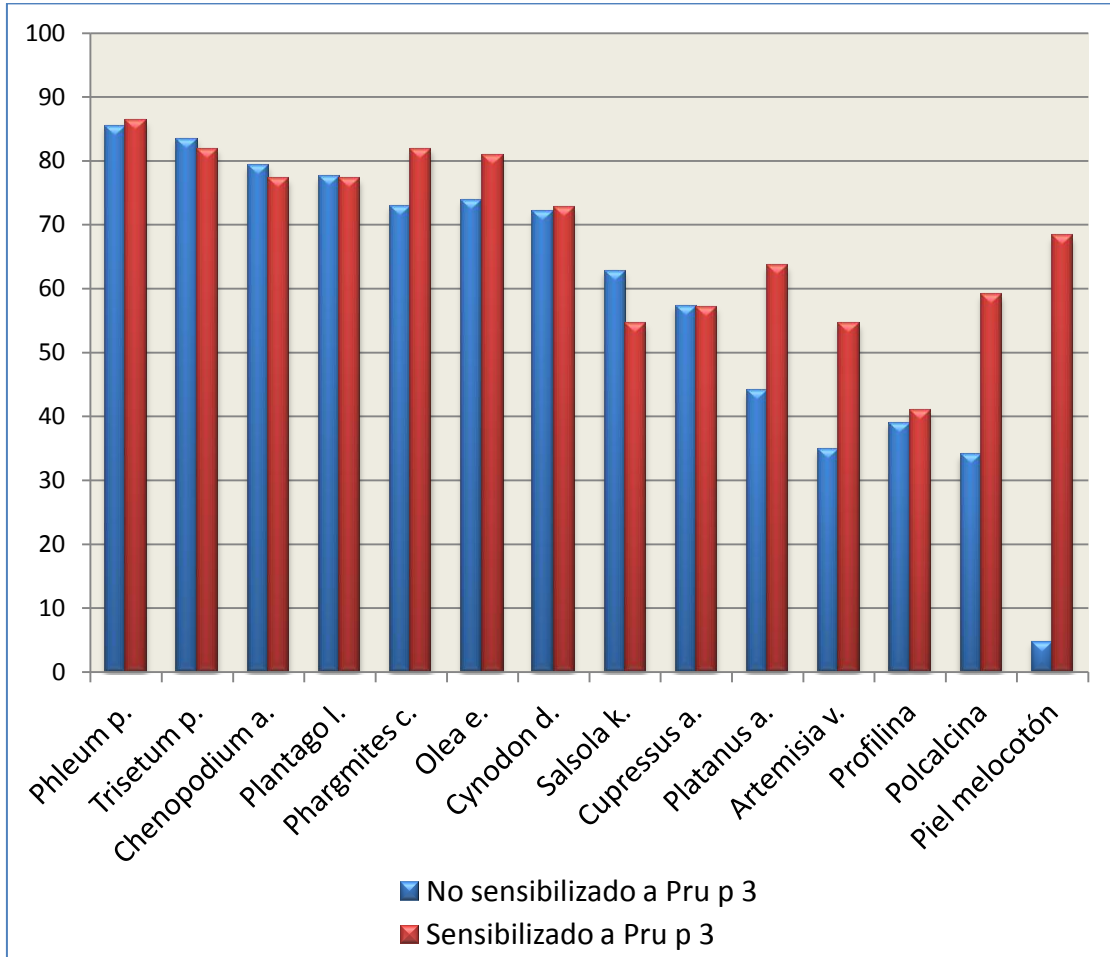


Figura 91. Sensibilización a alérgenos completos valorados por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro

Se observa lógicamente, ya que es una fuente de LTP, que la sensibilización a piel de melocotón es más frecuente, con significación estadística, en los sensibilizados a Pru p 3. La diferencia casi alcanza

significación estadística en sensibilizados a *Artemisia vulgaris* y a *Platanus acerifolia*.

LTP (Pru p 3)	POSITIVO		NEGATIVO		P VALOR	
	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
<i>OLEA EUROPAEA</i>	17	80.95	82	73.87	0.4921	0.5918
<i>PHLEUM PRATENSE</i>	19	86.36	94	85.45	0.9117	1.0000
<i>CUPRESSUS ARIZÓNICA</i>	12	57.14	63	57.27	0.9912	1.0000
<i>CYNODON DACTYLON</i>	16	72.73	80	72.07	0.9500	1.0000
<i>SALSOLA KALI</i>	12	54.55	69	62.73	0.4718	0.4818
<i>ARTEMISIA VULGARIS</i>	12	54.55	38	34.86	0.0830	0.0961
<i>PLANTAGO LANCEOLATA</i>	17	77.27	86	77.48	0.9833	1.0000
<i>TRisetum PANICEUM</i>	18	81.82	91	83.49	0.8486	0.7643
<i>PHRAGMITES COMMUNIS</i>	18	81.82	81	72.97	0.3849	0.5928
PIEL DE MELOCOTÓN	15	68.18	5	4.72	<.0001	<.0001
<i>PLATANUS ACERIFOLIA</i>	14	63.64	48	44.04	0.0930	0.1062
<i>CHENOPODIUM ALBUM</i>	17	77.27	88	79.28	0.8330	0.7814
POLCALCINA	13	59.09	37	33.94	0.0268	0.0323
PROFILINA	9	40.91	39	35.78	0.6488	0.6372

Tabla 26. Sensibilización a alérgenos completos valorados por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro.

7.3.2. Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por IgE Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro.

Como puede observarse en la figura 92 y en tabla 27, es más frecuente estar sensibilizado a los alérgenos estudiados si se está sensibilizado a Pru p 3, salvo en el caso de Phl p 1 y Sal k 1, pero sólo se encuentra significación estadística en el caso de los alérgenos de *Platanus acerifolia*, Pla a 1 y 2.

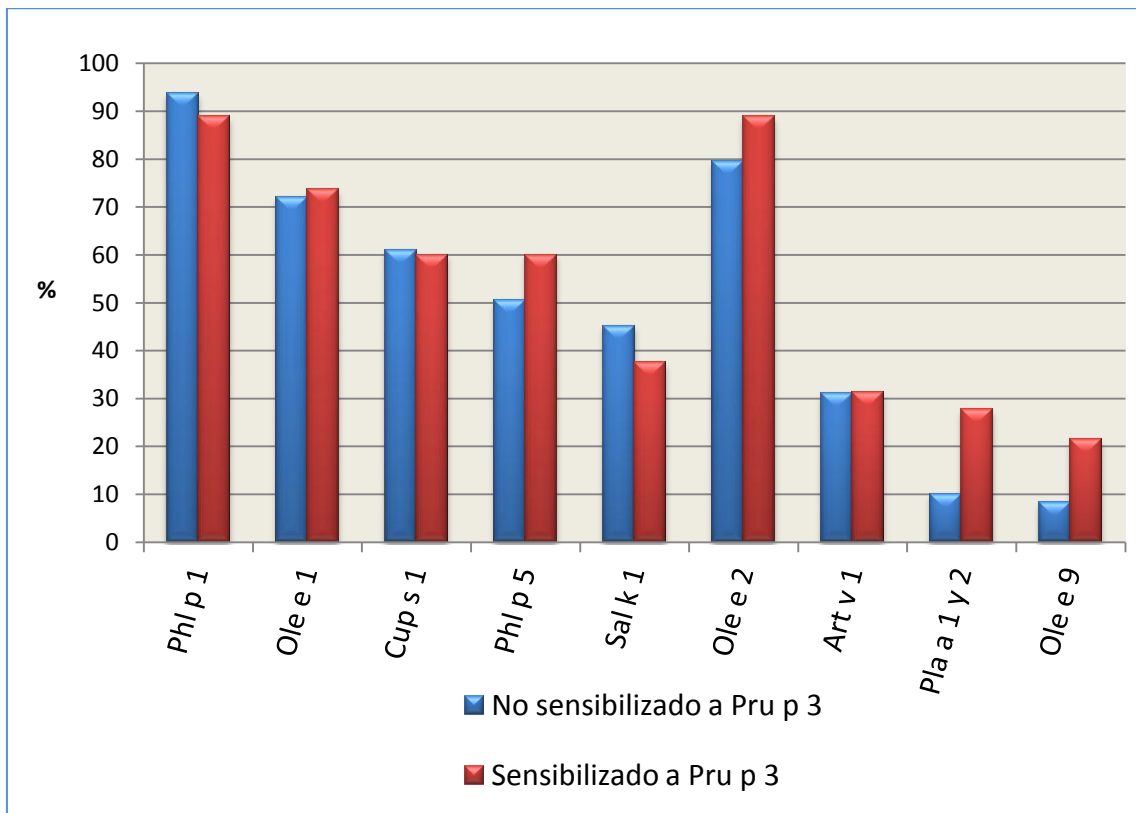


Figura 92. Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por IgE Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro.

LTP Pru p 3	POSITIVO		NEGATIVO		P-VALOR	
	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
Art v 1	5	31.25	19	31.15	0.9937	1.0000
Cup s 1	9	60.00	50	60.98	0.9433	1.0000
Ole e 9	3	21.43	6	8.33	0.1430	0.1590
Ole e 1	14	73.68	67	72.04	0.8842	1.0000
Ole e 2	8	88.89	35	79.55	0.5139	1.0000
Phl p 1	16	88.89	90	93.75	0.4588	0.6102
Phl p 5	12	60.00	47	50.54	0.4422	0.4709
Pl a 1 y 2	5	27.78	9	10.11	0.0427	0.0576
Sal k 1	6	37.50	42	45.16	0.5685	0.5997

Tabla 27. Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por IgE Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a LTP (Pru p 3) por IgE Advia Centauro.

7.4. Sensibilización de los pacientes según que estén o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por IgE Advia Centauro.

7.4.1. Sensibilización a alérgenos completos valorada por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por IgE Advia Centauro (figura 93 y tabla 28)

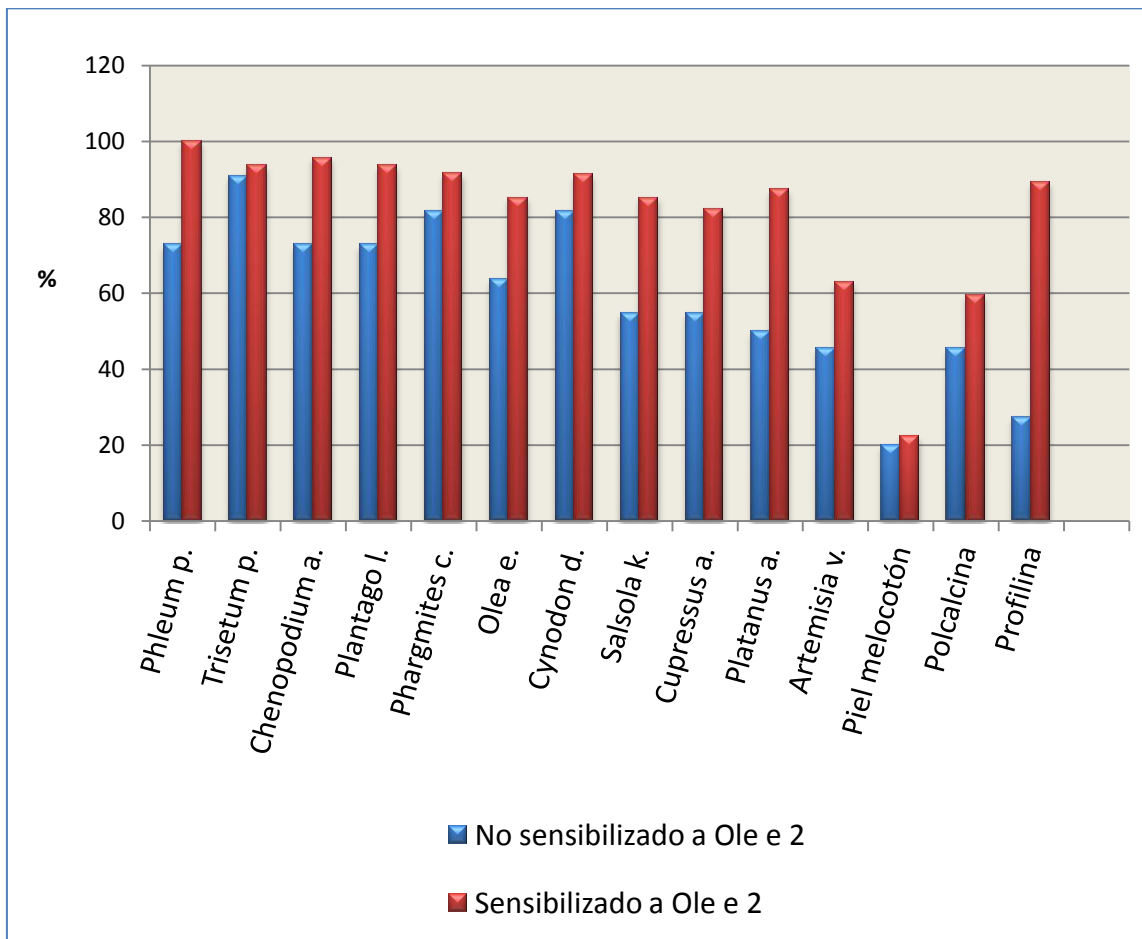


Figura 93. Sensibilización a alérgenos completos valorada por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por IgE Advia Centauro.

PROFILINA (Ole e 2) (Sensibilidad>3)	POSITIVO		NEGATIVO		P-VALOR	
	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
<i>OLEA EUROPAEA</i>	40	85.11	7	63.64	0.1020	0.1928
<i>PHLEUM PRATENSE</i>	48	100.0	8	72.73	0.0002	0.0051
<i>CUPRESSUS ARIZÓNICA</i>	37	82.22	6	54.55	0.0513	0.1039
<i>CYNODON DACTYLON</i>	42	91.30	9	81.82	0.3571	0.3264
<i>SALSOLA KALI</i>	40	85.11	6	54.55	0.0243	0.0387
<i>ARTEMISIA VULGARIS</i>	29	63.04	5	45.45	0.2854	0.3223
<i>PLANTAGO LANCEOLATA</i>	44	93.62	8	72.73	0.0406	0.0755
<i>TRisetum PANICEUM</i>	44	93.62	10	90.91	0.7497	1.0000
<i>PHRAGMITES COMMUNIS</i>	43	91.49	9	81.82	0.3431	0.3178
PIEL DE MELOCOTÓN	10	22.22	2	20.00	0.8777	1.0000
<i>PLATANUS ACERIFOLIA</i>	41	87.23	5	50.00	0.0067	0.0165
<i>CHENOPODIUM ALBUM</i>	44	95.65	8	72.73	0.0158	0.0445
POLCALCINA	28	59.57	5	45.45	0.3946	0.5042
PROFILINA	42	89.36	3	27.27	<.0001	<.0001

Tabla 28. Sensibilización a alérgenos completos valorada por pruebas cutáneas según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por IgE Advia Centauro.

Como puede observarse en la figura 93 y en la tabla 28, la sensibilización a los alérgenos completos estudiados, tanto aeroalérgenos como panalérgenos, se encuentra con más frecuencia en los sensibilizados a Ole e 2. Se alcanza significación estadística en los casos de *Phleum pratense*, *Salsola kali*, *Plantago lanceolata*, *Platanus acerifolia*, *Chenopodium album* y lógicamente profilina. Casi se alcanza la significación estadística en el caso de *Cupressus arizónica*.

7.4.2. Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por Advia Centauro (figura 94 y tabla 29).

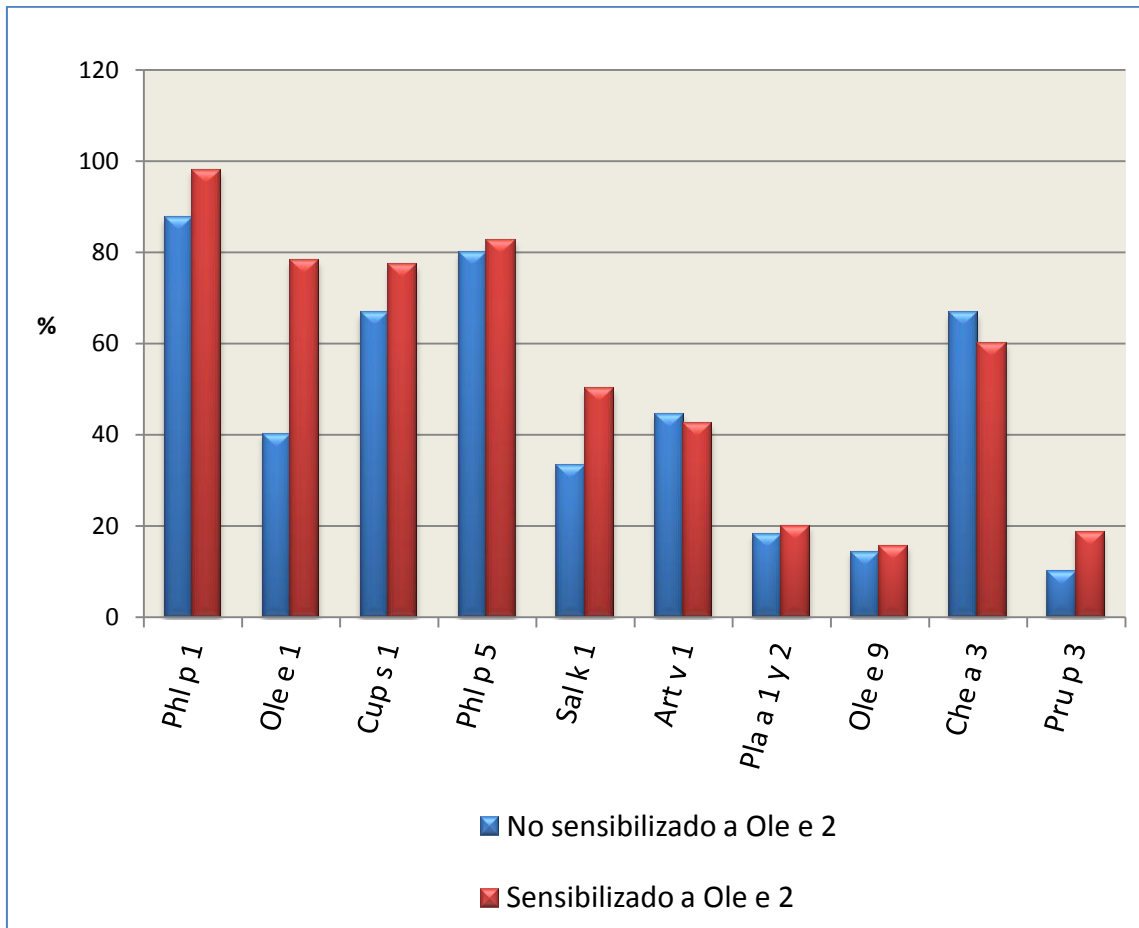


Figura 94. Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por Advia Centauro.

Profilina Ole e 2	POSITIVO		NEGATIVO		P-VALOR	
	N	%	N	%	CHI CUADRADO	FISHER
Art v 1	14	42.42	4	44.44	0.9136	1.0000
Cup s 1	27	77.14	6	66.67	0.5174	0.6686
Ole e 9	5	15.63	1	14.29	0.9291	1.0000
Ole e 1	37	78.72	4	40.00	0.0133	0.0219
Phl p 1	47	97.92	7	87.50	0.1416	0.2675
Phl p 5	38	82.61	8	80.00	0.8452	1.0000
Pla a 1 y 2	8	20.00	2	18.18	0.8930	1.0000
Che a 3	9	60.00	2	66.67	0.8288	1.0000
Pru p 3	8	18.60	1	10.00	0.5139	1.0000
Sal k 1	21	50.00	3	33.33	0.3633	0.4728

Tabla 29. Sensibilización a moléculas alergénicas valorada por Advia Centauro según si los pacientes están o no sensibilizados a profilina (Ole e 2) por Advia Centauro.

Como puede observarse en la tabla y en la figura precedentes, la sensibilización a Ole e 1 (alérgeno mayor del olivo), es más frecuente, de forma estadísticamente significativa, en los sensibilizados a Ole e 2 (profilina) que en los que no lo están. Aunque sin significación estadística, ocurre lo mismo con el resto de moléculas alergénicas de los aeroalérgenos estudiados.

8. Grado de concordancia entre las distintas técnicas diagnósticas empleadas.

8.1. Diferencias en las prevalencias de sensibilización por ambas técnicas.

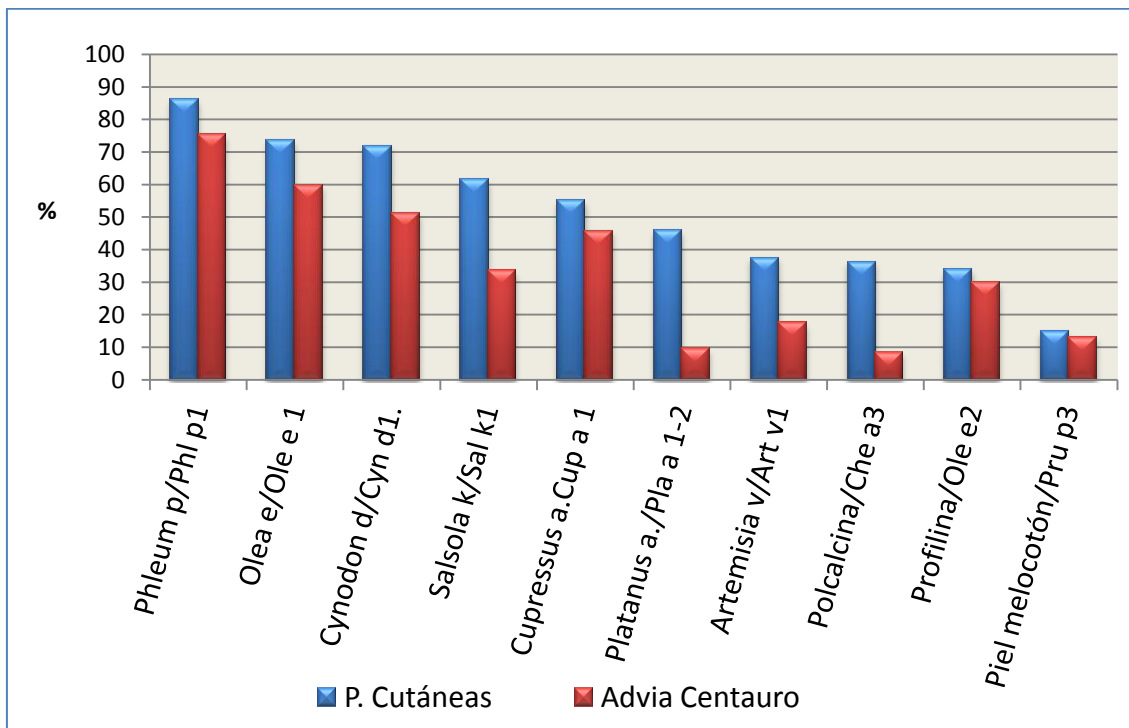


Figura 95. Prevalencia de sensibilización a pólenes y panalérgenos mediante pruebas cutáneas y a sus componentes alérgicos mediante Advia Centauro

Como puede observarse en la figura 95 mostramos de forma generalizada y conjunta la prevalencia de sensibilización con los extractos de pólenes testados mediante pruebas cutáneas y sus componentes alérgicos por Advia Centauro, así como los panalérgenos determinados por ambos métodos. Se observa de forma general una importante diferencia de prevalencia en sensibilización cutánea con algunos extractos de pólenes y la sensibilización a sus alérgenos mayores. Destacan la *Salsola kali*, el

Platanus acerifolia y la *Artemisa vulgaris*. En cuanto a los panalérgenos destaca la diferencia de sensibilización a polcalcina.

8.2. Grado de concordancia entre pruebas cutáneas y determinación de IgE Advia Centauro.

Queremos comparar la correlación entre ambas técnicas en todos los pacientes. Presentaremos inicialmente los resultados en el global de los pacientes incluidos en el estudio. Más tarde presentaremos los resultados obtenidos en aquellos pacientes no sensibilizados a ningún panalérgeno, luego los sensibilizados a polcalcina y, por último, los sensibilizados a profilina. Con esto pretendemos determinar si la concordancia de ambas pruebas (TC y AC) se ve modificada por la sensibilización a panalérgenos.

8.2.1. Concordancia entre las pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica por AC en el global de los pacientes incluidos (tablas 30-41).

PC OLIVO	Ole e 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	92	94.85	22	53.66	114	82.61
NEGATIVO	5	5.15	19	46.34	24	17.39
Total	97	100.0	41	100.0	138	100.0
P<0.0001						
Kappa				0.47		

Tabla 30: Concordancia entre *Olea europea* (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

PC OLIVO	Ole e 1 y Ole e 9				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	99	91.67	20	42.55	119	76.77
NEGATIVO	9	8.33	27	57.45	36	23.23
Total	108	100.0	47	100.0	155	100.0
P<0.0001						
Kappa				0.53		

Tabla 31: Concordancia entre *Olea europaea* (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 y Ole e 9 medidos por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

PC HIERBA TIMOTEA	Phl p 1 y Phl p 5				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	121	96.80	12	48.00	133	88.67
NEGATIVO	4	3.20	13	52.00	17	11.33
Total	125	100.0	25	100.0	150	100.0
P<0.0001						
Kappa				0.56		

Tabla 32: Concordancia entre *Phleum pratense* (hierba timotea) medido por prueba cutánea y Phl p 1 y Phl p 5 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

PC PLÁTANO DE SOMBRA	Pla a 1 y 2				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	12	75.00	84	77.78	96	77.42
NEGATIVO	4	25.00	24	22.22	28	22.58
Total	16	100.0	108	100.0	124	100.0
P=0.0059						
Kappa			-0.0089			

Tabla 33: Concordancia entre *Platanus acerifolia* (plátano de sombra) medido por prueba cutánea y Pla 1 y 2 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

PC CIPRÉS	Cup s 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	61	85.92	12	28.57	73	64.60
NEGATIVO	10	14.08	30	71.43	40	35.40
Total	71	100.0	42	100.0	113	100.0
P<0.0001						
Kappa			0.60			

Tabla 34: Concordancia entre *Cupressus sempervirens* (ciprés) medido por prueba cutánea y Cup s 1 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

PC SALSOLA	Sal k 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	52	98.11	33	47.14	85	69.11
NEGATIVO	1	1.89	37	52.86	38	30.89
Total	53	100.0	70	100.0	123	100.0
P<0.0001						
Kappa			0.50			

Tabla 35: Concordancia entre *Salsola kali* medido por prueba cutánea y Sal k 1 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

PC ARTEMISIA	Art v 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	28	96.55	15	22.39	43	44.79
NEGATIVO	1	3.45	52	77.61	53	55.21
Total	29	100.0	67	100.0	96	100.0
P<0.0001						
Kappa			0.66			

Tabla 36: Concordancia entre *Artemisia vulgaris* medido por prueba cutánea y Art v 1 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

PC PIEL DE MELOCOTÓN	Pru p 3				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	15	68.18	5	4.72	20	15.63
NEGATIVO	7	31.82	101	95.28	108	84.38
Total	22	100.0	106	100.0	128	100.0
P<0.0001						
Kappa			0.66			

Tabla 37: Concordancia entre piel de melocotón medido por prueba cutánea y Pru p 3 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

PC CENIZO	Che a 3				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	13	92.86	7	58.33	20	76.92
NEGATIVO	1	7.14	5	41.67	6	23.08
Total	14	100.0	12	100.0	26	100.0
P=0.1459						
Kappa			0.36			

Tabla 38: Concordancia entre *Chenopodium album* (cenizo) medido por prueba cutánea y Che a 3 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

PC POLCALCINA	Che a 3				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	13	92.86	.	.	13	50.00
NEGATIVO	1	7.14	12	100.0	13	50.00
Total	14	100.0	12	100.0	26	100.0
P<0.0001						
Kappa				0.92		

Tabla 39: Concordancia entre polcalcina medido por prueba cutánea y Che a 3 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

PC OLIVO (sensibilidad>3)	Ole e 2				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	40	85.11	7	63.64	47	81.03
NEGATIVO	7	14.89	4	36.36	11	18.97
Total	47	100.0	11	100.0	58	100.0
P<0.0001						
Kappa				0.2147		

Tabla 40: Concordancia entre *Olea europea* medido por prueba cutánea y Ole e 2 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

Ole e 2	PC PROFILINA				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	42	76.36	5	5.15	47	30.92
NEGATIVO	13	23.64	92	94.85	105	69.08
Total	55	100.0	97	100.0	152	100.0
P<0.0001						
Kappa				0.74		

Tabla 41: Concordancia entre profilina medido por prueba cutánea y Ole e 2 medido por IgE Advia Centauro en el global de pacientes.

8.2.2. Concordancia entre las pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica por AC en pacientes no sensibilizados a panalérgenos (tablas 42-48)

PC OLIVO	Ole e 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	46	71.88	18	28.13	64	100.0
NEGATIVO	2	6.45	29	93.55	31	100.0
Total	48	50.53	47	49.47	95	100.0
P<0.0001						
Kappa				0.58		

Tabla 42: Concordancia entre *Olea europea* (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.

PC OLIVO	Ole e 1 + 9				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	46	71.88	18	28.13	64	100.0
NEGATIVO	2	6.45	29	93.55	31	100.0
Total	48	50.53	47	49.47	95	100.0
P<0.0001						
Kappa			0.58			

Tabla 43: Concordancia entre *Olea europea* (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 y 9 medidos por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.

Phl p 1 + 5	PC Phleum pratense				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	62	86.11	4	20.00	66	71.74
NEGATIVO	10	13.89	16	80.00	26	28.26
Total	72	100.0	20	100.0	92	100.0
P<0.0001						
Kappa			0.60			

Tabla 44: concordancia entre *Phleum pratense* (hierba timotea) medido por prueba cutánea y Phl p1 y Phl p5 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.

PC PLÁTANO DE SOMBRA	Pla a 1 y 2				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	3	60.00	61	70.93	64	70.33
NEGATIVO	2	40.00	25	29.07	27	29.67
Total	5	100.0	86	100.0	91	100.0
P=0.3145						
Kappa				-0.017		

Tabla 45: concordancia entre *Platanus acerifolia* (plátano de sombra) medido por prueba cutánea y Pla a 1 y 2 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.

PC CUPRESSUS SEMPERVIRENS (Ciprés)	Cup s 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	34	85.00	12	22.64	46	49.46
NEGATIVO	6	15.00	41	77.36	47	50.54
Total	40	100.0	53	100.0	93	100.0
P<0.0001						
Kappa				0.6123		

Tabla 46: concordancia entre *Cupressus sempervirens* (ciprés) medido por prueba cutánea y Cup s 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.

PC SALSOLA KALI	Sal k 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	28	96.55	19	32.20	47	53.41
NEGATIVO	1	3.45	40	67.80	41	46.59
Total	29	100.0	59	100.0	88	100.0
P<0.0001						
Kappa			0.56			

Tabla 47: concordancia entre *Salsola kali* medido por prueba cutánea y Sal k 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.

PC ARTEMISIA	Art v 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	9	90.00	13	16.46	22	24.72
NEGATIVO	1	10.00	66	83.54	67	75.28
Total	10	100.0	79	100.0	89	100.0
P<0.0001						
Kappa			0.48			

Tabla 48: concordancia entre *Artemisia vulgaris* medido por prueba cutánea y Art v 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes no sensibilizados a panalérgenos.

8.2.3. Concordancia entre las pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica por AC en pacientes sensibilizados a profilina (tablas 49-59)

Ole e 1	PC OLIVO				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	33	82.50	3	42.86	36	76.60
NEGATIVO	7	17.50	4	57.14	11	23.40
Total	40	100.0	7	100.0	47	100.0
P=0.0375						
Kappa				0.32		

Tabla 49: concordancia entre *Olea europea* (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina

Ole e 1 + 9	PC OLIVO				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	33	82.50	3	42.86	36	76.60
NEGATIVO	7	17.50	4	57.14	11	23.40
Total	40	100.0	7	100.0	47	100.0
P=0.0375						
Kappa				0.32		

Tabla 50: concordancia entre *Olea europea* (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 + 9 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.

Phl p 1 + 5	PC Phleum pratense		Total	
	POSITIVO			
	N	%	N	%
POSITIVO	46	95.83	46	95.83
NEGATIVO	2	4.17	2	4.17
Total	48	100.0	48	100.0

Tabla 51: concordancia entre *Phleum pratense* (hierba timotea) medido por prueba cutánea y Phl p 1 + 5 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.

PC PLÁTANO DE SOMBRA	Pla a 1 y 2				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	8	100.0	36	92.31	44	93.62
NEGATIVO	.	.	3	7.69	3	6.38
Total	8	100.0	39	100.0	47	100.0
P=0.5636						
Kappa				0.0276		

Tabla 52: concordancia entre *Platanus acerifolia* (plátano de sombra) medido por prueba cutánea y Pla a 1 + 2 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.

PC CUPRESSUS SEMPERVIRENS (ciprés)	Cup s 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	23	92.00	13	68.42	36	81.82
NEGATIVO	2	8.00	6	31.58	8	18.18
Total	25	100.0	19	100.0	44	100.0
P=0.0459						
Kappa			0.25			

Tabla 53: concordancia entre *Cupressus sempervirens* (ciprés) medido por prueba cutánea y Cup s 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.

PC SALSOLA KALI	Sal k 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	20	100.0	20	74.07	40	85.11
NEGATIVO	.	.	7	25.93	7	14.89
Total	20	100.0	27	100.0	47	100.0
P=0.0141						
Kappa			0.23			

Tabla 54: concordancia entre *Salsola kali* medido por prueba cutánea y Sal k 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.

PC ARTEMISIA VULGARIS	Art v 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	14	100.0	15	46.88	29	63.04
NEGATIVO	.	.	17	53.13	17	36.96
Total	14	100.0	32	100.0	46	100.0
P=0.006						
Kappa			0.41			

Tabla 55: concordancia entre *Artemisia vulgaris* medido por prueba cutánea y Art v 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.

PC PIEL DE MELOCOTÓN	LTP Pru p 3				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	7	87.50	3	8.11	10	22.22
NEGATIVO	1	12.50	34	91.89	35	77.78
Total	8	100.0	37	100.0	45	100.0
P<0.0001						
Kappa			0.72			

Tabla 56: concordancia entre piel de melocotón medido por prueba cutánea y Pru p 3 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.

PC CHENOPODIUM ALBUM	Che a 3				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	9	100.0	35	94.59	44	95.65
NEGATIVO	.	.	2	5.41	2	4.35
Total	9	100.0	37	100.0	46	100.0
P=0.6435						
Kappa			0.02			

Tabla 57: concordancia entre *Chenopodium album* (cenizo) medido por prueba cutánea y Che a 3 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.

PC POLCALCINA	Che a 3				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	4	80.00	6	15.79	15	31.91
NEGATIVO	1	20.00	32	84.21	32	68.09
Total	5	100.0	38	100.0	47	100.0
P<0.0001						
Kappa			0.67			

Tabla 58: concordancia entre polcalcina medido por prueba cutánea y Che a 3 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.

PC PROFILINA	Ole e 2 POSITIVO		Total	
	N	%	N	%
POSITIVO	48	100.0	48	100.0
Total	48	100.0	48	100.0

Tabla 59: concordancia entre profilina medido por prueba cutánea y Ole e 2 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a profilina.

8.2.4. Concordancia entre las pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica por AC en pacientes sensibilizados a polcalcina (tablas 60-68)

Ole e 1	PC OLIVO POSITIVO		Total	
	N	%	N	%
POSITIVO	5	100.0	5	100.0
Total	5	100.0	5	100.0

Tabla 60: concordancia entre *Olea europea* (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.

Ole e 1 + 9	PC OLIVO		Total	
	POSITIVO			
	N	%	N	%
POSITIVO	5	100.0	5	100.0
Total	5	100.0	5	100.0

Tabla 61: concordancia entre *Olea europea* (olivo) medido por prueba cutánea y Ole e 1 + 9 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.

Phl p 1 + 5	PC Phleum pratense		Total	
	POSITIVO			
	N	%	N	%
POSITIVO	4	80.00	4	80.00
NEGATIVO	1	20.00	1	20.00
Total	5	100.0	5	100.0

Tabla 62: concordancia entre *Phleum pratense* (hierba timotea) medido por prueba cutánea y Phl p 1 + 5 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.

PC PLÁTANO DE SOMBRA	Pla a 1 y 2				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	1	100.0	4	100.0	5	100.0
Total	1	100.0	4	100.0	5	100.0

Tabla 63: concordancia entre *Platanus acerifolia* (plátano de sombra) medido por prueba cutánea y Pla 1 + 2 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.

PC CUPRESSUS SEMPERVIRENS (ciprés)	Cup s 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO		Total	
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	23	92.00	13	68.42	36	81.82
NEGATIVO	2	8.00	6	31.58	8	18.18
Total	25	100.0	19	100.0	44	100.0
P= 0.0459						
Kappa				0.2534		

Tabla 64: concordancia entre *Cupressus sempervirens* (ciprés) medido por prueba cutánea y Cup s 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.

PC SALSOLA KALI	Sal k 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO		Total	
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	2	100.0	2	66.67	4	80.00
NEGATIVO	.	.	1	33.33	1	20.00
Total	2	100.0	3	100.0	5	100.0
P= 0.6000						
Kappa				0.2857		

Tabla 65: concordancia entre *Salsola kali* medido por prueba cutánea y Sal k 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.

PC ARTEMISIA VULGARIS	Art v 1				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	3	100.0	1	50.00	4	80.00
NEGATIVO	.	.	1	50.00	1	20.00
Total	3	100.0	2	100.0	5	100.0
P= 0.4000						
Kappa			0.5455			

Tabla 66: concordancia entre *Artemisia vulgaris* medido por prueba cutánea y Art v 1 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.

PC PIEL DE MELOCOTÓN	Pru p 3				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	N	%	N	%	N	%
POSITIVO	2	100.0	1	33.33	3	60.00
NEGATIVO	.	.	2	66.67	2	40.00
Total	2	100.0	3	100.0	5	100.0
P=0.3000						
Kappa			0.6154			

Tabla 67: concordancia entre piel de melocotón medido por prueba cutánea y Pru p 3 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.

PC POLCALINA	Che a 3		Total	
	POSITIVO			
	N	%	N	%
POSITIVO	4	80.00	4	80.00
NEGATIVO	1	20.00	1	20.00
Total	5	100.0	5	100.0

Tabla 68: concordancia entre *Chenopodium album* (cenizo) medido por prueba cutánea y Che a 3 medido por IgE Advia Centauro en pacientes sensibilizados a polcalcina.

En la figura 96 se muestran los datos de las concordancias que han alcanzado significación estadística, en los diversos grupos estudiados, y su comparación.

Se muestran de forma decreciente de izquierda a derecha, en el global de los pacientes, la concordancia de los diferentes alérgenos estudiados. Es muy buena la correlación de los panalérgenos testados. Destaca la polcalcina, seguidos de profilina y piel de melocotón (0.92, 0.77 y 0.66 respectivamente). Por el otro extremo de la gráfica se observa una mala correlación de Plátano de sombra con sus alérgenos mayores, y con Olivo y Cenizo con profilina y polcalcina respectivamente. La baja correlación encontrada en el caso del Plátano de sombra podría deberse al factor de confusión causado por la sensibilización a panalérgenos, aunque pensamos que deben existir otros factores que expliquen esta enorme discordancia. Por otro lado, el empleo de Olivo y Cenizo en prueba cutánea como marcador de sensibilización a profilina y polcalcina respectivamente, no es una buena herramienta diagnóstica. También se muestra en la gráfica cómo influye en la concordancia de las dos técnicas diagnósticas

empleadas el que los pacientes estén o no sensibilizados a panalérgenos. Puede observarse cómo, la concordancia es mayor cuando los pacientes no están sensibilizados a ninguno de los tres panalérgenos estudiados, y cómo disminuye en el caso de pacientes sensibilizados a panalérgenos, sobre todo si están sensibilizados a profilina.

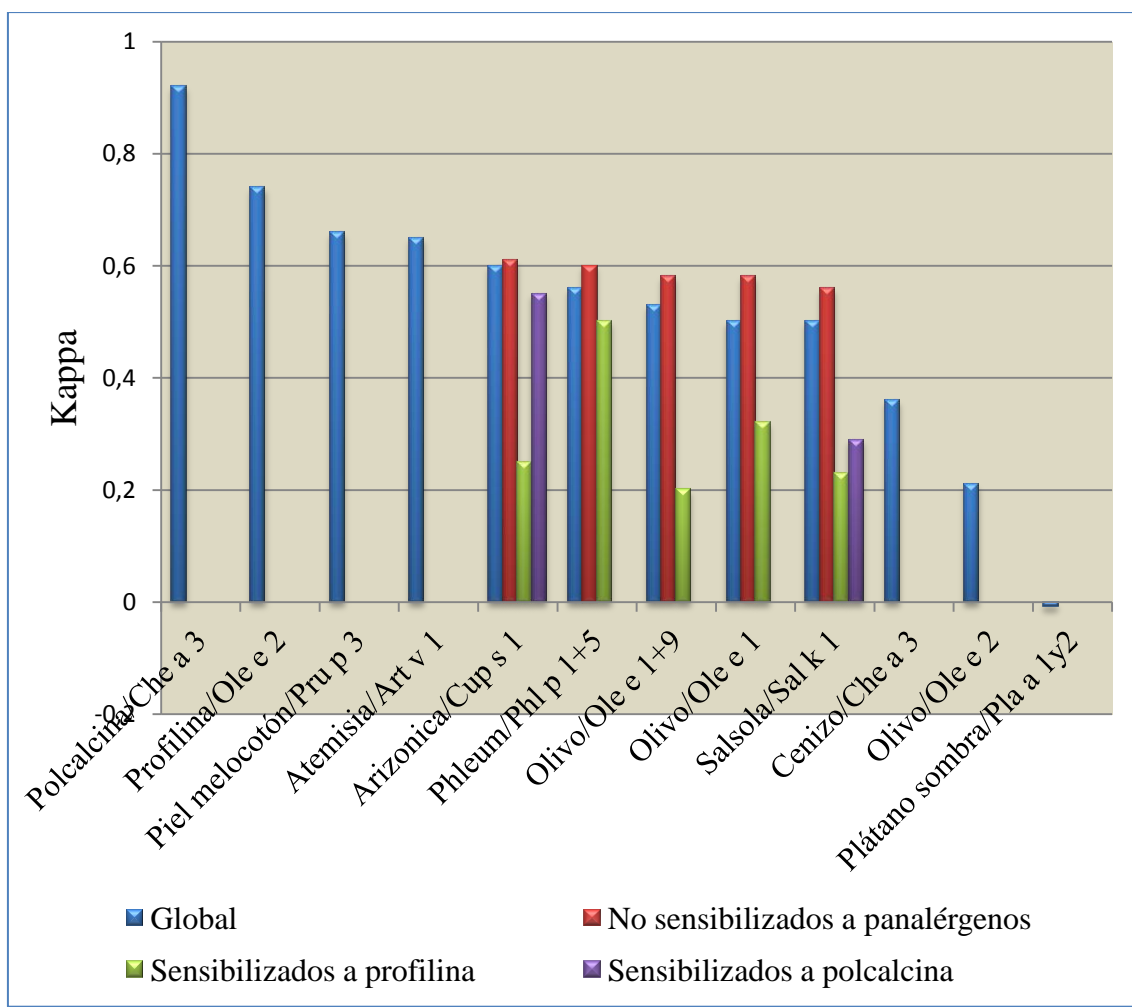


Figura 96. Concordancia de resultados obtenidos entre pruebas cutáneas y determinación de IgE específica por Advia Centauro. Se muestran los valores estadísticamente significativos.

9. Determinación de la posible asociación de la sensibilización a panalérgenos con los diferentes pólenes.

La pregunta que nos hacemos y a la que pretendemos responder es, ¿la sensibilización a panalérgenos se asocia a la sensibilización a alguno de los pólenes testados?

Para responder a esta pregunta se ha realizado un modelo de regresión logística utilizando como variable a predecir el valor de la sensibilidad a Ole e 2, tomando como valor positivo, valores iguales o mayores a 0,35 ku/l. En cuanto a la sensibilidad de la prueba cutánea, se ha tomado como positiva un valor mayor de 3 mm.

En la tabla 69 y en la figura 97 se muestra la relación entre la sensibilidad al alérgeno Ole e 2 (profilina) , según se observe la presencia de los alérgenos medidos por prueba cutánea.

Se observa una gran relación entre la presencia de prueba cutánea a *Phleum pratense* y la sensibilidad a Ole e 2.

La sensibilidad de ser sensible a Ole e 2 es 26 veces mayor entre los pacientes sensibilizados a *Phelum pratense* mediante pruebas cutáneas que entre los no sensibilizados.

Por otro lado, se observa que la presencia de sensibilidad a Ole e 2 es 59 veces mayor entre los pacientes sensibilizados a profilina mediante prueba cutánea que entre los no sensibilizados a este extracto.

Factor	OR	Lower 95%	Upper 95%
Ole e 2 by P3 diam OLIVO	2,523341	1,027221	6,199628
Ole e 2 by P3 diam <i>PHLEUM PRATENSE</i>	26,38522	1,565925	434,7826
Ole e 2 by P3 diam <i>CUPRESSUS SEMPERVIRENS</i>	4,625347	1,975504	10,83424
Ole e 2 by P3 diam <i>CYNODON DACTYLON</i>	5,701254	1,899335	17,09402
Ole e 2 by P3 diam <i>SALSOLA KALI</i>	5,194805	2,134016	12,64223
Ole e 2 by P3 diam <i>ARTEMISIA VULGARIS</i>	4,321521	2,076843	8,992806
Ole e 2 by P3 diam <i>PLANTAGO LANCEOLATA</i>	5,903188	1,705902	20,4499
Ole e 2 by P3 diam <i>TRisetum PANICEUM</i>	4,364906	1,248284	15,26718
Ole_e_2 by P3_DIAM_ <i>PHRAGMITES COMMUNIS</i>	5,22466	1,737318	15,72327
Ole e 2 by P3 diam PIEL DE MELOCOTÓN	2,166847	8,59E-05	5,464481
Ole e 2 by P3 diam PLATANO DE SOMBRA	16,31321	6,285355	42,37288
Ole e 2 by P3 diam <i>CHENOPODIUM ALBUM</i>	8,857396	2,022245	38,75969
Ole e 2 by P3 diam POLCALCINA	3,684598	1,793079	7,570023
Ole e 2 by P3 diam PROFILINA	59,52381	19,92032	178,5714

Tabla 69: Riesgo de ser sensible a Ole e 2 (profilina) frente a la sensibilización a otros alérgenos

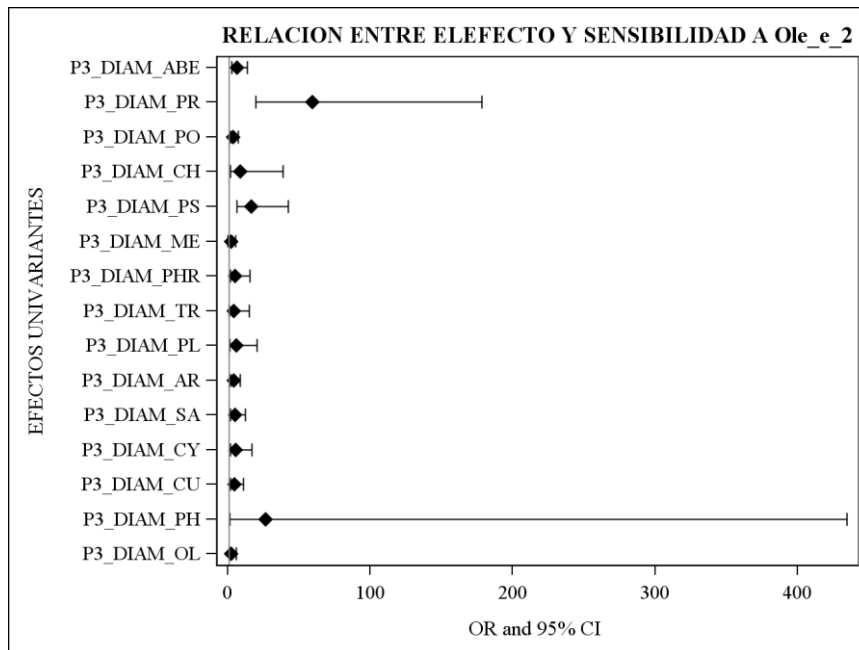


Figura 97: Riesgo de estar sensibilizado a Ole e 2 (profilina) frente a la sensibilización a otros alérgenos

A continuación se muestra un modelo de regresión logística multivariante, para valorar cuál o cuáles de los alérgenos están más asociados a la presencia de Ole e 2. (Tabla 70)

Destaca el dato de que los valores de *Phleum pratense* nos indican una cuasiseparación de los datos, es decir, que la presencia de sensibilidad a *Phleum pratense* indica que es seguro que el paciente es sensible a Ole e 2.

Además del *Phleum pratense*, se muestra como estadísticamente significativos los alérgenos Plátano de sombra y Profilina, perdiéndose la significación estadística del resto de los alérgenos (por la presencia de multicolinealidad, es decir, correlación entre los valores de las variables de alérgenos cutáneos).

Si realizamos un modelo de regresión logística, seleccionando las variables según el poder de discriminación, por medio del método de *stepwise*, se obtiene que las únicas variables estadísticamente significativas son el Plátano de sombra y la Profilina. (Tabla 71)

Odds Ratio Estimates			
Effect	Point Estimate	95% Wald Confidence Limits	
P3 diam OLIVO 0 vs 1	1.082	0.188	6.237
P3 diam <i>PHLEUM PRATENSE</i> 0 vs 1	>999.999	<0.001	>999.999
P3 diam <i>CUPRESSUS SEMPERVIRENS</i> 0 vs 1	0.860	0.174	4.256
P3 diam <i>CYNODON DACTYLON</i> 0 vs 1	2.539	0.211	30.539
P3 diam <i>SALSOLA KALI</i> 0 vs 1	2.766	0.404	18.952
P3 diam <i>ARTEMISIA VULGARIS</i> 0 vs 1	2.124	0.548	8.241
P3 diam <i>PLANTAGO LANCEOLATA</i> 0 vs 1	0.323	0.026	4.003
P3 diam <i>TRisetum PANICEUM</i> 0 vs 1	0.216	0.017	2.730
P3 diam <i>PHRAGMITES COMMUNIS</i> 0 vs 1	0.346	0.029	4.079
P3 diam PIEL DE MOLOCOTÓN 0 vs 1	0.679	0.116	3.985
P3 diam PLÁTANO DE SOMBRA 0 vs 1	7.539	1.237	45.961
P3 diam <i>CHENOPODIUM ALBUM</i> 0 vs 1	0.874	0.044	17.465
P3 diam POLCALCINA 0 vs 1	0.395	0.066	2.359
P3 diam PROFILINA 0 vs 1	22.347	4.705	106.138

Tabla 70: Modelo de regresión logística multivariante, para valorar cuál o cuáles de los alérgenos están más asociados a la presencia de Ole e 2

Odds Ratio Estimates			
Effect	Point Estimate	95% Wald Confidence Limits	
P3 diam PLÁTANO DE SOMBRA 0 vs 1	4.423	1.308	14.957
P3 diam PROFILINA 0 vs 1	24.580	7.452	81.070

Tabla 71: Significación estadística con Plátano de sombra y Profilina

A partir de los datos descritos en el modelo anterior, se observa que el acierto en el nivel de Ole e 2, a partir de las puntuaciones (positivo/negativo) de Plátano de sombra y Profilina mediante pruebas cutáneas es del 83,5%. (Tabla 72)

Association of Predicted Probabilities and Observed Responses			
Percent Concordant	83.5	Somers' D	0.795
Percent Discordant	4.0	Gamma	0.908
Percent Tied	12.5	Tau-a	0.330
Pairs	3168	c	0.897

Tabla 72: Nivel de acierto de Ole e 2, a partir de las puntuaciones (positivo/negativo) de Plátano de sombra y Profilina

Como conclusión, se obtiene que hay una gran relación entre la presencia de sensibilización a *Phleum pratense*, Plátano de sombra y Profilina con la presencia de sensibilización a Ole e 2.

Con respecto a la polcalcina, la prevalencia de sensibilización que hemos obtenido (8,5%), puede influir en que los resultados obtenidos en nuestro

estudio no alcancen valores estadísticamente significativos, y solamente se pueda intuir una cierta tendencia.

A la hora de analizar si la sensibilización a polcalcina se produce a través de la sensibilización a algún polen concreto, la baja prevalencia de sensibilización encontrada produce unos intervalos de confianza sobre el valor estimado tan amplios que impiden obtener unos resultados claros y valorables.

Un fenómeno similar a lo ocurrido con polcalcina podemos decir de la sensibilización a LTP. Tampoco hemos encontrado ninguna asociación estadísticamente significativa entre el hecho de ser sensible a Pru p 3 y al resto de alérgenos no homólogos determinados.

IX. DISCUSIÓN

Mapa de sensibilización a pólenes, grado de concordancia de ambas técnicas diagnósticas empleadas, y papel de los panalérgenos

Con respecto al mapa de sensibilización a los alérgenos estudiados en el Área Sanitaria de Toledo, hemos observado importantes diferencias según la técnica diagnóstica empleada. En todos los casos, los niveles de sensibilización encontrados mediante tests cutáneos (TC) son más altos que los encontrados mediante determinación de IgE específica (AC), así como los niveles de polisensibilización.

Si analizamos la sensibilización a pólenes, mediante pruebas cutáneas destaca la sensibilización a *Phleum pratense* (86,2%) y *Trisetum paniceum* (80,4%), ambos gramíneas, *Chenopodium album* (78,4%), *Plantago lanceolata* (77,9%) y *Olea europea* (73,7%). Siguen en frecuencia *Salsola kali* (61,5%), *Cupressus arizónica* (55%), *Platanus acerifolia* (46%) y *Artemisia vulgaris* (37,5%). A pesar de la alta prevalencia de sensibilización a *Plantago lanceolata*, no hay ningún paciente monosensibilizado a este polen.

Estos resultados no coinciden con los publicados previamente en Toledo con pacientes de nuestro Servicio^{112,113}, ya que la sensibilización más frecuentemente encontrada era a pólenes de chenopodiáceas, seguidos de gramíneas, olivo y plantagináceas. Estos estudios se llevaron a cabo mediante pruebas cutáneas, es decir, valorando la sensibilización a extractos completos, lo que es sumamente importante para comprender el porqué de estas diferencias.

En nuestro estudio, mediante pruebas cutáneas, la mayoría de los pacientes están polisensibilizados. Del total de pacientes estudiados mediante esta técnica sólo un 8% están monosensibilizados. Un 75% están sensibilizados a 4 ó más pólenes. En pacientes polisensibilizados siempre encontramos

pruebas cutáneas positivas a pólenes de gramíneas. De entre los monosensibilizados, el 45% están sensibilizados a polen de olivo.

Mediante técnicas de diagnóstico molecular con la determinación de IgE específica (AC) frente a componentes alergénicos destaca la sensibilización a los alérgenos mayoritarios de las gramíneas y del olivo, con una prevalencia de 75 y 60 % respectivamente. La sensibilización al alérgeno menor del olivo Ole e 9 es del 6%.

Estos resultados se ajustan más a la opinión actual, derivada de la experiencia clínica, de los médicos del Servicio de Alergia de Toledo, y no coinciden tanto con los obtenidos en el estudio EXPO¹²² en el que se observa cómo el alérgeno más prevalente es Ole e 1 (60%), alérgeno mayor del olivo. En dicho estudio, sigue en frecuencia Phl p 1 y Phl P 5, (58% y 32% respectivamente). Puede haber diversos motivos por los que en el mencionado estudio se obtuvieran dichos resultados. Entre ellos, han podido influir, la carga polínica del año en que se realizó la selección de pacientes (el año 2005 fue el más bajo en la recolección de pólenes de gramíneas desde que se miden los niveles de pólenes en Toledo), la intensidad de la sintomatología, la estacionalidad de los síntomas, las derivaciones desde Atención Primaria, la lista de espera, el tamaño muestral, etc. Pensamos que la fiabilidad de los resultados es mayor en nuestro estudio con una muestra de 180 pacientes frente a los 25 incluidos en el estudio EXPO.

La frecuencia de pacientes polisensibilizados mediante AC es también alta (75%), apareciendo los alérgenos mayoritarios de las gramíneas en todos los pacientes. Se diagnostica un 25% de pacientes monosensibilizados (el triple que mediante TC) siendo en su mayoría debidos a las gramíneas y no a olivo. El porcentaje de pacientes polisensibilizados a 4 ó más pólenes baja de un 75,4% mediante TC a un 18,3% mediante AC.

La concordancia entre ambas técnicas, TC y AC, es aceptable para gramíneas (0,6) y algo menor para el olivo (0,5). Es baja la concordancia encontrada entre *Chenopodium album* y Che a 3 (polcalcina) y, entre Plátano de sombra y Pla a 1 y 2 (sus alérgenos mayores), que se corresponden con un 0,36 y -0,02, respectivamente. De modo, que es evidente, que no merecen confianza diagnóstica las pruebas cutáneas con *Chenopodium album* para determinar sensibilización a polcalcina, ni las pruebas cutáneas con Plátano de sombra para determinar la sensibilización al polen de este árbol.

Estas diferencias en frecuencias de sensibilización entre ambas técnicas también las encontramos con otros pólenes como *Salsola kali* (61,5% por TC y 33,5% por AC, con una concordancia de 0,50), *Cupressus sempervirens* (55% por TC y 45,8% por AC, con una concordancia de 0,60) ó *Artemisia vulgaris* (37,5% por TC y 17,5% por AC, con una concordancia de 0,66).

Nos ocupamos a continuación de comentar, con más detalle, los resultados obtenidos con las diversas familias de pólenes analizadas.

Con respecto a los pólenes de gramíneas hemos comprobado, que mediante pruebas cutáneas, son los alérgenos más prevalentes en nuestro estudio, y no las chenopodiáceas como se publicó en estudios previos^{112,113}. Hemos medido los niveles de sensibilización a Phl p 1 y Phl p 5, dos alérgenos mayoritarios de las mismas. Los niveles de sensibilización a Phl p 1 han sido los más altos del estudio (73,1%), y a Phl p 5 los cuartos (40,3%) después de Phl p 1, Ole e 1 (60 %) y Cup s 1 (43,6%). Se han obtenido, como acabamos de referir, unos niveles muy elevados de la mediana de la IgE específica a estos dos alérgenos mayores. Estos resultados no coinciden con los del estudio EXPO¹²² que sitúan en primer lugar a Ole e 1, pero sí con la impresión clínica de los miembros del equipo de Alergología del

Complejo Hospitalario de Toledo. Nuestros resultados son más elevados que los obtenidos en el estudio EXPO¹²² (Phl p 1 58% y Phl p 5 32%) y los que han obtenido recientemente en Sevilla¹⁴⁵ y en Ciudad Real¹³⁸, en los que la prevalencia de sensibilización a Phl p 1 ha sido de 66% y 57,5%, y a Phl p 5 de 36,3% y 27%, respectivamente. Como queda referido, en nuestro estudio, la sensibilización a los alérgenos mayores de gramíneas es la norma en todos los pacientes polisensibilizados. No hay ningún paciente polisensibilizado que no esté sensibilizado a gramíneas. En relación con las gramíneas, y como detallaremos más adelante, hemos demostrado asimismo, cómo la sensibilización a profilinas ocurre fundamentalmente por exposición a pólenes de gramíneas, siendo 26 veces mayor la probabilidad de ser sensible a Ole e 2, entre los pacientes sensibilizados a *Phleum pratense* mediante prueba cutánea (OR=26).

Con respecto al polen de olivo hemos encontrado mediante prueba cutánea una sensibilización a alérgeno completo del 73,71%. Hemos medido los niveles de sensibilización al alérgeno mayoritario de olivo Ole e 1, y a dos alérgenos menores, Ole e 9 y Ole e 2, aunque éste último lo hemos utilizado como marcador de sensibilización a profilina. En nuestro estudio los niveles de sensibilización a Ole e 1 mediante AC han sido de 60% y a Ole e 9 de 6%. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el estudio EXPO¹²², que sitúan la sensibilización a Ole e 1 en el 60% y a Ole e 9 en el 4%, y con los obtenidos en Sevilla¹⁴⁵ (Ole e 1 un 60% y Ole e 9 un 6%). Nuestros valores de sensibilización con respecto a los obtenidos en Ciudad Real¹³⁸ son más altos con respecto a Ole e 1 (49%) y más bajos con respecto a Ole e 9 (9%). Creemos interesante la determinación de la prevalencia de sensibilización a Ole e 9, que aunque es considerado un alérgeno menor de olivo, en algunas provincias como Jaén o Córdoba, se comporta como alérgeno mayoritario¹⁰⁷. En estas provincias, Ole e 7

también se comporta como alérgeno mayoritario. Ambas moléculas, especialmente Ole e 7, se han asociado con un incremento de reacciones adversas con la administración de inmunoterapia específica¹³⁹. Además, es posible que haya pacientes sensibilizados a alérgenos menores de olivo que no reconozcan Ole e 1. Desde un punto de vista de la práctica clínica estos aspectos pueden tener importancia, ya que en estos pacientes se podría poner en duda la eficacia de la inmunoterapia específica, puesto que la existencia de alérgenos menores en los extractos terapéuticos de olivo no está cuantificada, por lo que su concentración puede ser muy variable¹³⁹.

En nuestro estudio, como queda dicho, hemos medido la sensibilización a Ole e 9 como alérgeno menor de olivo. La sensibilización obtenida a este alérgeno alcanza el 6% del total de los participantes. Aunque es un grupo pequeño, hay que tenerlo en cuenta a la hora de valorar a aquellos pacientes alérgicos al polen de olivo en los que no se consiga una buena respuesta al tratamiento tras la administración de inmunoterapia. El hecho de que en provincias como Jaén y Córdoba este fenómeno sea más prevalente, parece estar relacionado fundamentalmente con la exposición a concentraciones atmosféricas de polen de olivo más elevadas, debido a una mayor concentración de campos de explotación agrícola de olivar. Estas diferencias en el perfil de sensibilización alérgica a nivel molecular en pacientes con un mismo diagnóstico a nivel de test cutáneo con extracto de polen de olivo, refuerzan la idea de que las limitaciones de las pruebas diagnósticas clásicas con extractos de pólenes completos nos deben hacer dar un paso más en la búsqueda de mayor precisión en el diagnóstico de polinosis y, consecuentemente, un tratamiento más específico y adecuado a la realidad de cada paciente. Como es conocido, hay zonas de nuestra área sanitaria en las que el cultivo del olivo es una actividad muy importante. A

pesar de esto, no hemos encontrado diferencias significativas en los niveles de sensibilización según las comarcas estudiadas.

Con respecto a las cupresáceas, hemos obtenido unos niveles de sensibilización del 55% mediante pruebas cutáneas. Hemos determinado la sensibilización a Cup s 1, alérgeno mayor de ciprés, con unos niveles de sensibilización del 45,8%. Son mucho más altos que los obtenidos en el estudio EXPO¹²² (18%), en Sevilla¹⁴⁵ (11,30%) y en Ciudad Real¹³⁸ (26%). Esto convierte a Toledo en una zona donde la sensibilización a cupresáceas tiene una elevada prevalencia y explica la sintomatología de alergia respiratoria de los primeros meses del año. Esto coincide con la impresión clínica de los médicos del servicio de Alergología. En el estudio de Sevilla¹⁴⁵ obtienen unos niveles de sensibilización mediante pruebas cutáneas de 3,9%, que es inferior a los que obtienen mediante AC (11,30%). Deducen de estos resultados que mediante pruebas cutáneas puede estar infravalorándose el diagnóstico de alergia a dicho polen, y sugieren que el motivo de ese infradiagnóstico mediante pruebas cutáneas podría ser el bajo contenido de Cup s 1 en los extractos, que sería insuficiente para inducir una respuesta IgE mediada a nivel cutáneo mediante la técnica del *prick-test* en pacientes realmente sensibilizados a dicho polen. Nuestros resultados no van en la misma línea que los obtenidos en el estudio de Sevilla, y sí en la línea general en la que los niveles de sensibilización mediante pruebas cutáneas son más altos que mediante AC.

El 61,5% de la muestra estudiada ha presentado pruebas cutáneas positivas con *Salsola kali*, mientras que los niveles de sensibilización a Sal k 1 mediante AC ha sido del 33,5%, ligeramente superiores a los del estudio EXPO¹²² (28%), a los obtenidos en Ciudad Real¹³⁸ (26%), y casi el triple a los obtenidos en Sevilla (12%)¹⁴⁵. Es por tanto un polen importante en

cuanto a su prevalencia en nuestra área de salud, y que previsiblemente pueda tener en el futuro una presencia y relevancia cada vez mayor. La *Salsola kali* es una planta que crece bien en terrenos salinos y soporta bien la baja pluviosidad, y que puede estar invadiendo zonas de la Península Ibérica que están sufriendo un fenómeno creciente de desertización. En nuestra área es frecuente encontrarla en zonas de viñedo de secano, y suele dar cuenta de los síntomas de alergia respiratoria de finales de verano (septiembre-octubre), precisamente durante la época de la vendimia. Morfológicamente, mediante microscopio óptico, el polen de *Salsola kali* es muy parecido al de *Chenopodium album*¹⁴⁰, lo que puede hacer que en los recuentos polínicos no se diferencien bien entre sí ambos pólenes. Las dos plantas son quenopodiáceas. Quizás por estos motivos, se ha extendido la idea de que es suficiente para valorar la sensibilización a esa familia la realización de pruebas cutáneas con alguno de los dos extractos. Sin embargo, hay evidencias que desestiman esta idea. Aunque los niveles de sensibilización en prueba cutánea con *Chenopodium album* puedan ser elevados, como ocurre en nuestro estudio (78,4%), situándolo en tercer lugar después de *Phleum pratense* y *Trisetum paniceum* (gramíneas), o como se ha encontrado en otros estudios¹⁴⁵, se han hallado niveles de sensibilización del 2% a su alérgeno mayoritario (Che a 1). Por otro lado, se ha demostrado una baja concordancia en el reconocimiento de los alérgenos mayores de ambos pólenes (Che a 1 y Sal k 1), mostrando una sensibilización independiente a ambos. Estos datos parecen confirmar que no puede usarse a ninguno de los dos como marcador general de sensibilización a quenopodiáceas, sino que hay que valorar a ambos de forma independiente.

El hecho de que no haya en nuestro estudio ningún paciente monosensibilizado al polen de *Chenopodium album*, y que nuestros

pacientes muestren poca clínica respiratoria en cuanto a intensidad y frecuencia de síntomas durante el periodo de máxima exposición atmosférica a dicho polen (meses de verano), sugieren de forma global que en nuestra área sanitaria este polen puede ser clínicamente poco relevante.

En nuestro estudio no hemos podido determinar la sensibilización a Che a 1, alérgeno mayor de *Chenopodium album*, por la no disponibilidad de dicho alérgeno en la plataforma que hemos utilizado. En el estudio EXPO¹²² y en el realizado en Ciudad Real¹³⁸ tampoco está disponible ese dato. Con respecto al estudio de Sevilla¹⁴⁵, encuentran una prevalencia de sensibilización a Che a 1 del 2,23%, a pesar de una prevalencia de sensibilización a *Chenopodium album* mediante TC de un 66%. Es evidente que existe una gran discordancia. El grado de concordancia entre ambas técnicas es muy bajo ($Kappa = 0.0234$, $P=0.1459$). Según esto, parece evidente que el empleo de TC para la detección de pacientes sensibilizados a *Chenopodium album* no merece confianza. Estos resultados, están en la línea general de una mayor prevalencia con TC que con AC y parecen cuestionar la fiabilidad diagnóstica de algunos extractos que usamos habitualmente en clínica en TC.

Por otro lado, queremos insistir en que la realización de pruebas cutáneas con *Chenopodium album*, como marcador de sensibilización a polcalcina (Che a 3) no es buen procedimiento, ya que el grado de concordancia que hemos obtenido en nuestro estudio es bajo en el global de pacientes ($kappa$ 0,36), y aún menor en los sensibilizados a profilina ($kappa$ 0,02).

Con respecto al polen de *Plantago lanceolata* se ha publicado una mala concordancia entre TC y AC con este polen, de un 0,2¹²². Además dicha concordancia es baja independientemente de si se está o no sensibilizado a panalérgenos. Por este motivo, podemos considerar que la prueba cutánea con extracto completo de *Plantago lanceolata* no merece confianza. En

nuestro estudio, no hemos determinado la prevalencia de sensibilización al alérgeno mayor de este polen, Pla 1 1, por la no disponibilidad del mismo en nuestra plataforma en el tiempo del estudio. La prevalencia que hemos obtenido mediante TC es de 77,9%. No hemos encontrado ningún paciente monosensibilizado, y todos están sensibilizados a 4 ó más pólenes, excepto tres pacientes que están sensibilizados a tres pólenes. A pesar de la alta prevalencia mediante TC, la mala concordancia con AC y la no existencia de pacientes monosensibilizados, permite deducir que probablemente dichos resultados se deban a la participación de panalérgenos, y que probablemente se trate de un polen poco relevante clínicamente en nuestra zona, igual que concluyen en el estudio de Sevilla¹⁴⁵ (TC 52,5%, AC 4,47%. Kappa 0,08) y de Ciudad Real¹³⁸ (AC 4,5%). No obstante, en el estudio EXPO¹²² se pone de manifiesto que en otras zonas de España sí existen niveles más altos de sensibilización a los alérgenos mayoritarios de *Plantago lanceolata* (provincias de Barcelona o regiones de Asturias, Galicia y País Vasco), donde parece que adquiere una relevancia clínica mayor.

Los niveles de sensibilización a *Artemisia vulgaris* mediante pruebas cutáneas es en nuestro estudio de un 37,5%. Hemos medido como marcador de sensibilización a este polen mediante AC los niveles de IgE específica frente a su alérgeno mayoritario Art v 1 y hemos obtenido una prevalencia del 17,5% frente al 12% obtenido para el Área Sanitaria de Toledo en el estudio EXPO¹²². Los niveles de sensibilización son similares a los obtenidos en Sevilla¹⁴⁵ (18%) y el triple de los obtenidos en Ciudad Real¹³⁸ (6%). El 11% de los pacientes monosensibilizados en nuestro estudio están sensibilizados a Art v 1. Es posible que en estos niveles de sensibilización influyan en nuestra Área la exposición a otras plantas que contienen homólogos de Art v 1, y que pertenecen a la familia de las

compuestas como el girasol (*Heliantus*), crisantemo (*Chrysanthemum*), diente de león (*Taraxacum*) o manzanilla (*Matricaria*), lo que implica la existencia de reactividad cruzada entre estos pólenes¹⁴¹. Puede pensarse que la sensibilización a Art v 1 de nuestros pacientes podría estar marcando una sensibilización a compuestas en general, ya que algunas de ellas se encuentran presentes en nuestra Área Sanitaria de forma significativa, como ocurre con los cultivos de girasol. Las diferentes especies de compuestas polinizan en diferentes épocas del año. La mayoría polinizan a través de insectos (entomófilas) y algunas a través del viento (anemófilas), como la *Artemisia vulgaris*, pero el alto peso del polen hace que éste sea poco aerovagante, y sea difícil su detección por los captadores de polen, que suelen estar situados en altura, como el nuestro que está situado sobre la terraza del hospital. Por otro lado, se ha demostrado que la concentración atmosférica de estos pólenes es muy variable y en ocasiones próxima a determinados lugares cercanos a la fuente de exposición o también, en pacientes expuestos de forma ocupacional^{142,143}.

El nivel de sensibilización a Plátano de sombra mediante pruebas cutáneas en nuestro estudio es del 45,8%. Hemos determinado mediante AC la IgE específica frente a Pla a 1 y 2, obteniendo unos niveles de sensibilización de 9,6%. Son resultados similares a los obtenidos en Sevilla¹⁴⁵ (10%) y más elevados que los obtenidos en Ciudad Real¹³⁸ (3,7%). Aunque se ha relacionado al polen de Plátano de sombra como un alérgeno de zonas urbanas, nosotros no hemos encontrado diferencias entre la prevalencia en Toledo capital y el resto de zonas estudiadas. No hemos encontrado buena concordancia entre la sensibilización a Plátano de sombra a extracto completo mediante pruebas cutáneas y mediante el estudio de componentes alérgicos mediante AC. El coeficiente *Kappa* es de -0.02. Esto permite

afirmar que la confianza como método diagnóstico de los extractos completos de Plátano de sombra, ha de ser baja.

Sensibilización a panalérgenos.

Para el estudio de sensibilización a panalérgenos mediante pruebas cutáneas hemos empleado extractos de profilina, polcalcina y piel de melocotón. Mediante esta técnica se comprueba que la mitad (51%) de los pacientes incluidos en el estudio están sensibilizados a uno ó más panalérgenos. También se observa que entre los pacientes sensibilizados a panalérgenos la situación más frecuentemente encontrada es la monosensibilización (55,6 %).

Mediante esta técnica diagnóstica el panalérgeno más detectado en el global de los pacientes es polcalcina (36,3%), seguido de profilina (33,9%) y LTP (14%). En el caso de pacientes monosensibles a panalérgenos, cambia el orden de prevalencia, siendo la sensibilización a profilina el que se encuentra con más frecuencia (25,6%), seguido de polcalcina (24,4%) y LTP (5,6%).

Para el estudio de sensibilización a panalérgenos mediante AC hemos utilizado Ole e 2 (profilina), Che a 3 (polcalcina) y Pru p 3 (proteína transferidora de lípidos).

Diversos estudios^{144, 145} han demostrado la alta homología entre diferentes profilinas, lo que expresa posiblemente la alta reactividad cruzada existente entre ellas. Por ese motivo, parece adecuado utilizar sólo una de ellas como marcador general de sensibilización a una profilina vegetal. Nosotros hemos utilizado Ole e 2.

La única polcalcina testada ha sido Che a 3, como marcador de sensibilización a polcalcinas de 2 dominios de unión al Ca², debido a su

elevada reactividad cruzada entre las diferentes especies, como se ha demostrado en diversos estudios¹⁴⁶,

Al contrario de lo que ocurre con la profilina y la polcalcina, las LTPs presentan una concordancia variable entre ellas con una reactividad cruzada parcial como se ha demostrado entre Art v 3 y Pru p 3¹⁰⁴, o casi inexistente, como se ha comprobado con Par j 1¹⁴⁵ y Ole e 7¹⁴⁷. Nosotros hemos optado por estudiar la sensibilización a Pru p 3 porque procede de la piel del melocotón que es el extracto habitualmente utilizado en la práctica diaria de nuestro Servicio. Esta variabilidad entre distintas proteínas transferidoras de lípidos hace que no se pueda utilizar ninguna de ellas como marcador general de sensibilización a LTPs de pólenes, sino que se precisa de la determinación de varias de ellas.

Mediante AC la cifra de pacientes sensibilizados a panalérgenos baja a 41%. El panalérgeno más frecuentemente encontrado es profilina Ole e 2 en el 29,4%. Le siguen en frecuencia la LTP Pru p3 (13,1%) y polcalcina Che a 3 (8,5%). El 75,6% de los pacientes sensibilizados a panalérgenos está monosensibilizado (frente al 55,6% mediante TC). Como puede observarse las diferencias entre la sensibilización a panalérgenos mediante TC y AC son muy importantes.

Estos resultados también difieren de los obtenidos para Toledo en el estudio EXPO¹²², ya que encuentran una prevalencia de sensibilización a profilina del 22%, a polcalcina del 8% y a Pru p 3 también del 8%. Los motivos de estas diferencias deben atribuirse, posiblemente, al tamaño muestral, además de a los otros factores antedichos. Por este motivo, pensamos que nuestros resultados se ajustan mejor a la realidad.

En cuanto al grado de concordancia entre ambas técnicas con los tres panalérgenos estudiados se observa que es bastante alta. Resulta un

coeficiente *kappa* de 0,66 en el caso de piel de melocotón y Pru p 3, de 0,77 en el caso de profilina y Ole e 2, y de 0,92 en el caso de polcalcina y Che a 3. Esto se ha de interpretar en el sentido de que las pruebas cutáneas con estos tres alérgenos son de gran utilidad diagnóstica.

Con respecto a los pacientes en edad pediátrica, los alérgenos más prevalentes son Phl p 1 (alérgeno mayor de gramíneas) y Ole e 1 (alérgeno mayor del olivo). Un tercio de los niños están sensibilizados a profilina y un 18% a LTP Pru p 3. Comparando los resultados entre pacientes pediátricos y adultos, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas excepto con Art v 1 (alérgeno mayor de *Artemisia vulgaris*) que es mayor en adultos. No obstante, los niveles de sensibilización a profilina y LTP Pru p3 en el grupo de menor edad, aunque no tenga significación estadística, consideramos que sí hay que tenerlo en cuenta en términos de relevancia clínica, en el contexto de la conocida “marcha alérgica” de los pacientes más jóvenes. No hemos encontrado ningún niño sensibilizado a polcalcina mediante AC (aunque el 32% lo están mediante TC).

Es evidente que se han hallado marcadas diferencias de resultados de sensibilización entre los extractos de pólenes completos mediante test cutáneos y sus alérgenos mayores por IgE específica (AC).

Podemos reflexionar sobre las diferentes causas que puedan influir en estas diferencias.

Por un lado, la técnica diagnóstica de punción cutánea o *Prick-test* (TC) es más sensible que la determinación de IgE específica por Advia-Centauro (AC), como lo demuestran los resultados obtenidos con las moléculas que se han determinado por ambas técnicas. La prevalencia de sensibilización a profilina mediante TC es de 33,9% (TC) y 29,4% (AC) respectivamente y

una concordancia de 0,77, la LTP de melocotón (Pru p 3) con prevalencias de sensibilización de 14 y 13,1% respectivamente y con una concordancia de 0,66, y finalmente, una prevalencia de sensibilización a polcalcina de 36,3 y 8,5% respectivamente, y una concordancia de 0,92. Por este motivo, una concordancia superior a 0,66 se podría dar como aceptable. Sin embargo estos valores no se han dado con ninguno de los pólenes estudiados, donde siempre la concordancia ha sido menor.

Además, el hecho de considerar como criterio de positividad de los *prick-test* que el diámetro medio de la pápula sea mayor o igual a 3 mm superior al control negativo, a pesar de estar consensuado por numerosos comités y sociedades científicas^{129, 134}, podría ser poco específico. De hecho, se ha comprobado¹⁴⁵ cómo cuando existe concordancia entre el resultado positivo con los extractos completos para TC y la determinación de IgE específica frente a sus alérgenos mayores, los tamaños medios de las pápulas eran sensiblemente mayores en la mayoría de los casos, lo que nos lleva a pensar que, en general, un mayor tamaño de pápula conlleva una mayor probabilidad de encontrarnos ante un resultado concordante y relevante. No obstante, hay que tener en cuenta que el tamaño de la pápula de la reacción cutánea frente a un extracto alergénico es muy variable en cada paciente y entre pacientes diferentes, ya que está influido por diversos factores. No es infrecuente que podamos encontrar perfiles de sensibilización molecular similares y tamaños de pápulas muy diferentes, y viceversa.

Es posible, además, que alguna de las sensibilizaciones encontradas mediante pruebas cutáneas que no se acompañan de una sensibilización a sus alérgenos mayores, pudieran deberse también, al reconocimiento de otros alérgenos menores específicos de dichos pólenes, diferentes a los testados en nuestro estudio. No obstante, por un lado, estos casos parecen suponer pequeños porcentajes del total de la muestra, y por otro, hay que

tener en cuenta que por definición los alérgenos mayoritarios sensibilizan, al menos, al 50% de los pacientes alérgicos a un determinado polen, por lo que tampoco este argumento justificaría por sí sólo esas diferencias tan marcadas en cuanto a prevalencia entre ambas técnicas y la falta de concordancia en la mayoría de los pólenes.

Por este motivo, pensamos que hay otros factores que influyen, como nuestra hipótesis de partida, que es la influencia de la sensibilización a panalérgenos. En este sentido, hemos comprobado cómo la concordancia que se produce entre los resultados obtenidos por ambas técnicas aumenta de forma significativa en aquéllos pacientes que no están sensibilizados a ninguno de los panalérgenos testados en nuestro estudio con respecto a los que sí lo están. En el caso concreto de la profilina pasamos de una concordancia de 0,25 a 0,61 con *Cupressus sempervirens*, de 0,5 a 0,6 con gramíneas, de 0,32 a 0,58 con olivo, o de 0,23 a 0,56 con *Salsola kali*.

Hemos de interpretar que en aquellos pacientes polínicos sensibilizados de forma exclusiva o predominante a los alérgenos mayores de los pólenes, el resultado de al menos parte de los extractos diagnósticos que usamos en la actualidad va a ser mucho más fiable, y el tratamiento etiológico que podamos utilizar va a tener más probabilidades de ser representativo y adecuado para la sensibilización real que tenga el paciente, que en aquellos otros pacientes con un perfil de sensibilización molecular más heterogéneo, en los que son más frecuentes las sensibilizaciones a panalérgenos y otros alérgenos menores.

Otro dato que apoya esta línea de argumentación es el número de sensibilizaciones de los pacientes, que varían de forma significativa entre ambas técnicas. Si consideramos los pacientes monosensibilizados, hemos obtenido mediante pruebas cutáneas una frecuencia de 8%, mientras que mediante IgE específica la frecuencia es del 24,9%, es decir, más del triple.

Con respecto a los pacientes polisensibilizados, mediante TC hemos obtenido un 75% de pacientes sensibilizados a 4 ó más pólenes, mientras que mediante AC hemos obtenido un 28,4% de pacientes sensibilizados a 4 ó más pólenes (figuras 50 y 58).

Cuando un paciente está sensibilizado a profilina existe un incremento en cuanto al número de pólenes positivos mediante TC, de forma proporcionalmente mayor que mediante AC¹⁴⁵. Sin embargo, por AC se observa también un incremento del número de sensibilizaciones, sobre todo, a alérgenos menores, y no tanto a mayores.

Es decir, que la sensibilización a profilina actúa, por un lado, como un factor de confusión en cuanto a que produce un aumento de reconocimiento de pólenes a nivel de test cutáneos (polisensibilización) que no se corresponde con una sensibilización real a tal número de pólenes, y por otro lado, nos marca que probablemente la manera de estar sensibilizado a dichos pólenes sea a través, no sólo a sus alérgenos mayores, sino también a algunos alérgenos menores.

Cuando comparamos el grado de concordancia entre el resultado mediante pruebas cutáneas con el extracto completo de cada uno de los pólenes y su/s alérgeno/s mayor/es por AC, según estén sensibilizados o no a profilinas, debido a que existe una baja prevalencia de sensibilización a determinados pólenes, no llega a alcanzarse una significación estadística. En aquellos pólenes en los que la prevalencia es más alta, sí que se comprueban diferencias estadísticamente significativas en el grado de concordancia ente ambas técnicas diagnósticas. Es el caso de *Cupressus sempervirens*, gramíneas, olivo y *Salsola kali*.

El empleo de TC con profilina como marcador de sensibilización a Ole e 2, según los resultados de nuestro estudio, parece bastante adecuado, ya que el grado de concordancia es muy bueno (coeficiente *kappa* 0.74).

Con la polcalcina hemos podido comprobar un fenómeno similar con *Cupressus sempervirens* y con *Salsola kali* a lo que ocurre con profilina. La sensibilización a polcalcina es un factor de confusión ya que provoca sensibilizaciones a nivel cutáneo que realmente no se corresponden con la realidad, con mayor probabilidad de estar sensibilizados a mayor número de pólenes, y con un perfil de sensibilización molecular complejo, con sensibilizaciones también a alérgenos menores. Esto implica mayor dificultad a la hora de elegir un tratamiento con inmunoterapia específica, que probablemente también sería menos eficaz.

Cuando comparamos el grado de concordancia entre el resultado de los test cutáneos con el extracto completo de cada uno de los pólenes en concreto y su/s alérgeno/s mayor/es por AC, según que los pacientes estén o no sensibilizados a polcalcina, se observa cómo estas proteínas podrían actuar como factor de confusión fundamentalmente y de forma clara en unos pólenes más que en otros. Pero debido a la baja sensibilización a polcalcina, en ocasiones, no se alcanzan niveles de significación estadística. Se observa cómo hay diferencias estadísticamente significativas en el caso de la *Cupressus sempervirens* y *Salsola kali*.

Hemos utilizado para medir la sensibilización a polcalcina, los niveles de IgE específica frente a Che a 3. Teniendo en cuenta que se trata de un alérgeno menor de *Chenopodium album*, se ha extendido como práctica común, la realización de TC con extracto completo de dicho polen, para determinar una posible sensibilización a polcalcina. Según nuestro estudio, esta práctica no es buena, ya que el coeficiente *kappa* que establece el grado de correlación entre TC con *Chenopodium album* y AC con Che a 3

es bajo (0,36). Sin embargo, sí es muy alto el grado de concordancia entre TC con polcalcina y la determinación por AC de sensibilización a Che a 3, con un coeficiente *kappa* de 0.92. Recomendamos, por tanto, según los resultados de nuestro estudio, que para valorar la sensibilización a polcalcina mediante pruebas cutáneas se debe emplear extracto de polcalcina y no de *Chenopodium album*.

Con respecto a la sensibilización a Pru p 3, es conocida falta de una clara reactividad cruzada entre distintas LTP, lo que obligaría, por una parte a incluir en el estudio un número mayor de pacientes, y por otra, a valorar la sensibilización a varias LTPs. Este tipo de estudio puede ser abordado en trabajos ulteriores. Sin embargo, sí nos parece adecuado la realización de TC con piel de melocotón para valorar la sensibilización a Pru p 3, ya que por un lado es un extracto accesible, y por otro tiene un grado de concordancia bastante bueno (coeficiente *kappa* 0.66). Aunque para valorar globalmente la sensibilización a LTPs se ha sugerido, que además del empleo de piel de melocotón, convendría realizar TC con extractos de *Artemisia vulgaris* y de *Platanus acerifolia*, como fuentes de Art v 3 y Pla a 3, respectivamente. Con este último extracto, se conoce la existencia de dicha asociación entre TC positivos y una mayor prevalencia de alergia alimentaria¹⁴⁸. La prevalencia de sensibilización a Pla a 3, la LTP homóloga del plátano de sombra, en pacientes alérgicos a dicho polen, era baja en los pacientes que no asociaban alergia alimentaria (27%), y aumentaba más del doble (60%) en los pacientes con alergia a melocotón.

Si valoramos la sensibilización a diferentes alérgenos, se observa en nuestro estudio, que la sensibilización más prevalente es a pólenes de gramíneas y olivo. Además, probablemente, los más relevantes desde el punto de vista clínico en los pacientes del Área Sanitaria de Toledo. Nos basamos en los siguientes datos:

- La alta prevalencia de sensibilización a sus alérgenos mayores (75,3% a Phl p 1 y 59,9% a Ole e 1).
- La mayor mediana del diámetro medio de pápula en TC corresponde a estos alérgenos (olivo 7,5 mm y *Phleum* 7,75 mm).
- Los valores más elevados de la mediana de IgE específica frente a alérgenos mayores de gramíneas (12,1 kU/l Phl p 1 y 22,7 kU/l Phl p 5).
- El predominio de la clínica, tanto en frecuencia como en intensidad, durante las semanas de polinización de dichos pólenes.
- El porcentaje de pacientes monosensibles a dichos pólenes con un 45% de pacientes sensibilizados a olivo, y una participación en el 100% de los casos de las gramíneas en pacientes polisensibilizados.

De los resultados obtenidos pueden obtenerse diferentes consecuencias prácticas y ıtiles para la actividad clínica diaria con nuestros pacientes:

El hecho de que los alérgenos mayoritarios sean, por un lado los más frecuentes, y por otro, los que mayor relevancia clínica tienen, sugieren que en más de dos tercios de nuestros pacientes polínicos podríamos conseguir una significativa eficacia en el control de su enfermedad alérgica respiratoria por pólenes, optando por un tratamiento etiológico con un extracto del polen ó de los dos pólenes a cuyos alérgenos mayoritarios estén sensibilizados, es decir, con los pólenes clínicamente más relevantes. De esta manera, puede evitarse el empleo de inmunoterapia con múltiples pólenes, y por tanto, con una concentración de cada uno de ellos tan baja, que hace que los extractos sean ineficaces. En nuestro estudio los pólenes más importantes serían las gramíneas y el olivo.

Por otro lado, en los pacientes polisensibilizados mediante prueba cutánea, en los que no se reconocen los alérgenos mayores, el empleo de inmunoterapia específica es también de dudosa eficacia, ya que en los extractos terapéuticos disponibles actualmente y los niveles de estandarización que presentan, no se asegura la existencia en la composición de alérgenos menores, sino sólo de los alérgenos mayores. De este modo, podríamos estar indicando tratamientos ineficaces a nuestros pacientes, con el consiguiente perjuicio, tanto para ellos como para el resto de la sociedad.

Al haberse comprobado una muy buena concordancia entre las pruebas cutáneas y AC con los panalérgenos estudiados, se pone de manifiesto que la realización de pruebas cutáneas con ellos, puede evitar la solicitud de análisis de sangre para la realización de pruebas de diagnóstico molecular, con el consiguiente ahorro en tiempo y dinero, que permitirán proporcionar una respuesta rápida y certera en el diagnóstico de nuestros pacientes. Pensamos que esta afirmación es útil en el caso de profilina y de polcalcina, y no tanto, en el caso de la valoración de la sensibilización a LTP, por la conocida variabilidad que existe entre ellas. Además, hemos comprobado que para valorar una sensibilización a polcalcina (Che a 3) hay que utilizar extracto de polcalcina y no de *Chenopodium album*. Pensamos, que el empleo de las técnicas de diagnóstico molecular, nos puede ayudar a conocer mejor el perfil de sensibilización de los pacientes. En el caso de pacientes polisensibilizados por pruebas cutáneas, sobre todo a gramíneas y olivo, y sensibilizados simultáneamente a panalérgenos, convendría solicitar estudio molecular. Sin embargo, en los casos de pacientes polisensibilizados a pólenes, pero con pruebas cutáneas negativas a panalérgenos, no sería preciso dicho estudio, dada la buena concordancia con sus IgE recombinantes que acabamos de referir.

Pensamos que los nuevos métodos diagnósticos, como el utilizado en este trabajo, pueden ayudar a determinar con mayor precisión el perfil de sensibilización e incluso el pronóstico de los pacientes polínicos. Además, la mejora en el diagnóstico permitirá aumentar la efectividad y la eficiencia de los tratamientos con inmunoterapia específica, con el consiguiente beneficio, tanto para los pacientes como para el resto de la sociedad, por el mejor uso de las tecnologías sanitarias, desde una óptica de respeto a los principios de la bioética que deben regir el quehacer del médico (beneficencia, no maleficencia, autonomía y justicia distributiva de los recursos).

A qué alérgeno de pólenes se asocia la sensibilización a panalérgenos

En cuanto a la sensibilización a pólenes de los pacientes según que estén o no sensibilizados a panalérgenos, hemos obtenido los siguientes resultados. Si sólo realizamos pruebas cutáneas, hemos encontrado que la positividad a panalérgenos (polcalcina y/o profilina) es más frecuente entre quienes están sensibilizados a pólenes, con diferencias estadísticamente significativas con todos los pólenes excepto con olivo, con el que casi se alcanza dicha significación estadística.

En el caso de pacientes sensibilizados a polcalcina Che a 3 mediante AC, encontramos que presentan pruebas cutáneas positivas a todos los pólenes testados y a profilina, con diferencias estadísticamente significativas, con respecto a quienes no están sensibilizados a polcalcina, excepto a *Olea europea* y a *Trisetum paniceum*. En estos pacientes, sensibilizados a polcalcina Che a 3 mediante AC, encontramos que presentan una sensibilización más elevada a componentes alérgenos medidos también por AC, con todos los pólenes, aunque sólo alcanzamos significación

estadística en el caso de Cup s 1 (alérgenos mayor de *Cupressus sempervirens*) y a Ole e 2 (profilina).

En el caso de pacientes sensibilizados a Pru p 3 mediante AC, observamos que presentan mayor prevalencia de sensibilización a pólenes mediante TC, aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Si valoramos la sensibilización a pólenes mediante AC, sí se encuentran diferencias con significación estadística en el caso de Pla a 1 y 2 (alérgenos mayores de *Platanus acerifolia*). Probablemente, la baja prevalencia de sensibilización a Pru p 3 que hemos obtenido en nuestro estudio, y nuestro tamaño muestral, nos impiden obtener conclusiones con diferencias estadísticamente significativas con otros alérgenos de pólenes estudiados.

Si consideramos a los pacientes sensibilizados a Ole e 2 (profilina) mediante AC, la sensibilización a Ole e 1 (alérgeno mayor del olivo), es más frecuente, con diferencias estadísticamente significativa. El resto de pólenes testados se encuentran en unos niveles más altos de prevalencia, aunque sin diferencias estadísticamente significativas.

Alergia a alimentos

El 11,7% de los pacientes incluidos en el estudio presentaban Síndrome de Alergia Oral (SAO) asociado a su polinosis. Un 6,7% presentaban otras alergias alimentarias. Estos pacientes pertenecen a todas las zonas de residencia contempladas. Los alimentos implicados son muy diversos e incluyen varias frutas, tomate, berenjena, frutos secos, huevo y mariscos. Además de SAO, hemos incluido ocho pacientes con urticaria y cuatro con anafilaxia por alergia a alimentos.

El estudio EXPO ofrece datos de prevalencia a nivel global (15,2%) y a nivel de Castilla La Mancha (13%). Los resultados obtenidos en el estudio de Sevilla son más elevados (27,37%). La prevalencia de alergia

alimentaria en la población general se estima que es inferior al 3%¹⁴⁹, así como en pacientes con rinitis (5,3%)⁶. Esto confirma la importante asociación entre polinosis y alergia a alimentos de origen vegetal en la población estudiada de nuestra Área Sanitaria.

Según nuestros datos, todos los pacientes con SAO están sensibilizados a profilina, con diferencias estadísticamente significativas con respecto a pacientes sin SAO. También hemos encontrado una mayor sensibilización de pacientes con SAO a Pru p 3, aunque sin significación estadística. Parece, por tanto, que estas dos proteínas pueden ser las principales causantes de la asociación de polinosis con alergia a alimentos de origen vegetal. En el caso de la profilina esta asociación parece clara, por reactividad cruzada entre estos alérgenos de pólenes y alimentos. Sin embargo, con la LTP no es tan evidente ya que, la reactividad cruzada entre la LTP (Pru p 3) y la de los diferentes pólenes es parcial o inexistente.

Cabe recordar que en nuestro estudio hemos encontrado una asociación estadísticamente significativa entre la sensibilización a Pru p 3 y a Pla a 1 y 2 (alérgeno mayor de *Platanus acerifolia*) que coincide en parte con los hallazgos de otros trabajos que encuentran una asociación entre Pru p 3 y la sensibilización cutánea con extractos de *Platanus acerifolia* y de *Cupressus sempervirens*, además de una mayor prevalencia de clínica alimentaria (de un 18% a un 45% en el caso del plátano de sombra, y de un 26% a un 71% en el caso del ciprés)¹¹¹. Se ha propuesto que la sensibilización a estos alérgenos de pólenes por vía inhalada puede favorecer también la sensibilización y aparición de síntomas por vía digestiva por LTPs de alimentos vegetales. Ya se ha comentado cómo la propia LTP del melocotón (Pru p 3) puede producir por sí misma síntomas respiratorios por inhalación¹⁵⁰.

Por otro lado, con respecto a la polcalcina, nuestros pacientes sin SAO presentan unos niveles de sensibilización mayores que nuestros pacientes con SAO, aunque con diferencias sin significación estadística.

El conocimiento correcto de la sensibilización a panalérgenos en pacientes polínicos con alergia a alimentos, también es importante, ya que es conocido, que la severidad clínica difiere claramente de forma estadísticamente significativa, según cuál sea la sensibilización de los pacientes. Es conocido que mientras que más de la mitad de los pacientes sensibilizados a Pru p 3 pueden presentar reacciones sistémicas como anafilaxia, en la mayoría de los pacientes sensibilizados a profilina la clínica puede ser discreta y limitarse a prurito oral u orofaríngeo, inmediato, y de resolución espontánea. En nuestro estudio los cuatro pacientes con anafilaxia por alergia a alimentos, están sensibilizados a Pru p 3.

Este aspecto puede tener una importante aplicación práctica en el abordaje adecuado de nuestros pacientes. El correcto diagnóstico de sensibilización a estas dos proteínas (profilina y Pru p 3) nos puede ayudar a diferenciar cuándo un paciente polínico tiene un mayor riesgo de sufrir reacciones severas con alimentos. Esto nos puede permitir en cada caso, de forma individualizada, recomendar el nivel de evitación o consumo de los alimentos involucrados, sobre todo en aquellos pacientes que presentan reacción con múltiples alimentos vegetales y hacen una dieta muy restrictiva.

Importancia como factor de riesgo de sensibilización a los panalérgenos de cada uno de los alérgenos de pólenes estudiados.

Se ha analizado también en este estudio la posibilidad de que la sensibilización a profilina se produjera predominantemente a través de uno o varios pólenes. Hemos encontrado que la probabilidad de estar sensibilizado a Ole e 2, es 26 veces mayor entre los pacientes sensibilizados a *Phleum pratense* mediante prueba cutánea frente a los que no están sensibilizados al mismo. También es mayor (OR 16) en pacientes sensibilizados a Plátano de sombra. Como cabía esperar, los pacientes con pruebas cutáneas positivas al extracto de profilina tienen un riesgo muy alto de estar sensibilizados a Ole e 2 (OR 59).

Esta relación entre sensibilización a pólenes de gramíneas y sensibilización a profilina se ha descrito incluso en zonas de alta exposición a polen de olivo ¹²². Podría concluirse, por tanto, que la sensibilización a profilinas, aunque no de forma exclusiva, ocurre fundamentalmente por exposición a pólenes de gramíneas. Hay que tener en cuenta, en el mismo sentido, a los pacientes sensibilizados mediante pruebas cutáneas a Plátano de sombra, ya que los sensibilizados mediante prueba cutánea al polen de este árbol tienen claramente aumentadas las probabilidades de estar sensibilizados a profilina (OR=16). A partir de los datos descritos en el estudio, se observa que el acierto en el nivel de Ole e 2, a partir de las puntuaciones (positivo/negativo) de Plátano de sombra y Profilina mediante pruebas cutáneas es del 83,5% (tabla 72).

Por tanto, como conclusión, se obtiene que hay una gran relación entre la presencia de sensibilización a *Phleum pratense*, Plátano de sombra y Profilina con la presencia de sensibilización a Ole e 2.

Con respecto a la polcalcina, la prevalencia de sensibilización que hemos obtenido (8,5%), puede influir en que los resultados de nuestro estudio no

alcancen valores estadísticamente significativos, y solamente se pueda intuir una cierta tendencia.

A la hora de analizar si la sensibilización a polcalcina se produce a través de la sensibilización a algún polen concreto, la baja prevalencia de sensibilización encontrada produce unos intervalos de confianza sobre el valor estimado tan amplios que impiden obtener unos resultados claros y valorables.

Un fenómeno similar a lo ocurrido con polcalcina podemos decir de la sensibilización a LTP (prevalencia 13,1%). Tampoco hemos encontrado ninguna asociación estadísticamente significativa entre el hecho de ser sensible a Pru p 3 y al resto de alérgenos no homólogos determinados.

Se ha descrito la existencia de pacientes monosensibilizados a Pru p 3 que presentan patología respiratoria, a través de una exposición y sensibilización por vía inhalativa, por exposición a melocotón y a melocotoneros. Se ha sugerido una alergia respiratoria por inhalación a LTP aerotransportada procedente del fruto o de otras partes de la planta, como las hojas¹⁵⁰. El hecho de que en determinados casos la clínica respiratoria sea previa a la clínica alimentaria, sugiere que la sensibilización a esta proteína se haya producido primariamente por vía inhalativa y no por vía digestiva.

Tipo de enfermedad alérgica respiratoria asociada a los alérgenos y panalérgenos estudiados.

El 38,9% de los pacientes incluidos tienen asma. Todos los pacientes menos uno tienen rinitis o rinoconjuntivitis.

Los pacientes con síntomas de asma presentan sensibilización a Phl p 1 en el 77,8% y a Ole e 1 en el 76,2%. Asimismo, destaca que un 40,2% de los pacientes asmáticos están sensibilizados a profilina (Ole e 2), un 20,6% a polcalcina Che a 3, y un 12,7% a LTP Pru p 3. En los pacientes con rinitis sin asma, la prevalencia de sensibilización a Phl p 1 es de 73,8%, pero baja al 50% la sensibilización a Ole e 1, al 23,8% a profilina y al 1% a polcalcina Che a 3. La sensibilización de los pacientes sin asma a LTP Pru p 3 es de 13,5%. Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en la sensibilización de pacientes con asma y sin asma, en el caso de Ole e 1 y polcalcina Che a 3. Hay diferencias importantes, sin llegar a la significación estadística, con Ole e 9 (alérgeno menor del olivo) y Phl p 5 (alérgeno mayor de gramíneas). La sensibilización a polcalcina se asocia a la presencia de asma. El hecho de que en niños sea menor la frecuencia de sensibilización a este panalérgeno podría indicar que su presencia es un marcador de gravedad de la enfermedad alérgica respiratoria.

Diferencias de sensibilización según la zona de procedencia.

No hemos encontrado diferencias en los perfiles de sensibilización de los pacientes según sus zonas de residencia, ni mediante pruebas cutáneas ni mediante IgE específica. Quizás el tamaño muestral escaso, sobre todo en alguna de las zonas, haya podido influir. Pero lo que sí parece evidente es que hay notables diferencias en los perfiles de sensibilización en distintas

áreas, incluso vecinas, como hemos visto que ocurre entre Toledo y Ciudad Real. Lo que supone un argumento en favor de la existencia de una variabilidad de la sensibilización a pólenes según las zonas. En este sentido, nos parece conveniente, realizar estudios de prevalencia de sensibilización a alérgenos ambientales, como éstos, para implantar protocolos de estudio alergológico, que se ajusten lo más posible, a la sensibilización de cada Área Sanitaria. Así se mejoraría el diagnóstico de nuestros pacientes y se recomendarían tratamientos más efectivos, eficientes y seguros.

Dificultades, fortalezas y debilidades.

Nos gustaría, para finalizar, realizar algunas reflexiones sobre las dificultades, fortalezas y debilidades que encontramos en este trabajo.

Cuando nos planteamos la factibilidad de la realización de este estudio, encontramos entre las dificultades, que se llevaría a cabo en un servicio fundamentalmente asistencial, con una enorme carga de trabajo. Si bien esta fue una dificultad inicial, se convirtió en la principal fortaleza del estudio. Por un lado, porque asegurábamos un importante número de pacientes de una patología tan prevalente, que quizás en otros ámbitos hubiera sido más difícil conseguir. Y por otro, y más importante, porque nos debemos como médicos a esos pacientes. El pensar que la fiabilidad diagnóstica de nuestros medios habituales no era muy alta, o que era mejorable, y que por tanto, podríamos estar incurriendo en errores diagnósticos, nos preocupaba. Porque además los posibles errores diagnósticos implican necesariamente errores terapéuticos. Esto nos preocupaba, aún más. Además, el hecho de que se trate de una patología tan prevalente, nos hacía pensar que el cometer un error sistemáticamente,

afectaría a muchos pacientes, pero que cualquier avance, por pequeño que fuera, que obtuviéramos con este estudio, beneficiaría a muchos pacientes. Tanto por el bien de nuestros pacientes, a quienes podíamos estar fallando en el diagnóstico y en el tratamiento, como por la responsabilidad social de utilizar eficientemente los recursos, nos sentíamos obligados a dar un paso hacia delante. Así que, a pesar de las dificultades, iniciamos este estudio, pensando sólo en ellos, en nuestros pacientes, a los que siguiendo al Dr. Edmund Pellegrino¹⁵¹, recientemente fallecido, nos debemos. Teníamos que dar respuesta, a las cuestiones que presenta esta patología, que es la más prevalente de todas las que atendemos. Superado este primer escollo, nos encontramos con la dificultad de la realización del estudio analítico. Para esto encontramos el total apoyo del departamento de investigación de ALK-Abelló. Recientemente habían trabajado en esta línea de investigación, con un estudio a nivel nacional, y mostraron todo su interés en colaborar con nosotros. Sin su colaboración, no hubiera sido posible el empleo de las técnicas de diagnóstico molecular, y hubiera sido muy difícil, realizar el estudio estadístico. Queremos destacar su participación, y queremos manifestar nuestro agradecimiento.

Una de las debilidades que encontramos, es no haber podido disponer en la plataforma de los alérgenos Pla 1 1 y Che a 1. Nos hubiera gustado disponer de ellos, aunque en realidad, ya conocíamos por trabajos previos, la mala concordancia entre las pruebas cutáneas y los alérgenos recombinantes de estos pólenes. Quizás podría ser motivo de ulteriores estudios.

Nos parece interesante apuntar el que la falta de unificación entre las diferentes compañías farmacéuticas que fabrican extractos alérgicos, con las conocidas diferencias en cuanto a su preparación y estandarización, hacen que éstos puedan diferir de forma considerable unos de otros. Esta circunstancia puede hacer que los datos observados en nuestro estudio

puedan no ser reproducibles al cien por cien en el caso de que se utilicen extractos diferentes, elaborados por otras compañías. Animamos a que en este sentido se minimicen las diferencias entre los extractos de diferentes empresas. Además, creemos conveniente evaluar la estandarización de ciertos extractos de pólenes que usamos habitualmente en el diagnóstico, ya que parecen no ser buenos indicadores de la alergia a pólenes en nuestra población. Nosotros hemos utilizado para este trabajo los mismos extractos que veníamos utilizando en nuestra práctica clínica habitual, con la incorporación del extracto de polcalcina como novedad.

Contribuciones

“No es oro todo lo que reluce”, ó “en el monte no todo es orégano”. Estas son dos frases que utilizamos en nuestra consulta cuando queremos explicar al paciente que no todas las pruebas positivas que presenta son importantes o tienen relevancia clínica. El “soy alérgico a todo” que dicen los pacientes cuando se ven el brazo, se transforma en un “hay que completar el estudio” para ver qué es importante y qué no lo es. Esta actitud es lógica por nuestra parte, al conocer después de este estudio, los frecuentes perfiles de polisensibilización que tienen nuestros pacientes, y el factor de confusión diagnóstica que supone la sensibilización a alérgenos menores y a panalérgenos.

Queremos insistir en que, desde el punto de vista práctico, debemos utilizar extractos de profilina, Pru p 3 y polcalcina para pruebas cutáneas, como complemento a la batería de pólenes que utilizamos para la valoración de nuestros pacientes polínicos. También debemos descartar el empleo de extracto de *Chenopodium album* como marcador de sensibilización a polcalcina. Para esto, debemos utilizar extracto de polcalcina. Y debemos valorar con prudencia las positividadades a ciertos pólenes, como los de *Plantago lanceolata* y *Chenopodium album*, que aunque aparecen positivos en un alto porcentaje de nuestros pacientes, en muchas ocasiones no están indicando una sensibilización real a dichos pólenes, sino que la positividad de la prueba se debe a fenómenos de reactividad cruzada.

En el caso de negatividad mediante prueba cutánea a los panalérgenos, la sensibilización encontrada tiene más probabilidades de ajustarse a la sensibilización real. Sin embargo, cuando tengamos pacientes con pruebas cutáneas positivas a panalérgenos, habría que aclarar la situación. En este caso sería conveniente poder utilizar pruebas de diagnóstico molecular para realizar un diagnóstico correcto. Pensamos que ésta es una consecuencia

lógica de esta tesis, que nos permitirá atender mejor a nuestros pacientes optimizando los recursos.

Este estudio nos ha hecho modificar nuestra batería de pólenes para estudio alérgico, y sobre todo, optimizar las peticiones de estudio analítico.

Investigación futura.

¿Y para el futuro?... Se nos abren varias posibilidades de investigación.

Una podría ser la valoración de los tratamientos con inmunoterapia que prescribiremos al modificar nuestra metodología diagnóstica comparándolo con los que hubiéramos prescrito sin hacer ninguna modificación en la misma.

Por otro lado, nos parece interesante llevar a cabo un estudio valorando la eficacia, efectividad, seguridad y eficiencia de la inmunoterapia que recomendamos a nuestros pacientes, teniendo en cuenta los costes añadidos del propio estudio analítico. Es nuestra responsabilidad la buena gestión de las tecnologías sanitarias que están a nuestro alcance, en beneficio de nuestros pacientes, respetando el principio de justicia tanto conmutativa como distributiva.

Por último, valorar las diferencias en el diagnóstico y en la indicación de inmunoterapia reduciendo en nuestra batería de estudio el número de extractos de gramíneas a una sólo (*Phleum pratense*), eliminando los tests cutáneos de *Plantago lanceolata* y ¿*Chenopodium album*? y añadiendo polcalcina, con respecto a la pauta tradicional. Proponemos iniciar un estudio piloto con una muestra pequeña. Al reducirse el número total de tests cutáneos se disminuiría la molestia ocasionada a cada paciente, se

ahorraría en extractos y material fungible, y se optimizarían los tiempos de trabajo de enfermería.

La conclusión de este trabajo abre las puertas para continuar investigando ciertos aspectos del manejo de la polinosis en nuestros pacientes. Las conclusiones obtenidas se deben aplicar a los pacientes de nuestra área sanitaria, sin pretender que las mismas se apliquen a pacientes de otras áreas. De la misma forma, podemos cometer errores, si aplicamos a nuestros pacientes las investigaciones de nuestros vecinos. Posiblemente ésto es una de las cosas más importantes que hemos aprendido con este trabajo, lo que debe animarnos a seguir investigando, para dar respuestas propias y precisas a las necesidades de nuestros pacientes.

X. CONCLUSIONES

1. En el área sanitaria de Toledo existe un marcado grado de sensibilización cutánea a pólenes, siendo el perfil más frecuente el de la polisensibilización. Esto ocurre desde la infancia.
2. Los alérgenos más importantes son los alérgenos mayores de gramíneas y de olivo, tanto por los niveles de prevalencia, como por su relevancia clínica. En todos los casos de polisensibilización participan las gramíneas.
3. La sensibilización a uno ó más panalérgenos es muy frecuente (41% de los pacientes). La profilina sensibiliza a un tercio de los pacientes. La sensibilización a los otros panalérgenos baja considerablemente.
4. La discordancia entre los resultados de prevalencia de sensibilización obtenidos mediante ambas técnicas diagnósticas (pruebas cutáneas y diagnóstico molecular) es muy alta. La alta prevalencia de sensibilización frente a panalérgenos determinada mediante diagnóstico molecular, explica en parte esta discordancia, y debe considerarse un factor de confusión en el diagnóstico mediante pruebas cutáneas de la alergia respiratoria en pacientes polisensibilizados a pólenes.
5. Por los niveles de concordancia obtenidos entre las dos técnicas diagnósticas comparadas, proponemos incluir rutinariamente en las pruebas cutáneas a los panalérgenos, y valorar con prudencia los resultados obtenidos con pólenes con niveles bajos de concordancia.
6. Hemos comprobado que hay una asociación entre la sensibilización a algunos alérgenos y la sensibilización a panalérgenos. Hemos

encontrado una asociación de la sensibilización a Cup s 1 y Ole e 2 en pacientes sensibilizados a polcalcina. También hay una asociación entre la sensibilización a Pla a 1 y 2 y la sensibilización a Pru p 3. Y por último, hay una asociación entre la sensibilización a Ole e 1 y la sensibilización a profilina.

7. Hay una importante asociación entre polinosis y alergia a alimentos en nuestros pacientes. Todos los pacientes con síndrome de alergia oral están sensibilizados a profilina. Los pacientes con reacciones más graves están sensibilizados a Pru p 3.
8. La sensibilización a *Phleum pratense* y a *Platanus acerifolia* es un factor de riesgo para ser alérgico a profilina.
9. Los pacientes alérgicos a olivo (Ole e 1) y a polcalcina (Che a 3) tienen más probabilidades de desarrollar asma. También se encuentra con más frecuencia entre los asmáticos la sensibilización a Ole e 9 (alérgeno menor de olivo) y a Phl p 5 (alérgeno menor de gramíneas), aunque en estos casos no se alcanzan diferencias estadísticamente significativas.
10. No hemos encontrado diferencias en el perfil de sensibilización de nuestros pacientes polínicos según su zona de residencia.

XI. ANEXOS

ANEXO I

HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE

Por favor, lea atentamente este documento en el cual le invitamos a participar en un estudio clínico que lleva por título: **ESTUDIO OBSERVACIONAL PARA DETERMINACIÓN DE LOS PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN ALERGÉNICA A POLENES EN EL ÁREA SANITARIA DE TOLEDO. ESTABLECIMIENTO DEL GRADO DE CONCORDANCIA ENTRE DIFERENTES TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS Y PAPEL DE LOS PANALERGENOS EN LA INTERPRETACION DIAGNÓSTICA DE LA ALERGIA A PÓLENES.**

Usted ha sido diagnosticado de enfermedad alérgica causada por sensibilización a pólenes. Los pólenes son la causa más frecuente de enfermedad alérgica en nuestra área sanitaria. Para avanzar en el conocimiento de cuáles son los pólenes más relevantes en el desarrollo de su enfermedad y poder adoptar las decisiones de tratamiento más óptimas para su enfermedad, es por lo que le solicitamos su participación en el presente estudio.

Debe usted saber que su participación en este estudio es totalmente voluntaria y que no supone riesgo alguno. Las pruebas diagnósticas que se le van a efectuar son las habituales en alergia: pruebas cutáneas y extracción de una pequeña cantidad de sangre para poder determinar en suero la presencia de anticuerpos a los alérgenos responsables de su enfermedad alérgica. La extracción sanguínea no es algo que se realice siempre, sino que es algo específico para este estudio. Las muestras serán congeladas y almacenadas hasta su posterior análisis.

Asimismo, debe saber que los datos clínicos que obtengamos serán introducidos en una base de datos, cuyo análisis será exclusivamente para fines científicos. Cada paciente que se incluya en esta base de datos será identificado por un código, por lo que ningún dato se podrá vincular a un paciente concreto. La identidad de cada paciente sólo será conocida por el médico que le atiende, de acuerdo a lo exigido en la Ley de Protección de Datos. Por lo tanto, solo el médico especialista que le atiende conocerá a quien pertenece el código que se le asigne.

Por favor, antes de decidir si desea participar o no en el estudio, lea detenidamente esta hoja. Realice cuantas preguntas quiera y solicite todas las aclaraciones que desee a su médico especialista antes de tomar su decisión. Debe saber que su participación es libre, y que si, en cualquier momento, decide que su hija/o abandone el estudio, esto no le supondrá ningún problema en su relación con su médico especialista ni en que siga recibiendo el tratamiento más adecuado para el control de su enfermedad alérgica.

Si una vez leído este documento y aclaradas todas sus dudas decide que su hija/o sea incluido en el estudio, debe firmar la hoja de consentimiento.

HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE

Por favor, lea atentamente este documento en el cual le invitamos a participar en un estudio clínico que lleva por título: **ESTUDIO OBSERVACIONAL PARA DETERMINACIÓN DE LOS PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN ALERGÉNICA A POLENES EN EL ÁREA SANITARIA DE TOLEDO. ESTABLECIMIENTO DEL GRADO DE CONCORDANCIA ENTRE DIFERENTES TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS Y PAPEL DE LOS PANALERGENOS EN LA INTERPRETACION DIAGNÓSTICA DE LA ALERGIA A PÓLENES.**

Su hija/o ha sido diagnosticado de enfermedad alérgica causada por sensibilización a pólenes. Los pólenes son la causa más frecuente de enfermedad alérgica en nuestra área sanitaria. Para avanzar en el conocimiento de cuáles son los pólenes más relevantes en el desarrollo de su enfermedad y poder adoptar las decisiones de tratamiento más óptimas para su enfermedad, es por lo que le solicitamos su participación en el presente estudio.

Debe usted saber que su participación en este estudio es totalmente voluntaria y que no supone riesgo alguno. Las pruebas diagnósticas que se le van a efectuar son las habituales en alergia: pruebas cutáneas y extracción de una pequeña cantidad de sangre para poder determinar en suero la presencia de anticuerpos a los alérgenos responsables de su enfermedad alérgica. La extracción sanguínea no es algo que se realice siempre, sino que es algo específico para este estudio. Las muestras serán congeladas y almacenadas hasta su posterior análisis.

Asimismo, debe saber que los datos clínicos que obtengamos serán introducidos en una base de datos, cuyo análisis será exclusivamente para fines científicos. Cada paciente que se incluya en esta base de datos será identificado por un código, por lo que ningún dato se podrá vincular a un paciente concreto. La identidad de cada paciente sólo será conocida por el médico que le atiende, de acuerdo a lo exigido en la Ley de Protección de Datos. Por lo tanto, solo el médico especialista que le atiende conocerá a quien pertenece el código que se asigne a su hija/o.

Por favor, antes de decidir si desea participar o no en el estudio, lea detenidamente esta hoja. Realice cuantas preguntas quiera y solicite todas las aclaraciones que desee a su médico especialista antes de tomar su decisión. Debe saber que su participación es libre, y que si, en cualquier momento, decide que su hija/o abandone el estudio, esto no le supondrá ningún problema en su relación con su médico especialista ni en que siga recibiendo el tratamiento más adecuado para el control de su enfermedad alérgica.

Si una vez leído este documento y aclaradas todas sus dudas decide que su hija/o sea incluido en el estudio, debe firmar la hoja de consentimiento.

HOJA DE CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

Título: ESTUDIO OBSERVACIONAL PARA DETERMINACIÓN DE LOS PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN ALERGÉNICA A POLENES EN EL ÁREA SANITARIA DE TOLEDO. ESTABLECIMIENTO DEL GRADO DE CONCORDANCIA ENTRE DIFERENTES TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS Y PAPEL DE LOS PANALERGENOS EN LA INTERPRETACION DIAGNÓSTICA DE LA ALERGIA A PÓLENES

Yo.....

(nombre y apellidos)

He leído la hoja de información que se me ha entregado

He podido hacer preguntas sobre el estudio

He recibido suficiente información sobre el estudio

He hablado con:

(nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1° Cuando quiera

2° Sin tener que dar explicaciones

3° Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio

Fecha

Firma del participante

HOJA DE CONSENTIMIENTO DEL REPRESENTANTE

Título: ESTUDIO OBSERVACIONAL PARA DETERMINACIÓN DE LOS PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN ALERGÉNICA A POLENES EN EL ÁREA SANITARIA DE TOLEDO. ESTABLECIMIENTO DEL GRADO DE CONCORDANCIA ENTRE DIFERENTES TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS Y PAPEL DE LOS PANALERGENOS EN LA INTERPRETACION DIAGNÓSTICA DE LA ALERGIA A PÓLENES

Yo.....

(nombre y apellidos)

en calidad de

(relación con el participante)

de.....

(nombre del participante)

He leído la hoja de información que se me ha entregado

He podido hacer preguntas sobre el estudio

He recibido respuestas satisfactorias a mis preguntas

He recibido suficiente información sobre el estudio

He hablado con:

(nombre del investigador)

Comprendo que la participación es voluntaria

Comprendo que puede retirarse del estudio:

1° Cuando quiera

2° Sin tener que dar explicaciones

3° Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos

En mi presencia se ha dado a

(nombre del participante)

toda la información pertinente adaptada a su nivel de entendimiento y está de acuerdo en participar.

Y presto mi conformidad con que.

(nombre del participante)

participe en el estudio

Fecha

Firma del representante:

ANEXO 3

ESTUDIO OBSERVACIONAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN ALERGÉNICA A POLENES EN EL ÁREA SANITARIA DE TOLEDO. ESTABLECIMIENTO DEL GRADO DE CONCORDANCIA ENTRE DIFERENTES TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS Y PAPEL DE LOS PANALÉRGENOS EN LA INTERPRETACIÓN DIAGNÓSTICA DE LA ALERGIA A PÓLENES

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

Código paciente

Fecha de la extracción:

___/___/___

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Edad: 5-55 años
- Polinosis de al menos 2 años de evolución
- 6 años de residencia en la misma área geográfica
- Consentimiento informado

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Inmunoterapia en los 5 años previos a su inclusión

DATOS DEMOGRÁFICOS

Edad: _____ años	Sexo: <input type="checkbox"/> Mujer <input type="checkbox"/> Varón	Residencia: <input type="checkbox"/> La Mancha <input type="checkbox"/> La Sagra <input type="checkbox"/> La Jara <input type="checkbox"/> Montes de Toledo <input type="checkbox"/> Toledo capital
----------------------------	--	--

DATOS CLÍNICOS

Tiempo de evolución de la enfermedad: _____ años

Diagnóstico clínico: Asma Rinitis Conjuntivitis

Periodo de síntomas compatible con sensibilización a pólenes:

Enero	Febr	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Sept.	Oct.	Nov.	Dic.

¿Sufre el paciente de Síndrome de Alergia Oral? No SI.

¿Ha tenido otra sintomatología por alergia alimentaria? No SI

Tamaño de las pápulas (Dxd):

Olea	__x__	Phleum	__x__	Cupressus	__x__	Cynodon	__x__
Salsola	__x__	Artemisia	__x__	Plantago	__x__	Trisetum	__x__
Phragmites	__x__	Piel de melocotón	__x__	Plátano de sombra	__x__	Chenopodium	__x__
Polcalcina	__x__	Profilina	__x__	Histamina	__x__	Solución salina	__x__

XII. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFIA

¹ Massicot JG, Cohen SG. Epidemiologic and socioeconomic aspects of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 964-958.

² Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CKW, Strachan DP, Weiland SK et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet*, 2006; 368: 733-743.

³ D'Amato G, Cecchi L, Bonini S, Nunes C, Annesi-Maesano I, Behrendt H, Liccardi G, Popov T, van Cauwenberge P. Allergic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 2007; 62: 976-90.

⁴ D'Amato, Spiekma FT, Liccardi G, Jäger S, Russo M, Kontou-Fili K et al. Pollen-related allergy in Europe. *Allergy*, 1998; 53: 567-78.

⁵ Alergológica 2005. Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2005. SEAIC, Schering-Plough, Luzán 5, S.A. de Ediciones. Madrid. 2006

⁶ Ana M. Navarro Pulido. Rinitis. En: Alergológica 2005. Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2005. Madrid, Egraf, S.A.: 107-33.

⁷ S. Quirce Gancedo. Asma. En: Alergológica 2005. Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2005. Madrid, Egraf, S.A.: 133-161.

⁸ Coca AF, Cooke RA. On the classification of the phenomena of hypersensitiveness. *J Immunol* 1923; 8: 163-182.

⁹ Baldini M, Lohmann IC, Halonen M, Erickson RP, et al. A polymorphism in the 5'-Linking region of the CD-14 gene is associated with circulating soluble CD-14 levels and with total serum IgE. *Am J Resp Cell Mol Biol* 1999; 20: 976-983.

¹⁰ Holgate ST. The epidemic of allergy and asthma. *Nature Suppl* 1999; 402: B2-B4.

¹¹ Schäfer T, Vieluf D, Behrendt H, Kramer V, Ring J. Atopic eczema and other manifestations of atopy: results of a study in East and West Germany. *Allergy* 1996; 51:532-539.

¹² Cookson WO, Sharp PA, Faux VA, Hopkin JM. Linkage between immunoglobulin e responses underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. *Lancet* 1989; 1: 1292-1295.

¹³ Krämer V, Behrendt H, Dolgner R, Ranft V, Ring J, Willer M, et al. Airway diseases and allergies in East and West German children during the first 5 years after reunification. *Int J Epidemiol* 1999; 28:865-873.

¹⁴ Heinrich J, Popesco M, Wjst M, Goldsteing J, Wicmann II. Atopy in children and parental social class. *Am J Public Health* 1998; 88: 1319-1324.

¹⁵ Von Mutius E, Martínez FD, Fritz CH C, Nicolai T, Reitmeir P, Thiemann HH. Skin-Test reactivity and number of siblings. *BMJ* 1994; 308: 692-695.

¹⁶ Sporik R, Holgate ST, Platts-Mills TA, Cogswell W. Exposure to house-dust-mite allergen (Der p 1) and the development of asthma in childhood. *N Engl J Med* 1990; 323: 502-507.

¹⁷ Custovic A, Tagart SCO, Woodcock A. House dust mite and cat allergen in different indoor environments. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 1164-1168.

¹⁸ Platts-Mills TAE, Vaughan JW, Blumenthal K, Pollart Squillace S, Sporik RB. Serum IgE and IgE4 antibodies to Fel d 1 among children exposed to ng Fel d 1 at home: relevance of a nonallergic modified TH2 response. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 24: 126-129.

¹⁹ Platts-Mills TAE. The role of indoor allergens in chronic allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119:297-302.

²⁰ Behrendt H, Becker WM, Fiedrichs KH. Interaction between aeroallergens and airborne particulate matter. *Int Arch Allergy Immunol* 1992; 99: 425-428.

²¹ Cabrera M, Martínez-Cóccera C, Fernández-Caldas C, Carnés J, Subiza JL, Subiza J, et al. *Trisetum Paniceum* (Wild Oats) Pollen Counts and Aeroallergens in the Ambient air of Madrid, Spain. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 128: 123-129.

²² Armentia A, Lombardero M, Callejo A, Barber D, Martin Gil FJ, Martin-Santos JM, Vega JM, Arranz ML. Is Lolium pollen from an urban environment more allergenic than rural pollen? *Allergologia et Immunopathologia*. 30(4):2 18-24, 2002 Jul-Aug.

²³ Ring J, Kramer V, Schäfer T, Behrendt H. Why are allergies increasing? *Curr Opin Immunol* 2001; 13: 701-708.

²⁴ Behrendt H, Ring J. Allergotoxicology. A research strategy for the investigation of the influence of environmental pollutants on the development of allergic sensitization and disease. In Ring J, Behrendt H,

Vieluf D, editors. *New trends in Allergy IV*. Berlina. Springer, 1997: 51-60.

²⁵ Díaz-Sánchez D. The rol of diesel exhaust particles and their associated poly aromatic hydrocarbons in the induction of allergy airway disease. *Allergy* 1997; 52:52-56.

²⁶ Krämer U, Koch T, Ranft U, Ring J, Behrendt M. Traffic - related air pollution is associated with atopy in children living in urban areas. *Epidemiology* 2000; 11: 64-70.

²⁷ Behrendt H, Krämer U, Schäfer T, Ring J, et al. Allergotoxicology. A research concept to study the role of environmental pollutants in allergy. *Allergy Clin Immunol Int* 2001; 13: 127.

²⁸ Martínez FD, Antognoni G, Macri F, Bonci E, Midulla F, de Castro G, et al. Parental smoking enhances bronchial responsiveness in nine year old children. *Am rey Resp Dis* 1998; 138: 5 18-523.

²⁹ Behrendt H, Becker WM. Localization, release and bioavailability of pollen allergens: the influence of environmental factors. *Curr Opin Immunol* 2001; 13: 709-715.

³⁰ Behrendt H, Kasche A, Ebner von Eschenbach C, Risse U, Huss-Marp J, Ring J. Secretion of proinflammatory eicosanoid like substances precedes allergen release from pollen grains in the initiation of allergic sensitization. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 124: 121-125.

³¹ Muranaka M, Suzuki S, Koizumi K, Takajuji S, Miyamoto T, Ikemori R, et al. Adjuvant activity of diesel-exhaust particulates for the production of IgE antibody in mice. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 77:616-23.

³² Díaz-Sánchez D, Tsien A, Fieming J, Saxon A. Combined diesel exhaust particulates and ragweed allergen challenge markedly enhances human *in vivo* nasal ragweed-specific IgE and skews cytokine production to a helper cell 2-type pattern. *J Immunol* 1997;158: 2406-2413.

³³ Cortegano I, Civantos E, Aceituno E, del Moral A, López E, Lombardero M, del Pozo y, Lahoz C. Cloning and expression of a major allergen from *Cupressus arizonica* pollen, Cup a 3, a PR-5 protein expressed under polluted environment. *Allergy*. 2004;59:485-490.

³⁴ Knox RB, Suphioglu C, Taylor P, Desai R, Watson HC, Peng JL, Bursill LA. Major grass pollen allergen Lol p 1 binds to diesel exhaust particles: implications for asthma and air pollution. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 246-251.

³⁵ Fernández Rivas M. Alergia a los alimentos. En: *Alergológica* 2005. Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2005. SEAIC, Schering-Plough, Luzán 5, S.A. de Ediciones. Madrid. 2006: 229-246.

³⁶ Bircher AJ, Van MG, Haller E, Curty B, Frei PC. IgE to food allergens are highly prevalent in patients allergic to pollens, with and without symptoms of food allergy. *Clin Exp Allergy* 1994;24:367-74.

³⁷ Westritschnig K, Sibanda E, Thomas W, Auer H, Aspöck H, Pittner G, Urtala S, Spitzaner S, Kraft D, Valenta R. Analysis of the sensitization profile towards allergens in Central Africa. *Clin Exp Allergy*. 2003. Jan; 33 (1): 22-7.

³⁸ Huertas AJ, Lavín JR, García-Cervantes AM. ¿Es la sensibilización a palmera una expresión de la alergia a las profilinas en el área mediterránea? *Alergol Inmunol Clin* 2005; 2: 175-180.

-
- ³⁹ Abramson MJ, Puy RM, Weiner IM. Allergen immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2003:CDOO1 186.
- ⁴⁰ Olaguíbel JM, Álvarez Puebla MJ. Efficacy of sublingual allergen vaccination for respiratory allergy in children. Conclusions from one meta-analysis. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2005; Vol. 15(1): 9-16.
- ⁴¹ Portnoy JM. Immunotherapy for asthma: unfavorable studies. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 87(suppl 1):28-32.
- ⁴² Bousquet J, Becker WM, Hejjaoui A, et al. Differences in clinical and immunologic reactivity of patients allergic to grass pollens and to multiple-pollen species. II. Efficacy of a double-blind, placebo-controlled, specific immunotherapy with standardized extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88: 43-53.
- ⁴³ Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet* 1911; 1:1572-1573.
- ⁴⁴ Ishizaka k, Ishizaka T, Hornbrook MM. Physicochemical properties of reaginic antibody. V. Correlation of reaginic activity with gamma-E-globulin antibody. *J Immunol* 1966; 97:840-853.
- ⁴⁵ Løwenstein H. Report on behalf of the International Union of Immunological Societies (I.U.I.S.) Allergen Standardization Subcommittee. *Arb Paul Ehrlich Inst.* 1983; 78:41-48.
- ⁴⁶ Valenta R, Kraft D. Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic diseases. *Curr Opin Immunol* 1995; 7:751-6.
- ⁴⁷ Dreborg S, Grimmer O et al. Biological standardization of allergen extracts preparations. *Allergy.* 1987; 42(2):109-116

-
- ⁴⁸ Esch RE. Allergen source materials and quality control of allergenic extracts. *Methods*. 1997; 13(1):2-13.
- ⁴⁹ Fernández-Caldas E, Carnés J, Ferrer A, Casanovas M. Allergenicity of 10 apple varieties. *J. Allergy Clin Immunol*. 2005; 115 (2): 93.
- ⁵⁰ Carnés Sánchez J, Iraola VM, Sastre J, Florido F, Boluda L, Fernández-Caldas E. Allergenicity and immunochemical characterization of six varieties of *Olea europaea*. *Allergy*. 2002; 57(4):3 13-8.
- ⁵¹ Brighton W, Topping M, Henocq E. Activity units for allergen extracts. *Clin Allergy* 1979; 9: 591-96.
- ⁵² Aas K, Backman A, Belin L, Weeke B. Standardization of allergen extracts with appropriate methods. *Allergy*. 1978; 33: 130- 37.
- ⁵³ Council Directive 89/342/EEC of 3 May 1989 extending the scope of Directives 65/65/EEC and 75/319/EEC and laying down additional provisions for immunological medicinal products consisting of vaccines, toxins or serums and allergens (OJ No L 142 of 25. 5.1989).
- ⁵⁴ Berrens L. What is a major allergen? *Clin Exp Allergy* 1994; 24:606-609.
- ⁵⁵ Carreira J, Lombardero M, Ventas P. New developments in in vitro methods. Quantification of clinically relevant allergens in Mass Units. *Arb Paul Ehrlich Institut*. 1994; 87: 155-156.
- ⁵⁶ Akkerdaas JH, Wensing M, Knulst AC, Krebitz M, Breiteneder H, de Vries S, Penninks AH, Aalberse RC, Hefle SL, van Ree R. How Accurate and Safe Is the Diagnosis of Hazelnut Allergy by Means of Commercial Skin Prick Test Reagents? *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 132: 132-140.

⁵⁷ van der Veen MJ, Mulder M, Witteman AM, van Ree R, Aalberse RC, Jansen HM, van der Zee JS. False-positive skin prick test responses to commercially available dog dander extracts caused by contamination with house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*) allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98:1028-34.

⁵⁸ Fernández-Caldas E, Carnés J, Ferrer A, Casanovas M. Allergenicity of 10 apple varieties. *J. Allergy Clin Immunol.* 2005; 115 (2): 93.

⁵⁹ Carnés Sánchez J, Iraola VM, Sastre J, Florido F, Boluda L, Fernández-Caldas E. Allergenicity and immunochemical characterization of six varieties of *Olea europaea*. *Allergy.* 2002;57(4):3 13-8.

⁶⁰ Berrens L. What is a major allergen?. *Clin Exp Allergy* 1994; 24:606-609.

⁶¹ Movérare R, Westritschnig K, Svensson M, Hayek B, Bende M, Pauli G, Sorva R, Haahtela T, Valenta R, Elfman L. Different IgE Reactivity Profiles in Birch Pollen- Sensitive Patients from Six European Populations Revealed by Recombinant Allergens: An Imprint of Local Sensitization. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;128:325-335.

⁶² Rodríguez R, Villalba M, Monsalve RI, Batanero E. The spectrum of olive pollen allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 125:185-195.

⁶³ Lombardero M, García-Sellés FJ, Polo F, Jimeno L, Chamorro MJ, García-Casado G, Sánchez-Monge R, Díaz-Perales A, Salcedo G, Barber D. Prevalence of sensitization to *Artemisia* allergens Art v 1, Art v 3 and Art v 60 kDa. Cross-reactivity among Art v 3 and other relevant lipid-transfer protein allergens. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1415-1421.

⁶⁴ Huecas S, Villalba M, Rodríguez R. Ole e 9, a major olive pollen allergen is a 1,3-β glucanase. Isolation, characterization, amino acid sequence, and tissue specificity. *Biol Chem* 2001; vol 276 (30) 27959-27966.

⁶⁵ Duffort O, Palomares O, Lombardero M, Villalba M, Barber D, Rodríguez R, Polo F. Variability of Ole e 9 Allergen in Olive Pollen Extracts: Relevance of Minor Allergens in Immunotherapy Treatments. *Int Arch Allergy Immunol* 2006; 140: 131-138.

⁶⁶ Pfam database, versión 2.1.0, November 2006.

⁶⁷ Radauer C., Breiteneder H. Pollen allergens are restricted to few protein families and show distinct patterns of species distribution. *J Allergy Clin Immunol*. 2006. 112:141-147.

⁶⁸ Aalberse RC, Akkerdaas J, van Ree R. Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens. *Allergy* 2001; 56:478-490.

⁶⁹ Aalberse RC. Structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106:228-238.

⁷⁰ Weber RW. Patterns of pollen cross-allergenicity. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:229-39.

⁷¹ Lombardero M, Obispo T, Calabozo B, Lezaun A, Polo F, Barber D. Cross-reactivity between olive and other species. Role of Ole e 1-related proteins. *Allergy* 2002; 57:29-34.

⁷² Van Ree R, van Leeuwen WA, Aalberse RC. How far can we simplify in vitro diagnostics for grass pollen allergy?: a study with 17 whole pollen extracts and purified natural and recombinant major allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102:184-190.

⁷³ Pham NH, Baldo BA, Bass DJ. Cypress pollen allergy: identification of allergens and cross-reactivity between divergent species. *Clin Exp Allergy* 1994; 24:558-65.

⁷⁴ Mari A, Di Felice G, Afferni C, Barletta B, Tinghino R, Sallusto F, Pini C. Assessment of skin prick test and serum specific IgE detection in the diagnosis of Cupressaceae pollinosis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98 (1): 21-31.

⁷⁵ Niederberger V, Pauli G, Gronlund H, Froschl R, Rumpoid H, Kraft D, et al. Recombinant birch pollen allergens (rBet v 1 and rBet v 2) contain most of the IgE epitopes present in birch, alder, hornbeam, hazel, and oak pollen: a quantitative IgE inhibition study with sera from different populations. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102:579-91.

⁷⁶ Ferreira F, Hawranek T, Gruber P, Wopfner N, Mari A. Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allergy* 2004; 59: 243-267.

⁷⁷ Van Loon LC, Van Strien EA. The families of pathogenesis related proteins, their activities, and comparative analysis of PR- 1-type proteins. *Physiol Mol Plant Pathol* 1999;5:85-97.

⁷⁸ Van Ree R. Carbohydrate epitopes and their relevance for the diagnosis and treatment of allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129:189-197.

⁷⁹ Mari A. IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: analysis of the distribution and appraisal of the in vivo and in vitro reactivity. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:286-295.

⁸⁰ Van Der Veen MJ, van Ree R, Aalberse RC, Akkerdaas J, Koppelman SJ, Jansen HM et al. Poor biologic activity of cross-reactive IgE directed

to carbohydrate determinants of glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100:327-334.

⁸¹ Carlsson L, Nystön LE, Sunkvist I. Profilin a low molecular weight protein controlling actino polymerisability. In Perry, SV et al (Eds.), *Contractil System in non-muscle tissues*. Elsevier, Amsterdam, pp. 39-49, 1976.

⁸² Valenta R, Duchéne M, Breitenbach M, Pettenburger K, Soller L, Rudolph H, et al. A low molecular weight allergen of white birch (*Betula verrucosa*) is highly homologous to human profilin. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991; 94: 368-370.

⁸³ Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S. Parietaria profilin shows only limited cross-reactivity with birch and grass profilins. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 133:121-4.

⁸⁴ Radauer C, Willeroiderw M, Fuchs H, Hoffmann-Sommergruber K, Thalhammer J, Ferreira F, Scheiner O, Breiteneder H. Cross-reactive and species-specific immunoglobulin E epitopes of plant profilins: an experimental and structure-based analysis. *Clin Exp Allergy* 2006. 36, 920-929.

⁸⁵ Asero R, Misterio G, Roncarolo D, Amato S, Zanoni D, Barocci F, Caldironi G. Detection of clinical markers of sensitization to profilins in patients allergic to Plant-derived foods. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 427-432.

⁸⁶ Fah J, Wuthrich B, Vieths S. Anaphylactic reaction to lychee fruit: evidence for sensitisation to profilin. *Clin Exp Allergy* 1995;25:1018-1023.

⁸⁷ Movérare R, Westntschnig K, Svensson M, Hayek B, Bende M, Pauli G, Sorva R, Haahtela T, Valenta R, Elfman L. Different IgE Reactivity Profiles in Birch Pollen- Sensitive Patients from Six European Populations Revealed by Recombinant Allergens: An Imprint of Local Sensitization. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 128:325-335.

⁸⁸ D. Barber, F. de la Torre, M. Lombardero, I. Antépara, C. Colás, I. Dávila, A. I. Tabar, C. Vidal, M. Villalba, G. Salcedo and R. Rodríguez. Component-resolved diagnosis of pollen allergy based on skin testing with profilin, polcalcin and lipid transfer protein pan-allergens. *Clinical & Experimental Allergy* 2009; 39: 1764–1773

⁸⁹ Valenta R, Hayek B, Seiberler S, Bugajska-Schretter A, Niederberger V, Twardosz A, et al. Calcium-binding allergens: from plants to man. *mt Arch Allergy Immunol* 1998; 117:160-6.

⁹⁰ Engel E, Richter K, Obermeyer G, Briza P, Kungl AJ, Simon B, et al. Immunological and biological properties of Bet y 4, a novel birch pollen allergen with two EF-hand calcium-binding domains. *J Biol Chem* 1997; 272:28630-7.

⁹¹ Tinghino R, Twardosz A, Barletta B, Puggioni EMR, Iacovacci P, Butteroni C, Afferni C, Mari A, Hayek B, Di Felice G, Focke M, Westritschnig K, Valenta R, Pini C. J Molecular, structural, and immunologic relationships between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *Allergy Clin Immunol*. 2002, 3 14-320.

⁹² Quiralte J, Florido F, Arias de Saavedra JM, Gómez A, Sáenz de San Pedro B, González E, Rodríguez R. Olive allergen-specific IgE responses in patients with *Olea europaea* pollinosis. *Allergy*. 2002; 57 Suppl 71:47-52.

-
- ⁹³ Rossi RE, Monasterolo G, Monasteriolo S. Measurement of IgE antibodies against purified grass-pollen allergens (Phl p 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11 and 12) in sera of patients allergic to grass pollen. *Allergy* 2001; 56:1180-1185.
- ⁹⁴ Niederberger V, Hayek B, Vrtala S, Laffer S, Twardosz A, Vangelista L, et al. Calcium-dependent immunoglobulin E recognition of the apo- and calcium-bound form of a cross-reactive two EF-hand timothy grass pollen allergen, Phl p 7. *FASEB J* 1999; 13:843-54.
- ⁹⁵ Shin DH, Lee JY, Hwang KY, Kim KK, Suh SW. High-resolution crystal structure of the non-specific lipid-transfer protein from maize seedlings. *Structure* 1995; 3:189-99.
- ⁹⁶ García-Olmedo F, Molina A, Segura A, Moreno M. The defensive role of nonspecific lipid-transfer proteins in plants. *Trends Microbiol* 1995; 3:72-4.
- ⁹⁷ Hoffmann-Sommergruber K. Pathogenesis-related (PR)-proteins identified as allergens. *Biochem Soc Trans* 2002; 30:930-5.
- ⁹⁸ Fernández-Rivas M, Cuevas M. Peels of Rosaceae fruits have a higher allergenicity than pulps. *Clin Exp Allergy* 1999; 29:1239-47.
- ⁹⁹ Van Ree R. Clinical importance of non-specific lipid transfer proteins as food allergens. *Biochem Soc Trans* 2002; 30:910-3.
- ¹⁰⁰ Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, de Vries SC, Gautier MF, Ciurana CL, et al. Lipid transfer protein: a pan-allergen in plant-derived foods that is highly resistant to pepsin digestion. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 122:20-32.

¹⁰¹ Ballmer-Weber BK. Lipid transfer protein as a potential panallergen? *Allergy* 2002; 57:873-5.

¹⁰² Fernández-Rivas M, González-Mancebo E, Rodríguez-Pérez R 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.

¹⁰³ Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V et al. Identification of grape and wine allergens as an endochitinase 4, a lipid-transfer protein, and a thaumatin. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:350-9.

¹⁰⁴ Díaz-Perales A, Lombardero M, Sánchez-Monge R et al. Lipidtransfer proteins as potential plant panallergens: cross-reactivity among proteins of *Artemisia* pollen, *Castanea* nut and Rosaceae fruits, with different IgE-binding capacities. *Clin Exp Allergy* 2000; 30:1403-10.

¹⁰⁵ Díaz-Perales A, Tabar AI, Sánchez-Monge R et al. Characterization of asparagus allergens: a relevant role of lipid transfer proteins. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110:790-6.

¹⁰⁶ Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V et al. The maize major allergen, which is responsible for food-induced allergic reactions, is a lipid transfer protein. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106:744-51.

¹⁰⁷ Tejera ML, Villalba M, Batanero E, Rodríguez R. Identification, isolation, and characterization of Ole e 7, a new allergen of olive tree pollen. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104:797-802.

¹⁰⁸ Costa MA, Colombo P, Izzo V et al. cDNA cloning, expression and primary structure of Par j 1, a major allergen of *Parietaria judaica* pollen. *FEBS Lett* 1994; 341: 182-6.

¹⁰⁹ Salcedo G, Sanchez-Monge. R, Diaz-Perales A, Garcia-Casado A and Barber D. Plant non-specific lipid transfer proteins (LTPs) as food and pollen allergens. *Clin Exp Allergy* 2004, Sep; 34(9):1336-41.

¹¹⁰ Díaz-Perales A, Sanz MIL, García-Casado G et al. Recombinant Pru p 3 and natural Pru p 3, a major peach allergen, show equivalent immunologic activity: a new tool for the diagnosis of fruit allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:628-33.

¹¹¹ Lombardero M, García-Sellés FJ, Polo F, Jimeno L, Chamorro MJ, García-Casado G, Sánchez-Monge R, Díaz-Perales A, Salcedo G, Barber D. Prevalence of sensitization to Artemisia allergens Art v 1, Art v 3 and Art v 60 kDa. Cross-reactivity among Art v 3 and other relevant lipid-transfer protein allergens. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1415-1421.

¹¹² Subiza F, Feo Brito F, Pola J, Moral A, Fernández J, Jerez M y Ferreiro M. Pólenes alergénicos y polinosis en 12 ciudades españolas. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1998; 13:45-58.

¹¹³ Moral de Gregorio A, Senent Sánchez C, Cabañes Higuero N, García Villamuza Y, Gómez-Serranillos Reus M. Pólenes alergénicos y polinosis en Toledo durante 1995-1996.

¹¹⁴ Hirst J. M. An automatic volumetric spore trap. *Ann Appl Biol* 1952; 39: 257-265.

¹¹⁵ Solomon W.R., Mathews K.P.: "Aerobiología y alérgenos inhalables". En Middleton E., Reed C., Ellis E., y cols., eds. *Alergia: principios y práctica*, Vol. 1. Barcelona; 1992: 295-338.

¹¹⁶ Pollinosis in Spain. Estudio del Comité de Aerobiología de la SEAIC en vías de publicación.

¹¹⁷ Moral A. Aerobiología y polinosis por Cupresáceas en España. *Alergol Immunol Clin* 2003; 18 (Extraordinario Núm. 3): 25-35.

¹¹⁸ Subiza J, Cabrera M, Valdivieso R. Et al. Seasonal asthma caused by airborne *Platanus* pollen. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 1123-9.

¹¹⁹ Varela S, Subiza J, Subiza JL, Rodríguez R, García B, Jerez M et al. *Platanus* pollen as an important cause of pollinosis. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 748-54.

¹²⁰ Recuentos de pólenes anuales. Toledo. www.polenes.com

¹²¹ Subiza J. Cómo interpretar los recuentos de pólenes. *Alergol Immunol Clin* 2001;16:59-65

¹²² D. Barber, F. de la Torre, F. Feo, F. Florido, P. Guardia, C. Moreno, J. Quiralte, M. Lombardero, M. Villalba, G. Salcedo, R. Rodriguez. Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: a molecular epidemiological study. *Allergy* 2008; 63: 1550–1558.

¹²³ Valenta R, Duchene M, Ebner C et al. Profilins constitute a novel family of functional plant panallergens. *J Exp Med* 1992; 175: 377-85

¹²⁴ Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N. Allergic rhinitis and its impact on asthma, ARIA workshop report. *J Allergy Clin Immunol*, 2001. 108: 147-334.

¹²⁵ Guía española para el manejo del asma. Ed. Luzán 5, SA. 2009.
Disponible en: www.gemasma.com

¹²⁶ Lombardero M, Doffort O, Sellés JG, Hernández J, Carreira J. Cross-reactivity among *Chenopodiaceae* and *Amaranthaceae*. *Ann Allergy* 1985; 54:430-436.

¹²⁷ Barderas R, Villalba M, Batanero E, Pascual CY, Rodríguez R. Role of

profilin and polcalcin in chenopod pollen allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 1132-1133.

¹²⁸ Carnés J, Fernández-Caldas E, Marina A, Lahoz A, Colás C, Lezaun A: Immunochemical characterization of Russian thistle (*Salsola kali*) pollen extracts. Purification of the allergen Sal k 1. *Allergy* 2003; 58:1152-1156.

¹²⁹ Bernstein IL, Storms WW. Practice parameters for allergy diagnostic testing. Joint Task Force on Practice Parameters for the Diagnosis and Treatment of Asthma. The American Academy of Allergy, Asthma and Immunology and the American College of Allergy, Asthma and Immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1995; 75(6):543-625.

¹³⁰ Krouse JH, Mabry RL. Skin testing for inhalant allergy 2003: current strategies. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129:33-49.

¹³¹ Dreborg S. The skin prick test in the diagnosis of atopic allergy. *J Am Acad Dermatol* 1989; 21:820-821.

¹³² EAACI. Skin test used in type I allergy testing position paper. Subcommittee on skin test of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1989; 44:1-59.

¹³³ Northern Society of Allergology. Nordic Standat. *Acta Allergol* 1972; 27:439-468.

¹³⁴ Asher MI, Keil U, Anderson HR, Beasley R, Crane J, Martínez F et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Respir J* 1995; 8:483-491.

¹³⁵ Petersen AB, Gudmann P, Milvang-Gronager P, Morkeberg R, Bogestrand S, Linneberg A, Johansen N. Performance evaluation of a

specific IgE assay developed for the ADVIA centaur immunoassay system. Clin Biochem 2004 Oct; 37(10):882-92.

¹³⁶ Ricci G, Capelli M, Miniero R, Menna G, Zannarini L, Dillon P et al. A comparison of different allergometric tests, skin prick test, Pharmacia UniCAP®, and ADVIA Centaur®, for diagnosis of allergic diseases in children. Allergy 2003; 58:38-45.

¹³⁷ WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 59th WMA General Assembly, Seoul, Korea, October 2008. Disponible en:

<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/17c.pdf>

¹³⁸ Feo Brito et al. Perfil de sensibilización molecular a pólenes en el Área de Ciudad Real. Datos pendientes de publicación. 2013.

¹³⁹ Serrano P. Sensibilización a alérgenos minoritarios de Olea europea como causa de reacciones sistémicas por inmunoterapia alérgeno-específica (doctoral thesis). Córdoba (Spain). University of Cordoba; 2007.

¹⁴⁰ Subiza J. Cómo interpretar los recuentos de pólenes. Alergol Inmunol Clin 2001;16:59-65

¹⁴¹ Fernández C, Martín-Esteban m, Fiandor A, Pascual C, López C, Martínez F, Días JM, Ojeda JA. Analysis of cross-reactivity between sunflower pollen and other pollens of the Compositae family. Allergy Clin Immunol. 1993 Nov; 92(5):660-7.

¹⁴² Jiménez A, Moreno C, Martínez J, Martínez A, Bartolomé B, Guerra F, Palacios R. Sensitization to sunflower pollen: only an occupational allergy? Int Arch Allergy Immunol 1994; 105:297-307.

¹⁴³ Kurzen M, Bayerl C, Goerd S. Occupational allergy to mugwort. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2003. 1(4):285-90.

¹⁴⁴ Radauer C, Willeroider M, Fuchs H, Hoffmann-Sommergruber K, Thalhamer J, Ferreira F, Scheiner O. and Breiteneder H. Cross-reactive and species-specific immunoglobulin E epitopes of plantprofilins: an experimental and structure-based analysis. *Clin Exp Allergy*, 36, 920-929.

¹⁴⁵ Orovitg A, Guardia P, Barber D, de la Torre F, Rodríguez R, Villalba M, Salcedo G, Monteseirin J, Conde J. Enhanced diagnosis of pollen allergy using specific immunoglobulin E determination to detect major allergens and panallergens. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2011; Vol. 21(4): 253-259.

¹⁴⁶ Tinghino R, BD, Twardosz A, Barletta B, BD, Puggioni EMR, Iacovacci P, Butteroni C, Afferni C, Mari C, Hayek B, Di Felice G, Focke M, Westritschnig K, Valenta R, Pini C,. Molecular, structural, and immunologic relationships between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2002, 314-32.

¹⁴⁷ Costa MA, Colombo P, Izzo V et al. cDNA cloning, expression and primary structure of Par j 1, a major allergen of *Parietaria judaica* pollen. *FEBS Lett* 1994;341:182-6.

¹⁴⁸ Laurer I, Foetisch K, Hartz M, San Miguel Moncin M, Cistero-Bahirmir A, Conti A, Vieths S, Sheurer S. Plane pollen (*Platanus acerifolia*) lipid transfer protein (Pla a 3): Characterization and its biological activity in comparison to the peach LTP, Pru p 3. XXV Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology (Abstract book), 2006, p 129.

¹⁴⁹ Woods RK, Abramson M, Walters EH. International prevalences of reported food allergies and intolerances. Comparisons arising from the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS) 1991-1994. *Eur J Clin Nutr.* 2001; 55:298-304

¹⁵⁰ García BE, Lombardero M, Echechipía S, Olaguibel JM, Díaz-Perales A, Sánchez Monge R, Barber D, Salcedo G, Tabar AI. Respiratory allergy to peach leaves and lipid-transfer proteins. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:291.

¹⁵¹ Pellegrino E, Thomasma D. *The Virtues in Medical Practice.* Oxford University Press 1992. ISBN 0-19-508289-3.