



FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

## TRABAJO FIN DE MÁSTER

Alteraciones del sistema nervioso autónomo y  
frecuencia cardiaca como marcador precoz de anafilaxia  
inducida por alimentos.

**Alumno:** Botía Martínez-Artero, Blanca.

**Tutor:** González Delgado, María Purificación.

*Curso: 2021-2022*

## 1. RESUMEN

**Introducción:** Uno de los signos objetivables principales de la anafilaxia es la urticaria-angioedema, si bien en algunos casos la liberación de histamina a nivel sistémico ocasiona cambios vasculares y hemodinámicos sin afectación cutánea. En el transcurso de una reacción sistémica, existen cambios en el sistema nervioso autónomo, tanto simpático como parasimpático, los cuales no han sido suficientemente estudiados.

**Hipótesis y objetivos:** En una reacción anafiláctica grave, una gran liberación de histamina al torrente sanguíneo puede producir cambios cardiovasculares antes de producir signos cutáneos. El objetivo principal de este trabajo es valorar si la detección de alteraciones agudas en el electrocardiograma mediante monitorización del paciente, que precedan a los signos cutáneos, podría ser de utilidad para un manejo más precoz de la reacción anafiláctica en las pruebas de provocación oral con alimentos en los procedimientos diagnósticos llevados a cabo por los Servicios de Alergología.

**Material y métodos:** Se realizaría un estudio observacional descriptivo transversal en el que se recogería la actividad cardíaca de pacientes sometidos a pruebas de provocación oral controlada con alimentos, mediante un sensor de frecuencia cardíaca que se conecta al software de análisis de variabilidad de la frecuencia cardíaca (HRV) Kubios<sup>R</sup>.

**Ámbito:** Unidad de Alergia del Hospital General Universitario de Alicante.

**Sujetos:** Pacientes alérgicos a la proteína transferidora de lípidos (LTP) de melocotón pertenecientes al ámbito del Hospital General de Alicante a los que se les realizará test de provocación controlada con dicha proteína.

**Palabras clave:** anafilaxia, alergia alimentaria, intervalos RR, frecuencia cardíaca, monitorización

## 2. ABSTRACT

**Introduction:** Even though the main objective sign in an anaphylactic reaction is urticaria-angioedema, sometimes the release of histamine to the bloodstream causes vascular and hemodynamic changes without skin involvement. There are changes in the autonomic nervous system, sympathetic and parasympathetic, in case of a systemic reaction, which have not been studied enough.

**Hypothesis and objectives:** In a severe anaphylactic reaction, a large release of histamine to the bloodstream can cause cardiovascular changes before causing cutaneous signs. The main objective will be to assess if finding early electrocardiogram alterations through patient monitoring, before any cutaneous signs could be useful for an acute management of the anaphylaxis when performing a direct provocative food or drug challenge by an Allergy department.

**Material and methods:** A cross sectional observational study would be performed, where the cardiac activity of the patients is being measured using a heart rate sensor device, while going through a direct food oral challenge, that would be later connected to a variability analysis of the heart rate (HRV) Kubios<sup>R</sup>

**Field:** Allergy Department of the General Hospital of Alicante

**Subjects:** Patients with diagnosed food allergy to peach's lipid transfer protein (LTP) (Pru p3) from the province of Alicante in the healthcare area of the General Hospital of Alicante.

**Keywords:** anaphylaxis, food allergy, RR intervals, heart rate, monitoring

# ÍNDICE

## ASPECTOS PRELIMINARES

1. Resumen.....	2
2. Abstract .....	3

## CUERPO DEL TRABAJO

1. Introducción.....	6
A. Justificación.....	7
B. Hipótesis.....	9
C. Objetivos.....	10
I Objetivo principal .....	10
II Objetivo secundario.....	10
D. Aplicabilidad y utilidad de los resultados .....	10
2. Material y métodos .....	12
A. Diseño.....	12
B. Población de estudio.....	12
I. Criterios de inclusión.....	13
II. Criterios de exclusión.....	13
III. Criterios de retirada.....	14
C. Tamaño muestral.....	14
D. Lugar de realización.....	15
E. Tiempo de realización.....	15
F. Variables de estudio.....	15

1. Demográficas.....	15
2. Clínicas.....	15
A) Variables principales.....	16
G. Procedimientos y recogidas de datos.....	16
H. Análisis estadístico.....	20
I. Limitaciones y posibles sesgos.....	20
J. Estrategia de búsqueda bibliográfica.....	21
3. Aspectos éticos.....	22
4. Plan de trabajo.....	24
A. Equipo investigador.....	24
B. Experiencia del equipo investigador.....	25
C. Etapas del desarrollo del proyecto.....	25
5. Presupuesto económico.....	26
6. Conflictos de interés.....	26
 BIBLIOGRAFÍA.....	 27
 ANEXOS.....	 30

### 3. INTRODUCCIÓN

Los órganos afectados en la **anafilaxia** determinan los síntomas clínicos observados en los pacientes, los principales órganos de choque con el **sistema cardiovascular** y el pulmón <sup>1</sup>. Se han identificado una gran cantidad de **mediadores proinflamatorios** implicados en la anafilaxia. Entre ellos hay mediadores preformados (histamina, triptasa, heparina, citocinas, factor de necrosis tumoral...), mediadores que se generan en minutos (factor activador de las plaquetas, prostaglandina D2 y leucotrienos) y mediadores que se producen en horas (interleucinas, factor estimulante de las colonias de macrófagos, factor estimulante de colonias granulocíticas-monocíticas)<sup>2</sup>.

La **histamina** es probablemente el mediador más importante y el que más rápido produce los síntomas. Actúa a través de los receptores H1 y H2<sup>3</sup>.

A **nivel cardíaco**, los **receptores H2** estimulan la **frecuencia cardíaca** y la **contractibilidad**, lo que aumenta el consumo de oxígeno. Por otra parte, los **receptores H1** aumentan aún más la **frecuencia cardíaca** y producen vasoespasmo de las arterias coronarias (Esto puede llegar a producir un infarto de miocardio a pesar de coronarias sanas. Es lo que se conoce como síndrome de Kounis o infarto alérgico). La taquicardia es la alteración del ritmo más frecuente en anafilaxia <sup>4,5</sup>.

La **interacción del estímulo H1 y H2** provoca disminución de la TA diastólica <sup>1</sup>

El **PAF (factor de activación plaquetaria)** produce un aumento de la permeabilidad vascular, disminuye la actividad cardíaca, la contracción del músculo liso y promueve el colapso circulatorio. Es decir tiene un efecto **ionotrópico negativo**, en contraposición con el efecto de la histamina. Por tanto aunque la taquicardia sea la alteración de ritmo más frecuente en la anafilaxia, algunos pacientes pueden experimentar **bradicardia**, sobre todo en las fases más tardías. Los niveles de PAF aumentan de manera transitoria en la anafilaxia y se correlacionan con la gravedad y posibilidad de muerte, La inyección precoz de adrenalina protege frente al PAF, pues actúa desfosforilando su receptor y lo inactiva <sup>5</sup>.

La **triptasa** es una proteasa específica de los mastocitos cuyas consecuencias clínicas incluyen hipotensión, angioedema...<sup>6</sup> El **diagnostico de la anafilaxia es clínico** y se caracteriza por la rápida progresión en la gravedad de los síntomas, lo que obliga a actuar con rapidez para evitar un desenlace fatal. Las principales dificultades diagnósticas son la ausencia de una semiología patognomónica y el **no disponer de una prueba complementaria** que confirme su diagnóstico en el momento crítico.<sup>6</sup>

Se han propuesto y validado unos criterios en los últimos años con los que se espera identificar más del 95% de las anafilaxias<sup>7</sup>. Se debe sospechar cuando aparece de manera aguda en minutos u horas un síndrome rápidamente progresiva que afecta a piel y/o mucosas y que se acompaña de **compromiso respiratorio y/o circulatorio**.<sup>7</sup>

En un estudio epidemiológico sobre la anafilaxia mortal, el tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta la parada cardiorrespiratoria estaba estrechamente relacionado con el agente causal, siendo de 30 minutos cuando el desencadenante era un alimento<sup>1</sup>.

### **3.A. JUSTIFICACIÓN: ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA**

Si bien uno de los signos objetivables principales de la anafilaxia es la urticaria, en algunos casos la liberación de histamina a nivel sistémico ocasiona cambios vasculares y hemodinámicos sin afectación cutánea<sup>8</sup>. Además hay cambios en el sistema nervioso autónomo, tanto simpático como parasimpático en el caso de una reacción sistémica, los cuales no han sido suficientemente estudiados.

En el trabajo realizado por el Servicio de Alergia del Hospital de Elche<sup>9</sup> en el año 2000, un estudio de carácter descriptivo donde se analizaron datos de 50 pacientes sometidos a pruebas de exposición controlada con medicamentos, se midió la actividad cardiaca mediante un dispositivo electrocardiográfico no invasivo, que posteriormente fue convertida a un algoritmo que permitió medir las series de intervalos RR<sup>9</sup> (Anexo1 y 2).

De entre todos los pacientes estudiados, dos de ellos presentaron una anafilaxia. En estos pacientes se observó un aumento significativo de los picos de frecuencia cardiaca en el espectro cardiaco en comparación con sus niveles basales. Estos picos de frecuencia

disminuyeron progresivamente antes de que los pacientes desarrollaran síntomas. Tras la administración de adrenalina se observa una recuperación del pico de frecuencia. No se detectó mediante el tensiómetro y pulsómetro en la sala de provocación alteraciones en la tensión arterial ni en la frecuencia cardíaca (a pesar de que hubo cambios en el RR). Se concluyó tras este estudio que existen cambios significativos en el espectro de frecuencia cardíaca previamente a otros síntomas durante una anafilaxia.<sup>9</sup>

La mayoría de los estudios de investigación para el estudio de la variabilidad del intervalo RR han sido llevado a cabo por los Servicios de Cardiología y de Ciencias del Deporte. En un estudio llevado a cabo por el National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) en Bethesda, Maryland; Se comparó la variabilidad del RR en sujetos sanos con sujetos que presentaron un infarto de miocardio y se estudiaron niveles normales de esta variabilidad para sujetos sanos sin patología cardíaca previa.<sup>10-18</sup>

Se ha empleado el intervalo RR como medida de variabilidad al ser un dato más sensible que la medida de la frecuencia cardíaca, en estudios llevados a cabo por Medicina del Deporte, se ha utilizado para establecer un plan de entrenamiento para deportistas, donde se han aportado indicaciones para la correcta medición del RR en estado basal y tras un ejercicio.<sup>19-23</sup> Hoy en día tenemos a nuestra disposición modelos de software como Kubios<sup>R</sup> que permite codificar y procesar los datos recogidos con una aplicación, móvil.<sup>24</sup>

Los estudios referenciados previamente se han centrado en valorar cambios electrocardiográficos respecto al estado basal del paciente, sin embargo hay escasa información acerca del tiempo de aparición de estos cambios, su correlación con la aparición de otros síntomas, con la gravedad de la reacción o con otros parámetros como alteraciones analíticas propias de la anafilaxia. Una detección mediante monitorización cardíaca del paciente, de las **alteraciones agudas que precedan a los signos cutáneos** podrían ser de utilidad para un manejo más precoz de la reacción anafiláctica en las pruebas de provocación oral con alimentos o medicamentos en los procedimientos diagnósticos llevados a cabo por los Servicios de Alergología.

Por todo ello el objetivo de este proyecto es valorar la aparición de alteraciones en la frecuencia cardíaca y su tiempo de aparición, mediante la medición del intervalo RR, en pacientes que presentan una reacción anafiláctica, en concreto pacientes sometidos a una provocación oral con preparado de melocotón e historia de reacciones moderadas-graves con dicho alimento. Se pretende valorar no solo la prevalencia de alteraciones cardíacas, sino su tiempo de aparición y su correlación con la aparición de otros síntomas identificados por el paciente y signos objetivos identificados por el alergólogo, como los signos cutáneos, o la caída tensional, la aparición de síntomas respiratorios...

Cabe señalar que los pacientes se han reclutado de un ensayo clínico llevado a cabo en el Servicio de Alergología de carácter aleatorizado doble ciego controlado por placebo para evaluar la eficacia y mecanismos implicados en la inmunoterapia sublingual específica con Pru p 3 (Pru p 3-ITSL) en pacientes con alergia a nsLTP con síntomas graves en su respuesta frente a melocotón, cacahuete, artemisia y olivo. Ensayo de carácter multicéntrico, donde se selecciona a los pacientes pertenecientes al Hospital General Universitario de Alicante (Código de protocolo: FIM-PRU-2018-01, número eudract: 2017-005038-53) (Anexo 3).

### **3.B. HIPÓTESIS**

El estudio mediante monitorización cardíaca de las alteraciones electrocardiográficas (alteración intervalo RR) u otras alteraciones del sistema nervioso autónomo que preceden a otros síntomas objetivos en el transcurso de una anafilaxia puede ayudar a identificar una reacción sistémica precozmente, lo que conlleva una mejora en el tratamiento de la misma y en la supervivencia del enfermo.

### **3.C. OBJETIVOS**

#### **3.C I Objetivo principal**

*- Determinar si las alteraciones del sistema nervioso autónomo tales como alteración en la frecuencia cardiaca preceden a otros síntomas como los cutáneos (urticaria/angioedema) en una reacción alérgica sistémica de tipo moderada-severa a alimentos, lo cual permitirá un tratamiento más precoz de la reacción.*

#### **3.C II Objetivos secundarios**

- Conocer la frecuencia de aparición de taquicardia en los pacientes con anafilaxia.*
- Determinar el momento de aparición de tales alteraciones cardiacas.*
- Conocer si existen alteraciones electrocardiográficas secundarias a estrés.*
- Conocer la frecuencia de aparición de bradicardia en los pacientes con anafilaxia.*
- Conocer si alteraciones en las cifras tensionales pueden igualmente ayudar a identificar precozmente la reacción anafiláctica.*
- Identificar otras alteraciones asociadas a las anteriores de tipo respiratorio.*
- Valorar diferencias entre pacientes según edad/sexo/alérgeno.*

### **3.D APLICABILIDAD Y UTILIDAD DE LOS RESULTADOS**

El principal objetivo de este estudio es, como hemos mencionado anteriormente, conocer si existen alteraciones cardíacas objetivables en el paciente con anafilaxia que precedan a los signos cutáneos.

En los servicios de Alergia, las provocaciones controladas se suelen realizar para comprobar tolerancia al alimento sospechoso o confirmar una alergia cuando el diagnóstico es incierto y no hay historia de reacción grave, por tanto, la principal aportación de este trabajo consiste en proporcionar información de un número relevante de pacientes a los que

se les inducirá una reacción. En este caso al estudiar a pacientes incluidos en un ensayo clínico controlado con placebo, a los que se les va a realizar test de exposición controlada con el alimento implicado en las reacciones para valorar el efecto terapéutico de la inmunoterapia sublingual con LTP, disponemos de una población en la que es posible medir estas variables.

Además de medir la existencia de alteraciones del intervalo RR, se pretende medir otros cambios observados en el registro electrocardiográfico y se pretende correlacionar el tiempo de aparición de estas alteraciones respecto al tiempo de aparición de otros signos cutáneos, que son los que habitualmente esperamos encontrar para poder tratar una reacción.

En el momento actual no existe ningún sistema capaz de detectar una alteración del intervalo RR cardíaco a tiempo real. En los métodos de registro disponibles en la actualidad, es necesario una lectura y procesamiento posteriores del registro de actividad cardíaca realizado en un periodo de tiempo previo. Esta lectura se realiza mediante un software conocido como sistema Kubios<sup>R</sup>, el cual viene siendo utilizado desde hace años en el ámbito de Ciencias del deporte para la monitorización de la adaptación individual de los atletas a un entrenamiento físico.

En el caso de llevar a cabo este estudio y encontrar datos significativos, se podría valorar la utilidad de una monitorización cardíaca durante las pruebas de provocación oral en los Servicios de Alergia, así como plantear un sistema de lectura de intervalo cardíaco RR simultáneamente a los cambios. De esta manera permitiría tratar de manera más precoz una reacción de características graves y evitar desenlaces indeseados u otros síntomas sistémicos con repercusión en el paciente.

## **4. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **4.A DISEÑO**

Se realizaría un estudio observacional transversal realizado en la muestra de pacientes incluidos en el ensayo clínico mencionado anteriormente, en la fase del ensayo en la que son sometidos a la provocación oral doble ciego controlada con placebo. Por lo tanto se trata de un tipo de estudio que permite evaluar la prevalencia de alteraciones en el intervalo RR de manera precoz en una reacción sistémica moderada-grave. A cada paciente se le realizará una provocación con 2 activos y 2 placebos en cuatro días diferentes, por lo que a cada paciente se le realizarán cuatro monitorizaciones para el registro de posibles alteraciones electrocardiográficas.

### **4.B POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Los sujetos candidatos a ser incluidos en el estudio serán pacientes pertenecientes al área de salud del Hospital General Universitario de Alicante, jóvenes y sin patología cardíaca previa, con buen estado de salud general de manera que no haya variaciones basales del intervalo RR.

Para esta selección se han tenido en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

#### **4.B I Criterios de inclusión:**

- Hombres o mujeres 14-55 años del servicio de alergia del HGUA
- No tener antecedentes de enfermedad cardiovascular, hipertensión, diabetes o colesterol alto.
- No tener antecedentes familiares de trastornos cardiovasculares
- Exploración física (auscultación cardiopulmonar) y constantes vitales (temperatura, frecuencia cardiaca y tensión arterial) dentro de la normalidad.
- No consumo de drogas, alcohol o tabaco.
- No consumo de café u otras bebidas estimulantes ni beta2 agonistas las 24 h previas a la monitorización.
- Otorgar su consentimiento informado (CI) del estudio.

#### **4.B II Criterios de exclusión:**

- Embarazo y lactancia
- Enfermedades inmunológicas, tratamientos con inmunomoduladores y/o bloqueantes.
- Enfermedad mental.
- FEVI<70% medida mediante espirometría, hiper/hipotensión, alteraciones basales de la frecuencia cardiaca.
- Sujetos incapaces de cumplir con el calendario de visitas durante el estudio, como, por ejemplo, por dificultades laborales.
- Historia familiar o personal de enfermedad cardiovascular.
- Asma mal controlado.

#### **4.B III Criterios de retirada:**

Los pacientes son libres de retirar su consentimiento e interrumpir la participación en el ensayo en cualquier momento. Los sujetos perdidos no serán reemplazados, y sus datos hasta el momento del abandono serán incluidos en el análisis por intención de tratar. Los siguientes motivos supondrán la retirada del sujeto participante:

- Retirada voluntaria del consentimiento. En este caso, se intentará recoger información sobre el motivo o los motivos de revocación y sobre cualquier AA nuevo o en curso.
- Abandono de las revisiones, sin indicar su intención de retirarse no siendo posible su localización o recaptación. El investigador deberá actuar con diligencia y contactar con el paciente, su familia y documentar en los documentos fuentes los pasos tomados hasta su retirada.
- Fallecimiento.
- A juicio del investigador.

#### **4.C TAMAÑO MUESTRAL**

Para calcular el tamaño muestral, se ha establecido una estimación puntual aproximada de los pacientes con alergia a LTP que puedan cumplir los criterios de inclusión de nuestro estudio (jóvenes/sanos sin patologías cardíacas) y en los que se espera que tengan una alteración del intervalo RR respecto al basal tras una anafilaxia, dado que no existe bibliografía al respecto, basándonos en la experiencia en nuestro medio se calcula un tamaño muestral de 400.

Tras revisar datos de prevalencia de anafilaxia por LTP en pacientes atendidos en nuestro hospital se estima un 30% de enfermedad <sup>25</sup>. Con este dato y asumiendo un error tipo alfa de 5%, un intervalo de confianza del 95%, se obtiene un tamaño muestral de 179 pacientes, utilizando el programa Epidat 3,0.

Este tamaño muestral serviría para un estudio preliminar y el tamaño se podría aumentar posteriormente a través de la colaboración con otros centros.

#### **4.D LUGAR DE REALIZACIÓN**

El estudio sería llevado a cabo en la Unidad Polivalente del HGUA, a cargo del Servicio de Alergia, así como en las consultas externas de Alergia.

#### **4.E TIEMPO DE REALIZACIÓN**

Los datos electrocardiográficos serán obtenidos durante las pruebas de provocación PPDCCP del ensayo clínico FIM-PRU-2018-01 estas se realizarán en un periodo máximo de 15 meses, con un periodo máximo de 21 días para cada paciente. A los pacientes se les realizarán PPDCCP al inicio del tratamiento que se está ensayando (SLIT Pru p3) durante el año académico 2022-2023.

#### **4.F VARIABLES DEL ESTUDIO**

##### 1. Demográficas

- Edad (en años cumplidos): cuantitativa discreta medida en años
- Género (hombre/mujer): cualitativa dicotómica

##### 2. Clínicas:

- Reacción moderada/ reacción grave: cualitativa dicotómica

a) *Variables principales* (Anexo 4):

- Valoración de la respuesta del sistema nervioso autónomo (SNA) en las reacciones alérgicas moderadas/graves:
  - Intervalo RR en los minutos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 tras la ingesta (en milisegundos): cuantitativa continua.
- Valoración de la frecuencia de aparición de alteraciones del SNA:
  - Proporción de pacientes con alteraciones en la amplitud del intervalo RR sobre el basal: cuantitativa continua.
- Valoración de la frecuencia de aparición de síntomas cutáneos/mucosos:
  - Proporción de pacientes con angioedema: cuantitativa continua
  - Proporción de pacientes con urticaria: cuantitativa continua.
- 
- Alteraciones analíticas propias de una anafilaxia:
  - Niveles de triptasa: cuantitativa continua.

#### **4.G PROCEDIMIENTOS Y RECOGIDAS DE DATOS**

Las pruebas de exposición oral controladas con alimentos y medicamentos del Servicio de Alergia del HGUA se llevan a cabo en la Unidad Polivalente. El ensayo clínico se llevará a cabo en las consultas externas y en esta unidad, la recogida de datos electrocardiográficos para el estudio que planteamos se llevará a cabo en esta unidad durante las pruebas de exposición controlada. Participará la mayoría del servicio de Alergia (FEA y personal de enfermería).

El estudio que planteamos constará de las siguientes fases:

#### **4.G I Periodo de selección**

En la visita 0A del ensayo FIM-PRU-2018-01 se asigna al paciente un código de selección, que dependerá del centro en el que se incluya al paciente y se asignará correlativamente. Para nuestro estudio se utilizará el mismo código para cada enfermo que el del ensayo. Para la anonimización correcta de los pacientes a cada centro se le asignará un código, será HA3 para el HGUA. A continuación un número correspondiente a cada paciente.

Durante esta visita se llevarán a cabo los siguientes procedimientos:

- Firma del consentimiento informado (CI) del ensayo clínico por el paciente y/o el tutor legal responsable en caso de menores de edad y el asentimiento en los pacientes entre 14-16 años. El paciente firmará 2 copias del CI del estudio, una copia se le entregará al paciente y la otra se guardará en el archivo del investigador del centro.
- El paciente recibirá un número de teléfono móvil de contacto y un correo electrónico donde dirigirse para consultar cualquier tipo de duda.
- Verificación inicial del cumplimiento de todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión. El criterio relacionado con la confirmación de la alergia de PPDCCP se valorará en la visita “V1” (visita de aleatorización del ensayo FIM-PRU-2018-01).
- Recogida de datos de la historia clínica personal. Se recogerán los antecedentes de alergia del paciente (dermatitis atópica, rinitis y/o asma, alergia a medicamentos y otras alergias alimentarias). Además, se recogerán antecedentes personales y familiares de alteraciones cardiovasculares, hipertensión, diabetes o colesterol alto.
- Medicación concomitante: Se revisará el tratamiento que el paciente tome habitualmente y del consumo de drogas, tabaco o alcohol.

- Exploración física: Se llevará a cabo una exploración del paciente anotando edad, peso (kg), altura (cm) y los signos vitales: temperatura, tensión arterial, frecuencia cardíaca y saturación de oxígeno. Las pruebas de función respiratoria se realizarán con el espirómetro habitual utilizado en cada centro, esta prueba se realizará prioritariamente en pacientes con diagnóstico previo de asma. En los pacientes que no presenten asma se realizarán las pruebas de función respiratoria según el protocolo de actuación frente a la pandemia por Covid-19 de cada centro.

- Muestra de orina: Se realizará un test de embarazo en las mujeres en edad fértil. Esta prueba se realizará en la visita 0A antes de las PPDCCP.

- Realización de pruebas cutáneas: las pruebas cutáneas se llevarán a cabo al inicio del periodo de selección siempre y cuando el paciente no esté tomando antihistamínicos, dado que negativiza el resultado de las pruebas cutáneas y las pruebas de provocación con alimentos.

- Extracción de muestras biológicas para determinación basal: Se realizará un hemograma y una bioquímica general en la que se solicitará IgE total; triptasa basal, creatinina y glucosa. Estas determinaciones se llevarán a cabo en los laboratorios locales de cada centro.

- Pruebas de provocación controlada a doble ciego con placebo: Esta prueba se realizará como máximo a los 21 días de la realización de las pruebas cutáneas y extracción de sangre. La duración de las pruebas de provocación se llevará a cabo en un periodo máximo de 21 días para cada paciente (con un intervalo de 5 días  $\pm$  2 días entre cada prueba de provocación). Las pruebas de provocación oral se iniciarán con la prueba para Melocotón (Anexo 3), y siguiendo el calendario de visitas propuesto.

- Para Melocotón: En la preparación activa, se usará un zumo de melocotón industrial del que un vaso contiene el equivalente en Prup 3 de un melocotón con piel, (datos cedidos por ALK, sin publicar) y como placebo Sunny Delight® y aroma de melocotón sin Prup 3.
- Para Cacahuete: Se darán 15 unidades (14.5 gr de cacahuete) enmascarados con paté (activo) frente a paté solo (placebo). Tras cada dosis administrada, se evaluará la presencia de síntomas de alergia oral (SAO) y su intensidad en una escala visual analógica (EVA, Anexo 5). La provocación se parará ante la aparición de los primeros síntomas objetivos o tras tres dosis consecutivas con síntomas de alergia oral (SAO) con una EVA >2.

Es en esta fase del ensayo donde se colocará a cada paciente, un sensor de frecuencia cardíaca Polar<sup>R</sup> modelo Polar H10, que consiste en un sensor colocado en una banda textil con silicona antideslizante y electrodos, que se coloca alrededor del tórax del paciente ajustado para una correcta sujeción. Las bandas de electrodos deben estar humedecidas, por lo que se explicará al paciente y se la colocará dentro del baño. El sensor con el logo de Polar<sup>R</sup> debe estar en posición centrada y vertical.

El sensor se conecta por medio de Bluetooth a un teléfono móvil Smartphone donde abriremos la aplicación móvil “Elite HRV”, se seleccionará la opción “Open HRV Reading” y clicamos “Take test”. Se empieza la lectura de la frecuencia cardíaca y recogida de datos para el intervalo RR de manera basal durante 10 minutos antes de empezar la provocación oral. Es importante asegurarse que todos los pacientes empiezan la lectura a la misma hora y siempre 10 minutos antes de empezar la provocación, esto es así porque pequeñas variaciones como la hora del día o mínimas alteraciones pueden causar variaciones en este intervalo. Se recogerán todos los síntomas y signos objetivos del paciente durante la provocación anotando la hora de aparición. Tras finalizar la prueba se

exportarán los datos recogidos de cada paciente y se realizará una lectura mediante el software Kubios Premium<sup>R</sup> para Windows.

#### **4.H ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se creará una base de datos donde los pacientes serán identificados a partir de un código asignado. Las variables continuas están representadas como medias  $\pm$  desviación estándar cuando la distribución de la muestra es normal y como medianas [rango intercuartílico] si la distribución de la muestra es no normal. Las variables categóricas son expresadas como frecuencias y porcentajes. Las variables continuas con distribución normal serán comparadas con la t de Student; Las variables continuas con distribución no normal serán comparadas con el test de U de Mann-Whitney. Variables categóricas serán comparadas utilizando el test de Chi cuadrado. Se considerará con un nivel de error alfa del 5% para tener intervalos de confianza (IC) del 95% y un nivel de significación de  $p < 0,05$ . Para analizar los datos se utilizará el paquete estadístico IBM SPSS Statics de la última versión.

#### **4.I LIMITACIONES Y POSIBLES SESGOS**

Una de las limitaciones del estudio es la falta de bibliografía publicada al respecto en el ámbito de estudios de Alergia. Otra limitación es la gran variabilidad del intervalo RR ante pequeños estímulos donde influye el ritmo circadiano, estado de estrés del paciente, así como la edad y sexo del paciente. Se trata de un parámetro que varía con mayor facilidad que la frecuencia cardíaca.

Una última variación sería el hecho de que la detección de alteraciones del intervalo RR no es a tiempo real, sin embargo, si los datos fueran relevantes, se podrían plantear más adelante estudios que lo fueran.

Además se podrían encontrar los siguientes sesgos:

- Sesgo de selección: Diferencias entre los grupos activo/placebo en cuanto a edad, sexo... puede influir como hemos mencionado, en los resultados al ser el intervalo RR sensible a estas variables. No obstante se pretende minimizar este sesgo al hacer previamente una aleatorización.

#### **4.J ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA**

En primer lugar, se empieza la búsqueda por las bases de datos y recursos de información nacionales como MEDLINE-Pubmed, SciELO y Cochrane para buscar artículos similares y posibles revisiones bibliográficas o metaanálisis sobre el tema. En segundo lugar, se formulan las ecuaciones de búsqueda señalando las palabras clave (MeSH): autonomic, nervous, system, anaphylaxis. anaphylaxis. Y los filtros de idioma: español e inglés, últimos 10 años.

## 5. ASPECTOS ÉTICOS

### 1. Consideraciones generales

El estudio deberá desarrollarse de acuerdo con el protocolo asegurando el cumplimiento de las Normas de Buena Práctica Clínica (NBPC), tal como se describe en los siguientes documentos:

- Guía Tripartita Armonizadas de la ICH para Buena Práctica Clínica. (“Integrated addendum to ICH E6 (R1): Guideline for Good Clinical Practice ICH E6 (R2)”).
- Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos.
- Reglamento UE 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo de la Unión Europea de 16 de abril de 2014 sobre los ensayos clínicos con medicamentos de uso humano.
- Declaración de Helsinki referente a la investigación médica en seres humanos (“Recomendaciones para los médicos que participan en investigación biomédica con seres humanos”, Fortaleza 2013). Este estudio será presentado al Comité de Ética de la Investigación (CEIm) del Hospital General Universitario de Alicante para evaluar los aspectos metodológicos y éticos del mismo. El CEIm deberá revisar y aprobar el protocolo, hoja de información al paciente y el consentimiento informado antes de proceder a la inclusión de sujetos. Antes de realizar cualquiera de los procedimientos especificados en el protocolo, el sujeto participante y el investigador deberán firmar y fechar el documento de consentimiento informado aprobado por el CEIm.

## **2. Información que será proporcionada a los sujetos seleccionados**

El investigador deberá explicar a cada sujeto seleccionado para participar la naturaleza del estudio, sus propósitos, duración estimada, los potenciales riesgos y beneficios relacionados con su participación en el estudio, así como cualquier inconveniente que éste le pueda suponer. Se informará a cada sujeto seleccionado de que su participación en el estudio es voluntaria y que tiene derecho a retirarse del estudio en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y sin que su retirada derive en responsabilidad ni perjuicio alguno, afecte a su tratamiento médico posterior o a la relación con los profesionales que le están tratando. Esta información será comentada verbalmente con el sujeto o si fuera preciso a su representante legal. Además, se le entregará la misma información por escrito en la Hoja de Información al Paciente para garantizar que el sujeto disponga de tiempo suficiente para poder comprender todos los aspectos del estudio y pueda formular las preguntas que considere oportunas.

## **3. Consentimiento Informado**

El consentimiento informado será suministrado junto a la Hoja de Información al Paciente mediante un escrito estándar, en el idioma y lenguaje sencillo que garantice su total comprensión por parte del sujeto candidato a participar. El sujeto dispondrá de tiempo suficiente para leer y entender las explicaciones antes de firmar y fechar el consentimiento informado. El sujeto deberá cumplimentar por sí mismo el formulario de consentimiento informado. Una vez firmado por el sujeto y el investigador, y fechado por ambas partes, se le entregará una copia al sujeto. El original de dicho documento se conservará en el Archivo del Investigador. El investigador documentará el proceso de obtención del consentimiento informado en la historia clínica del sujeto correspondiente.

Si no es posible la firma del consentimiento por escrito, entonces también será posible obtenerlo verbalmente, en cuyo caso el acto de consentimiento informado

deberá ser establecido por una declaración adicional firmada por un testigo no relacionado con el estudio y el investigador deberá explicar y documentar el motivo por el que el paciente no pudo firmar el consentimiento informado.

Ningún sujeto puede ser incluido en el estudio sin haber dado antes su consentimiento informado. Si fuese necesario realizar una modificación del protocolo que pueda ser relevante por afectar a la seguridad de los sujetos, no podrá llevarse a efecto sin el previo dictamen favorable del CEIm y las autoridades competentes y deberán ser comunicadas al paciente y aceptadas individualmente.

#### **4. Confidencialidad de los datos**

Se seguirán los procedimientos adecuados para asegurar el cumplimiento de lo recogido en el Reglamento (UE) N° 2016/679 General de Protección de datos (RGPD). El anonimato de los sujetos participantes en el ensayo y la confidencialidad de sus datos será respetada y mantenida en todo momento, incluyendo las conclusiones, resultados y posibles publicaciones.

## **6. PLAN DE TRABAJO**

### **6.A EQUIPO INVESTIGADOR**

#### **INVESTIGADOR PRINCIPAL**

- Blanca Botía Martínez-Artero. Facultativo Especialista Adjunto de Alergología del Hospital General Universitario de Alicante.

#### **INVESTIGADORES COLABORADORES**

- M<sup>a</sup> Purificación González Delgado. Facultativo Especialista Adjunto de Alergología del Hospital General Universitario de Alicante.

- Francisco Javier Fernández Sánchez. Facultativo Especialista Adjunto y Jefe del Servicio de Alergología del Hospital General Universitario de Alicante.
- Jordi Barrachina. Técnico de investigación de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

## **6.B EXPERIENCIA DEL EQUIPO INVESTIGADOR**

Todos los miembros del equipo investigador cuentan con experiencia en el ámbito de la investigación y algunos de ellos han realizado publicaciones científicas en revistas de alto impacto e interés científico, así como con numerosas comunicaciones orales en congresos regionales, nacionales e internacionales de relevancia en el área de la Alergología.

## **6.C DISTRIBUCIÓN DE LAS TAREAS DEL EQUIPO INVESTIGADOR**

El investigador principal se encargará de:

- Realizar la búsqueda bibliográfica.
- Redactar la hoja de recogida de datos.
- Manejo y colocación de los sensores de medida de frecuencia cardiaca (Polar<sup>R</sup>) y su conexión con la aplicación HRV Elite<sup>R</sup> mediante Bluetooth.
- Limpieza y esterilización de los dispositivos de medida.
- Exportar los datos al software de lectura de frecuencia cardiaca Kubios<sup>R</sup> y completar la hoja de recogida de datos con los resultados de los hallazgos.
- Analizar los datos.
- Redactar las conclusiones del estudio.
- Encargarse de su difusión de los resultados.

Los investigadores secundarios se encargarán de:

- Realizar la consulta inicial o de selección con realización de pruebas cutáneas,

exploración física con medición de parámetros de frecuencia cardíaca, tensión arterial, temperatura corporal, saturación de oxígeno.

- Realización de test de embarazo a las mujeres en edad fértil.
- Ayudar en la colocación del sensor de medida de frecuencia cardíaca Polar<sup>R</sup>
- Administrar el alimento implicado en las PPDCCP.
- Rellenar la hoja de recogida de datos.

## **7. PRESUPUESTO ECONÓMICO**

Para la realización de este estudio disponemos de los siguientes gastos:

### Gastos humanos:

- Los médicos (Facultativos Adjuntos Especialistas de Alergología del Hospital General Universitario de Alicante) realizarán la investigación de forma voluntaria y en horario laboral. Presupuesto 0 euros.
- Contratación de un especialista en estadística. Presupuesto de 800 euros.

### Gastos materiales:

- La investigación se llevará a cabo en las consultas de Alergia del Hospital General Universitario de Alicante y en la Unidad Polivalente que cuenta con la infraestructura adecuada (ordenadores, sistemas informáticos, impresoras, cartuchos de tinta y teléfonos). Presupuesto 0 euros.
- Compra de dos dispositivos Polar Flow modelo H10. Presupuesto 180 euros.
- Compra de dispositivo móvil tipo “Smartphone”. Presupuesto 100 euros.
- Descarga de la aplicación para móvil Elite HRV. Presupuesto 0 euros.

## **8. CONFLICTO DE INTERESES**

No existen conflictos de interés.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Kemp, S.F., Lockey, R.F. (2011). Pathophysiology and Organ Damage in Anaphylaxis. In: Castells, M. (eds) Anaphylaxis and Hypersensitivity Reactions. Humana Press, Totowa, NJ.
2. Brown SG. Anaphylaxis: clinical concepts and research priorities. *Emerg Med Australas* 2006; 18 (2): 155-169
3. Lieberman P. Anaphylaxis. *Med Clin North Am* 2006;90(1):77-95.
4. Zavras GM, Papadaki PJ, Kokkinis CE, Kalokairinov K, Kouni SN, Batsolaki M, et al. Kounis syndrome secondary to allergic reaction following shellfish ingestion. *Int J Clin Pract* 2003;57(7):622- 624
5. Fernandez-Galinski S, Pacrev S, Vela E, Munne MA, Escolano F. Lethal adverse reaction during anaesthetic induction. *Eur J Anaesthesiol* 2006;23(1):81-82.
6. Vadas P, Perelman B, Liss G. Platelet-activating factor, histamine, and tryptase levels in human anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Jan;131(1):144-9. doi: 10.1016/j.jaci.2012.08.016. Epub 2012 Oct 2. PMID: 23040367.
7. Sampson HA, Muñoz-Furlong A, Campbell RL, Adkinson NF Jr, Bock SA, Branum A, Brown SG, Camargo CA Jr, Cydulka R, Galli SJ, Gidudu J, Gruchalla RS, Harlor AD Jr, Hepner DL, Lewis LM, Lieberman PL, Metcalfe DD, O'Connor R, Muraro A, Rudman A, Schmitt C, Scherrer D, Simons FE, Thomas S, Wood JP, Decker WW. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report--Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Feb;117(2):391-7.
8. Kaliner M, Sigler R, Summers R, Shelhamer JH. Effects of infused histamine: analysis of the effects of H-1 and H-2 histamine receptor antagonists on cardiovascular and pulmonary responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1981 Nov 1;68(5):365-71.
9. Palacios F., Fernández J., Vila JA., Blanca M., Soriano V., Torres MJ. " Power spectrum analysis of Heart Rate Fluctuation in Anaphylaxis". *J Allergy Clin Immunol*, Vol 104, N°1, part2: S350, 2000.
10. Bigger JT Jr, Fleiss JL, Steinman RC, Rolnitzky LM, Schneider WJ, Stein PK. RR variability in healthy, middle-aged persons compared with patients with chronic coronary heart disease or recent acute myocardial infarction. *Circulation*. 1995 Apr 1;91(7):1936-43. doi: 10.1161/01.cir.91.7.1936. PMID: 7895350.

11. Heart rate variability for risk stratification of life-threatening arrhythmias. American College of Cardiology Cardiovascular Technology Assessment Committee. *J Am Coll Cardiol*. 1993 Sep;22(3):948-50. doi: 10.1016/0735-1097(93)90217-o. PMID: 8354837.
12. Multicenter Postinfarction Research Group. Risk stratification and survival after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1983 Aug 11;309(6):331-6. doi: 10.1056/NEJM198308113090602. PMID: 6866068.
13. Bigger JT Jr, Fleiss JL, Steinman RC, Rolnitzky LM, Kleiger RE, Rottman JN. Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction. *Circulation*. 1992 Jan;85(1):164-71. doi: 10.1161/01.cir.85.1.164. PMID: 1728446.
14. Rottman JN, Steinman RC, Albrecht P, Bigger JT Jr, Rolnitzky LM, Fleiss JL. Efficient estimation of the heart period power spectrum suitable for physiologic or pharmacologic studies. *Am J Cardiol*. 1990 Dec 15;66(20):1522-4. doi: 10.1016/0002-9149(90)90551-b. PMID: 2252008.
15. Koizumi K, Terui N, Kollai M. Effect of cardiac vagal and sympathetic nerve activity on heart rate in rhythmic fluctuations. *J Auton Nerv Syst*. 1985 Feb-Mar;12(2-3):251-9. doi: 10.1016/0165-1838(85)90065-7. PMID: 3998390.
16. Katona PG, Jih F. Respiratory sinus arrhythmia: noninvasive measure of parasympathetic cardiac control. *J Appl Physiol*. 1975 Nov;39(5):801-5. doi: 10.1152/jappl.1975.39.5.801. PMID: 1184518.
17. Buchheit M, Papelier Y, Laursen PB, Ahmaidi S. Noninvasive assessment of cardiac parasympathetic function: postexercise heart rate recovery or heart rate variability? *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007 Jul;293(1):H8-10. doi: 10.1152/ajpheart.00335.2007. Epub 2007 Mar 23. PMID: 17384128.
18. Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P, Sandrone G, Malfatto G, Dell'Orto S, Piccaluga E, et al. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circ Res*. 1986 Aug;59(2):178-93. doi: 10.1161/01.res.59.2.178. PMID: 2874900.
19. Plews DJ, Laursen PB, Stanley J, Kilding AE, Buchheit M. Training adaptation and heart rate variability in elite endurance athletes: opening the door to effective monitoring. *Sports Med*. 2013 Sep;43(9):773-81. doi: 10.1007/s40279-013-0071-8. PMID: 23852425.

20. Singh N, Moneghetti KJ, Christle JW, Hadley D, Froelicher V, Plews D. Heart Rate Variability: An Old Metric with New Meaning in the Era of Using mHealth technologies for Health and Exercise Training Guidance. Part Two: Prognosis and Training. *Arrhythm Electrophysiol Rev.* 2018 Dec;7(4):247-255. doi: 10.15420/aer.2018.30.2. PMID: 30588312; PMCID: PMC6304793.
21. Javaloyes A, Sarabia JM, Lamberts RP, Plews D, Moya-Ramon M. Training Prescription Guided by Heart Rate Variability Vs. Block Periodization in Well-Trained Cyclists. *J Strength Cond Res.* 2020 Jun;34(6):1511-1518. doi: 10.1519/JSC.0000000000003337. PMID: 31490431.
22. Javaloyes A, Sarabia JM, Lamberts RP, Moya-Ramon M. Training Prescription Guided by Heart Rate Variability in Cycling. *Int J Sports Physiol Perform.* 2018 May 29:1-28. doi: 10.1123/ijsp.2018-0122. Epub ahead of print. PMID: 29809080.
23. Mateo-March M, Moya-Ramón M, Javaloyes A, Sánchez-Muñoz C, Clemente-Suárez VJ. Validity of detrended fluctuation analysis of heart rate variability to determine intensity thresholds in elite cyclists. *Eur J Sport Sci.* 2022 Mar 27:1-8. doi: 10.1080/17461391.2022.2047228. Epub ahead of print. PMID: 35238695.
24. Flatt A, Esco M. Validity of the ithlete™ Smart Phone Application for Determining Ultra-Short-Term Heart Rate Variability. *Journal of Human Kinetics.* 2013;39(1): 85-92.
25. Ruano Zaragoza M, Fernández Sánchez FJ (dir), González Delgado P (dir). Biomarcadores de utilidad diagnóstica en pacientes con alergia a LTP de fenotipo grave [trabajo final de máster en Internet]. [Alicante]: Universidad de Miguel Hernández; 2018. Recuperado a partir de: <https://hdl.handle.net/11000/6408>

## ANEXOS

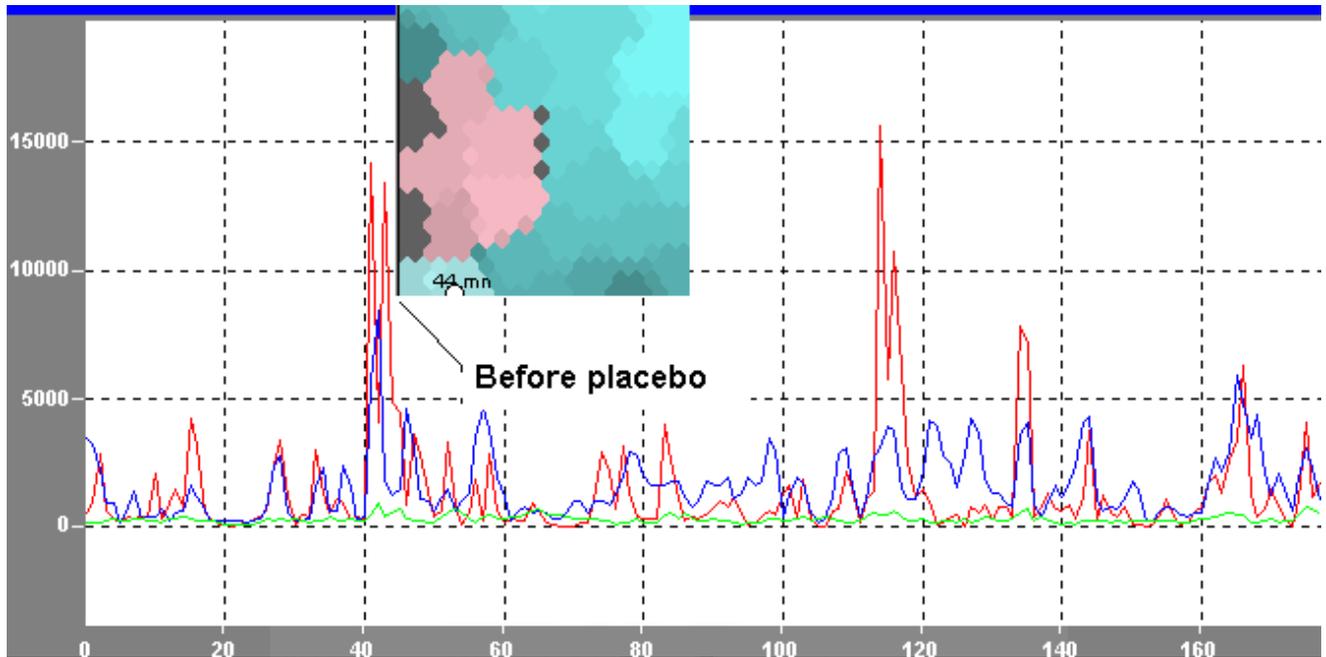
### ANEXO 1:



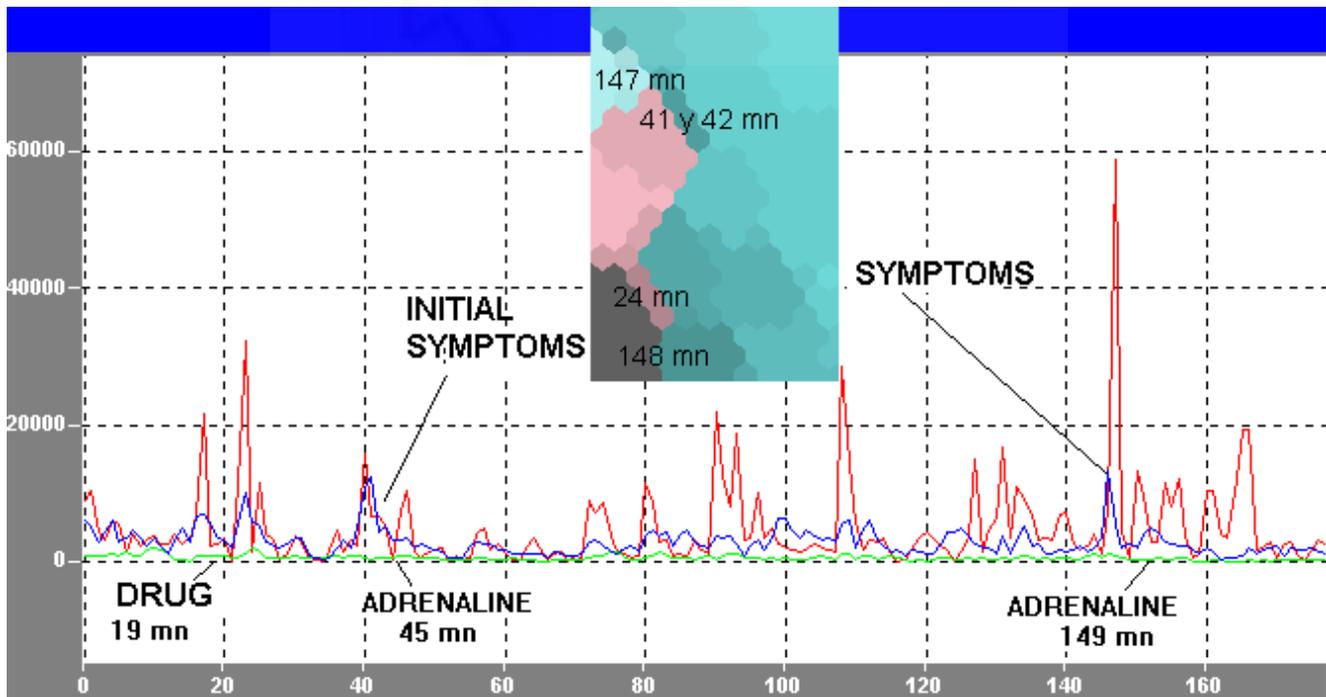
- Pico de baja frecuencia (VLF): Representa las variaciones cíclicas en el tono vasomotor periférico a expensas del SNA simpático.
- Pico de frecuencia media (LF): La respuesta de la frecuencia cardíaca secundaria al reflejo baroreceptor.
- Pico de frecuencia alta (HF): Fluctuaciones en la frecuencia respiratoria por el SNA parasimpático.

ANEXO 2:

VLF LF HF



Análisis del espectro de frecuencias en una provocación con placebo.



Análisis del espectro de frecuencias en una anafilaxia por diclofenaco.

## ANEXO 3:

### Calendario de visitas en el ensayo FIM-Pru 2018-01 sobre la efectividad del Slit-Prup3

ACTIVIDAD	CALENDARIO DE VISITAS PERIODO DE SELECCIÓN						
	V0-A	V0-B 5 días (± 2 días) desde V0-A	V0-C 5 días (± 2 días) desde V0-B	V0-D 5 días (± 2 días) desde V0-C	V0-E 5 días (± 2 días) desde V0-D	V0-F 5 días (± 2 días) desde V0-E	V0-G 5 días (± 2 días) desde V0-F
Consentimiento informado del estudio y biobanco							
Verificación inicial de criterios de inclusión/exclusión							
Historia clínica personal/familiar							
Prescripción de adrenalina auto-inyectable (de rescate)							
Medicación concomitante							
Exploración física: talla, peso Signos vitales: FC, PA, SatO2							
Pruebas funcionales respiratorias <sup>1</sup>							
Pruebas cutáneas con neuroalérgenos y alimentos según protocolo							
Muestra de orina <sup>2</sup> (Test de embarazo)							
Muestras para laboratorio general: Hemograma y Bioquímica general que incluya IgE y Triptasa basal							
Muestras del estudio: TAB (se analizará localmente) y estudios humorales y/o celulares (se enviará al biobanco) <sup>3</sup>							
TPNE (Olivo; Artemisia; Pru p 3) <sup>4</sup>							
PPDCCP <sup>5</sup>							
Acontecimientos adversos							

- Las pruebas de función respiratoria se realizarán con el espirómetro habitual utilizado en cada centro, esta prueba se realizará prioritariamente en pacientes con diagnóstico previo de asma. En los pacientes que no presenten asma se realizarán las pruebas de función respiratoria según el protocolo de actuación frente a la pandemia por Covid-19 de cada centro.
- Se realizará únicamente en mujeres en edad fértil y antes de las pruebas de TPNE y PPDCCP
- En la población infantil (< 14 años), sólo se realizarán los estudios humorales, no se realizarán estudio de basófilos ni estudios de subpoblaciones linfocitarias.
- Se realizará únicamente en adultos y según protocolo de actuación frente a COVID-19
- En adultos las pruebas de provocación oral se iniciarán con la prueba para melocotón. En el caso de pacientes pediátricos, se las pruebas de provocación oral se iniciarán con cacahuete.

ACTIVIDAD	CALENDARIO DE VISITAS									
	V1 como máximo a los 30 días desde V0-G	V2 30 días ± 5 días desde V1	V3 4 meses ± 5 días desde V2	V4-A <sup>2</sup> 6 meses ± 5 días desde V3 (fin de tratamiento)	V4-B 5 días (± 2 días) desde V4-A	V4-C 5 días (± 2 días) desde V4-B	V4-D 5 días (± 2 días) desde V4-C	V4-E 5 días (± 2 días) desde V4-D	V4-F 5 días (± 2 días) desde V4-E	V4-G 5 días (± 2 días) desde V4-F (fin de seguimiento)
Confirmación criterios de inclusión/exclusión										
Aleatorización										
Medicación concomitante										
Prescripción de adrenalina auto-inyectable si procede (de rescate)										
Exploración física (talla y peso) Signos vitales (FC, PA, SatO2)										
Pruebas funcionales respiratorias <sup>1</sup>										
Pruebas cutáneas con NA y alimentos según protocolo										
Muestra de orina (Test de embarazo)										
Muestras para laboratorio general: Hemograma y bioquímica general que incluya IgE y Triptasa <sup>2</sup>										
Muestras del estudio: TAB (se analizará localmente) y estudios humorales y/o celulares (se enviará al biobanco) <sup>3</sup>										
PPDCCP										
TPNE (Olivo; Artemisia; Pru p 3) <sup>4</sup>										
Administración de ITSL-Pru p 3 / Placebo										
Dispensación de ITSL-Pru p 3 / Placebo										
Adherencia al tratamiento										
Contabilidad medicación y registro devoluciones										
Entrega / Recogida de diario de síntomas										
Acontecimientos adversos										

- Las pruebas de función respiratoria se realizarán con el espirómetro habitual utilizado en cada centro, esta prueba se realizará prioritariamente en pacientes con diagnóstico previo de asma. En los pacientes que no presenten asma se realizarán las pruebas de función respiratoria según el protocolo de actuación frente a la pandemia por Covid-19 de cada centro.
- No se van a realizar estas pruebas en la población pediátrica durante la Visita 1
- En la población infantil (< 14 años), sólo se realizarán los estudios humorales, no se realizarán estudio de basófilos ni estudios de subpoblaciones linfocitarias.
- Se realizará únicamente en adultos y según protocolo de actuación frente a COVID-19.

ANEXO 4:

**Variables principales:**

	Respuesta a LTP	Respuesta a placebo	Valor de p
Reacción moderada (%)			
Reacción grave (%)			

	Respuesta a LTP	Respuesta a placebo	Valor de p
Intervalo RR (ms) tras ingesta: min 1			
Intervalo RR (ms) tras ingesta: min 2			
Intervalo RR (ms) tras ingesta: min 3			
Intervalo RR (ms) tras ingesta: min 4			
Intervalo RR (ms) tras ingesta: min 5			
Intervalo RR (ms) tras ingesta: min 6			
Intervalo RR (ms) tras ingesta: min 7			
Intervalo RR (ms) tras ingesta: min 8			
Intervalo RR (ms) tras ingesta: min 9			

Intervalo RR (ms) tras ingesta: min 10			
---	--	--	--

	Respuesta a LTP	Respuesta a placebo	Valor de p
Variación del intervalo RR significativa respecto al basal* (%)			
Aparición de angioedema (%)			
Aparición de urticaria (%)			
Nivel de triptasa (ng/ml)			

*\*Se considerará una variación significativa un cambio del RR del 10%.*

## ANEXO 5

### Escala visual analógica (EVA) utilizada en el ensayo FIM-PRU-2018-01:

**Escala visual analógica para los síntomas del síndrome de alergia oral durante test de  
provocación controlada a doble ciego con Pru p 3**

- Por favor indique la intensidad de sus síntomas **en este momento** realizando una marca vertical en la escala de abajo.
- El "0" corresponde a "no existencia de síntomas", y "10" corresponde al máximo de intensidad de síntomas.

01. Picor labios /oral

|\_\_\_\_\_|  
0 10

02. Picor en la lengua

|\_\_\_\_\_|  
0 10

03. Picor de garganta/oídos

|\_\_\_\_\_|  
0 10

04. Inflamación de labios (sensación)

|\_\_\_\_\_|  
0 10

05. Inflamación de lengua (sensación)

|\_\_\_\_\_|  
0 10

06. Opresión faríngea

|\_\_\_\_\_|  
0 10

07. Dificultad para tragar

|\_\_\_\_\_|  
0 10

