



MÁSTER
UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN
EN MEDICINA
CLÍNICA



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Título: FENOTIPOS ALÉRGICOS EN PACIENTES ADULTOS ATÓPICOS DE LA PROVINCIA DE ALICANTE, A LOS QUE SE LES HA REALIZADO LA DETERMINACIÓN DE ALERGENOS MOLECULARES POR IMMUNOCAP ISAC.

Alumno: María Pilar García Fernández-Rufete

Tutor: Ángel Esteban Rodríguez

Curso: 2018-2019

ÍNDICE:

✚ Aspectos preliminares:

- RESUMEN / PALABRAS CLAVE.
- ABSTRACT / KEYWORDS.

✚ Cuerpo del TFM:

- INTRODUCCIÓN. ESTADO ACTUAL DE LA CUESTIÓN.
- HIPÓTESIS.
- OBJETIVOS.
- MATERIAL Y MÉTODOS
 - Diseño.
 - Período de estudio
 - Selección de sujetos y tamaño de la muestra.
 - Intervención
 - Recogida y procesamiento de la información.
 - Análisis de datos.
 - Ética
 - Limitaciones
- RESULTADOS PREELIMINARES
- PLAN DE TRABAJO.
- APLICABILIDAD Y UTILIDAD DE RESULTADOS.
- PRESUPUESTO.

✚ Bibliografía.

✚ Anexos.

RESUMEN:

La alergia es uno de los principales problemas de salud de tipo crónico en países desarrollados y en vías de desarrollo. Las manifestaciones van desde rinitis, erupciones cutáneas, hasta reacciones anafilácticas y asma severo. El tratamiento puede consistir en el control de los síntomas con fármacos antihistamínicos, corticoides, inhaladores...hasta inmunoterapia en forma de vacuna para los casos más invalidantes. En las consultas de alergología se realizan los test cutáneos o Prick test que ponen de manifiesto la reacción alérgica a través de la inoculación de extractos sobre la piel que dan lugar a la aparición de eritema cutáneo. A nivel de laboratorio, se realiza la determinación de la IgE específica por medio de ImmunoCAP (ThermoFisher, USA) (métodos singleplex) o por métodos multicomponentes en formato de biochip, como es el caso de ImmunoCAP ISAC (ThermoFisher, USA).

Este trabajo es un estudio descriptivo retrospectivo, en el que se pretende estudiar el patrón, la proporción y los niveles de sensibilización de IgE específica frente a los principales alérgenos moleculares de pólenes, hongos y ácaros (aeroalérgenos), así como procesos de reactividad cruzada entre dichos alérgenos en pacientes de la provincia de Alicante. Para ello, se les había solicitado previamente el estudio molecular por parte de sus alergólogos.

La población de estudio serán pacientes que acudieron a las consultas de Alergología de los hospitales de la provincia (áreas de salud de Alicante, Elda, Elche, Orihuela, Villajoyosa-Benidorm, San Juan, Alcoy) entre los años 2012-2018 y a los que se realizó un estudio de alérgenos moleculares (prueba ImmunoCAP ISAC, Thermo Fisher, USA) en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario de Alicante, a demanda de los alergólogos.

Las variables del estudio serán las concentraciones de IgE específica frente a los principales alérgenos moleculares determinados en la prueba ISAC.

Las variables sociodemográficas serán la edad y el sexo, no habiéndose estudiado ninguna variable clínica relacionada.

Los resultados de las variables a estudio se informatizarán en una base de datos para su análisis estadístico.

PALABRAS CLAVE

Alergia, IgE específica, alérgenos moleculares, métodos multiplex.

ABSTRACT:

Allergic disease is one of the main health problems in developed and non-developed countries. The symptoms are rhinitis, cutaneous rash, but also anaphylactic shock and severe asthma. The treatment spread from controlling the symptoms with drugs to immunotherapy. Routinely, allergologists make cutaneous tests (Prick tests) to reveal allergic reactions on to the skin. Available laboratory tests are singleplex by the measurement of specific IgE, ImmunoCAP (ThermoFisher, USA) or those multiplex by biochip format, ImmunoCAP ISAC (ThermoFisher, USA).

The aim of the study is to describe the sensitization pattern, proportion and molecular allergen levels of pollen, fungi and house dust mite (HDM) which are the main components of airborne allergens, as well as cross-reactive allergens like LTPs (Lipids Transfer Proteins) and tropomyosins in patients from Alicante region. Previously, they had been requested to do the molecular study by their allergists.

The aim of this retrospective descriptive study is to describe subjects suffering from symptoms suggestive of allergy. They went to the laboratory of Hospital General Universitario de Alicante for serologic assessment requested by their allergists of their hospitals (Alicante, Elda, Elche, Orihuela, Villajoyosa-Benidorm, San Juan, and Alcoy) between 2012 and 2018. Thus, they were tested by ImmunoCAP ISAC (ThermoFisher, USA) at the Hospital General Universitario de Alicante.

Analytical Variables are specific IgE concentrations to major molecular allergens determined by ISAC test. Demographical variables are age and sex. Any clinical variable was tested.

KEYWORDS:

Allergy, specific IgE, molecular allergens, multiplex methods.

INTRODUCCIÓN. ESTADO ACTUAL DE LA CUESTIÓN.

Las reacciones de hipersensibilidad se producen cuando un mecanismo inmunitario causa una respuesta exagerada a ciertas sustancias que en condiciones normales no producen esa alteración y es capaz de lesionar los tejidos. Hay cuatro tipos de reacciones: las reacciones de tipo 1 (también conocidas como alérgicas o anafilácticas) se producen tras un segundo contacto con la partícula sensibilizante y dan lugar a la síntesis por parte de las células plasmáticas de IgE específica. Dicha IgE se une a receptores específicos en la membrana de mastocitos y basófilos, produciendo su degranulación y la liberación de sustancias como la histamina, leucotrienos y prostaglandinas. La llegada de estas moléculas al torrente sanguíneo produce vasodilatación y contrae el músculo liso. Después de varios contactos con el alérgeno, se produce además la activación de eosinófilos y células T, desencadenando la reacción alérgica. Los individuos que llevan a cabo estas reacciones se dice que son atópicos o alérgicos.

Por otro lado están las reacciones de tipo 2 o mediadas por complemento, de tipo 3 o mediadas por inmunocomplejos y tipo 4 o retardadas (inmunidad celular)(1)(2).

Epidemiología

Las enfermedades alérgicas están en aumento tanto en países en vías de desarrollo, como en los países más desarrollados. Se puede manifestar en forma de cuadro respiratorio (rinitis alérgica, rinosinusitis, asma y asma severa), cuadro oftalmológico como conjuntivitis alérgicas, cutáneo como eccema atópico, anafilaxis, urticaria y angioedema. Por otro lado están las alergias alimentarias, a insectos y a fármacos (3).

Los cuadros alérgicos de tipo respiratorio son de las manifestaciones más frecuentes y que muestran mayor persistencia a lo largo de la vida. Además, están muy extendidas a nivel mundial. La prevalencia se ha estimado entre un 2-25% en niños y de 1-40% en adultos, siendo en Europa de 17-28,5% (4).

Los signos más frecuentes son picor nasal, estornudos, rinorrea y congestión nasal y síntomas oculares como conjuntivitis, picor, ojos rojos y lagrimeo. También pueden manifestarse con tos, picor de paladar, goteo de nariz y asma (ésta última aparece en un

15-38% de pacientes).

Evolución de los métodos diagnósticos:

En la segunda mitad del siglo XIX, Charles Harrison Blackley, un médico inglés que sufría de rinitis alérgica, experimentó durante varios años consigo mismo y descubrió que, tras aplicar extractos de las sustancias alérgicas sobre la piel, se producía un eritema cutáneo, principio que, aunque actualmente modificado, fue la base para la realización de los actuales Prick test cutáneos. (5)

En el año 1920, los experimentos de Prausnitz y Küstner quisieron otorgar evidencia científica a la hipótesis de que los anticuerpos estaban involucrados en el establecimiento de las reacciones alérgicas. No fue hasta casi 50 años después que se logró poner de manifiesto esta premisa gracias a Ishizaka y col. En el mismo año, se realizó el primer ensayo radio-alergoabsorbente (RAST) por Wide, Johansson and Bennich; lo que permitió mejorar el diagnóstico de la alergia a través de la medida de IgE específica.

Con objeto de estandarizar la composición de los extractos, se ha logrado mejorar la calidad de los mismos con el paso de los años, pero sólo a partir del establecimiento de la tecnología ADN recombinante (año 1988-89), se ha logrado caracterizar la verdadera naturaleza molecular de los alérgenos. A principios del siglo XXI se desarrollaron los primeros arrays moleculares.

Esta nueva tecnología basada en CRD (Component Resolved Diagnosis) o test basados en moléculas (ya sean purificadas, recombinantes o sintéticas) ha revolucionado la Alergología en la era de la “Medicina de Precisión”. Se ha visto que son numerosas las aplicaciones de estas técnicas: mejoran la sensibilidad y especificidad analítica en cuanto

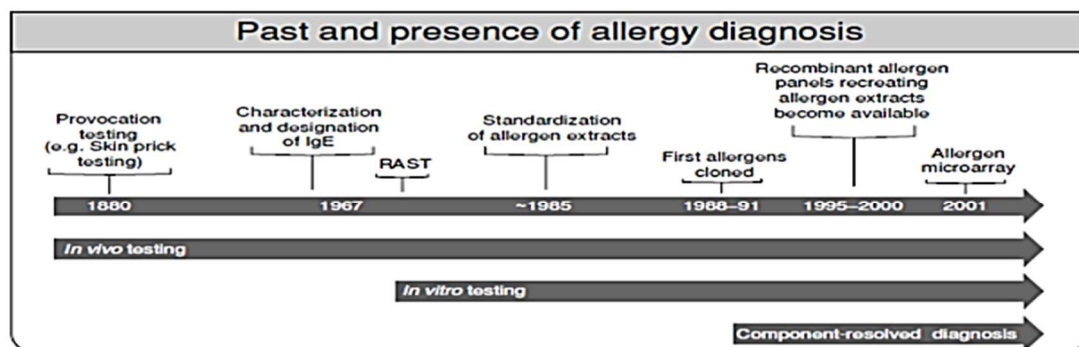


Fig. 1: Tomado de Harwanegg C, Laffer S, Hiller R, Mueller MW, Kraft D, Spitzauer S, et al. Microarrayed recombinant allergens for diagnosis of allergy. *Clinical and Experimental Allergy*. 2003.

a sensibilización primaria especie-específica, reactividad cruzada (*véase apartado de Reactividad Cruzada*). Además, dan una información más precisa, sobre todo en aquellos pacientes polisensibilizados (6). Son capaces de discernir entre marcadores de bajo riesgo de marcadores de alto riesgo y además, mejoran la inmunoterapia alérgica (AIT) mediante selección de los alérgenos específicos para cada tratamiento (7).

Aun así, todavía presentan varias desventajas: no se han logrado clonar todos los alérgenos, por lo que la lista está aún incompleta. Otro gran inconveniente es el precio: se considera que éste es aproximadamente un 10% más elevado para los test moleculares de un solo alérgeno, pero este incremento es mucho más acusado para los test multicomponentes o multiplex (arrays).

Por otro lado, las ventajas de los extractos son varias: son la herramienta básica de la que dependen los alergólogos en consulta, son muy sencillos de interpretar en comparación con los ensayos multiplex que requieren de un alergólogo experto y los extractos a menudo contienen más moléculas que podrían estar ausentes en los estudios moleculares y que podrían ser cruciales para el diagnóstico adecuado del paciente. Por último, los ensayos singleplex combinados (extractos y moleculares) dan un enfoque completo y más económico que el uso de los microarray, así como expresan una idea de la función biológica de los anticuerpos IgE y no sólo su presencia o ausencia.

Los extractos alérgicos también presentan una serie de desventajas, ya que: incluyen no sólo los alérgenos más importantes para el diagnóstico del paciente, sino también otros alérgenos minoritarios y sustancias interferentes. Además, es posible observar diferencias importantes en la fabricación dependiendo de los proveedores de los extractos. En un estudio realizado en Italia, se compararon diferentes extractos de ácaros del polvo proporcionados por 8 fabricantes distintos, por técnicas inmunoquímicas tales como ELISA, SDS-PAGE, inmunoblot, así como por Skin Prick Test, demostrando una gran heterogenicidad entre los mismos.(8)

En otro estudio de dos cohortes de Huang y col. se estudiaron los perfiles de reactividad al panel de 13 moléculas de *Dermatophagoides pteronyssinus*, un ácaro del polvo (House Dust Mite, HDM) de 26 y 27 pacientes alérgicos a ácaros del polvo usando para ello Immunocap ISAC, técnica molecular mediante biochip (ver más adelante). Se compararon los niveles de IgE específica a cada proteína con otros métodos: ELISA y

dot-blot, obteniendo muy buena correlación. Se comparó entonces el panel de HDM (de 6 alérgenos en vez de 13 por presentar la mayor relevancia en ambas cohortes), con ImmunoCAP con extractos alérgénicos. Los resultados obtenidos mostraron niveles de IgE específica considerablemente más elevados para la técnica molecular con ISAC que para aquella realizada a partir de extractos alérgénicos. Todo ello parece deberse a la escasa representación de algunos alérgenos en los extractos, a la existencia de proteínas no alérgicas presentes en los extractos con la misma capacidad de unión a la fase sólida, que desplazan la unión de los verdaderos alérgenos a dicha fase, o por acción de ambas. Esto parece tener importancia, teniendo en cuenta que se ha visto que los niveles de IgE específica podrían estar relacionados con mostrar sintomatología o, por el contrario, que el paciente esté sensibilizado de forma silente (9).

En otro estudio multicéntrico (10), se analizaron 10 extractos alérgénicos de *D. pteronyssinus* (*Der p1*, 2, 5, 7, 10 and 21) de diferentes fabricantes para comprobar su composición alérgica y contenido y si las variaciones en ambas podían interferir en la actividad alérgica. Se realizó la medida de IgE específica por medio de un panel de dot-blot en un panel de 10 alérgenos a 45 pacientes alérgicos a ácaros y se les realizó el Prick test. Por medio de un ELISA tipo sándwich se cuantificaron *Der p1* y *Der p2* en los extractos. Como resultados, observaron que sólo *Der p1* y *Der p2* estaban presentes en todos los extractos, pero entre ellos se observó gran variabilidad en cuanto a la concentración. Además, como mínimo uno de cada 4 alérgenos no fue detectado en 8 de los extractos estudiados. Por último, los sujetos mostraron diferentes perfiles de reactividad a los alérgenos de forma individual y los extractos mostraron diferente actividad alérgica en los test cutáneos, dando lugar a falsos negativos. Todo ello muestra de nuevo la gran heterogenicidad de los extractos y escasa o nula presencia que puede haber de varios alérgenos con relevancia clínica, lo que supondría un diagnóstico incompleto.

Lo ideal sería, por tanto, contar con ambas técnicas para un correcto diagnóstico y tratamiento de los pacientes y que además hubiese una concordancia muy buena entre ellas. En el cuadro de la **Fig. 3**, se muestran las discrepancias que podrían encontrarse al realizar ambos métodos.

Table 1

Discrepancies between allergen extract and allergen molecular IgE assay results

Extracts	Molecular	Explanations	
Absolute Disagreement (qualitative differences)			
A	positive	negative	a) serum IgE binds only to extract's molecules that are not (yet) available in molecular assays; b) molecular assays less analytically sensitive than the extract based assay
B	negative	positive	c) serum IgE binds to molecules tested as components which missing or of low abundance in the extract; d) extract assay less analytically sensitive than the molecular assay
Relative Disagreement (quantitative differences)			
C	positive	negative to major components	serum IgE binds only to highly cross reactive, minor allergenic molecules or CCD determinants
D	lower levels	higher levels	serum IgE binds to molecules tested as components being of low abundance in the extract

Fig. 2: Tomado de Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, et al. EAACI Molecular Allergology User's Guide. Pediatr Allergy Immunol. 2016;

Dentro de los métodos moleculares hay dos versiones, que se describen a continuación:

Tipos de métodos moleculares

Por un lado, tenemos los métodos singleplex (un solo alérgeno cada vez) como el ImmunoCAP, o multiplex (varios alérgenos de una vez) por tecnología de biochip (ImmunoCAP ISAC). A continuación, se describirán brevemente cada una de las técnicas realizadas.

1. ImmunoCAP:

El autoanalizador es Phadia 250, que utiliza la metodología de fluoroinmunoanálisis.



Fig 3: Equipo Phadia 250 para la medida de IgE, IgG e IgG4 específicas a los alérgenos, triptasa y PCE.

PHADIA 250 utiliza dos tipos de fases sólidas, ImmunoCAP y EliA Wells (pocillos) para la medición de los analitos (EliA Wells se utiliza únicamente para la medida de IgG específica y anti- péptido cítrico citrulinado, por lo que en adelante nos referiremos únicamente a ImmunoCAP).

- Los reactivos de ImmunoCAP son portadores flexibles (derivados de celulosa activados) de polímero hidrófilo introducidos en una cápsula. Al portador se unen los diversos alérgenos.

- Mediante esta técnica se realizan en el laboratorio del Hospital General de Alicante también las determinaciones de IgE, IgG e IgG4 específicas a los alérgenos, la medida de las proteínas triptasa y catiónica del eosinófilo (PCE).

- El principio del método ImmunoCAP es el siguiente:

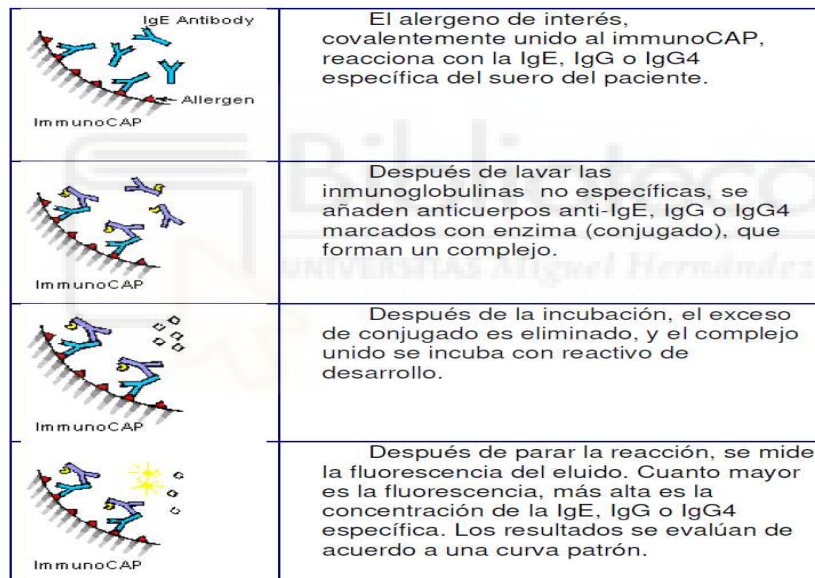


Fig 4: Esquema general del método ImmunoCAP

2. ImmunoCAP ISAC

ImmunoCAP ISAC es un inmunoensayo in vitro en fase sólida en formato de microarray (biochip) para la determinar de forma semicuantitativa los anticuerpos antiIgE específicos en suero o plasma humano. Esta técnica es capaz de identificar el patrón de sensibilización frente a componentes alérgénicos específicos y de reactividad cruzada del paciente alérgico.

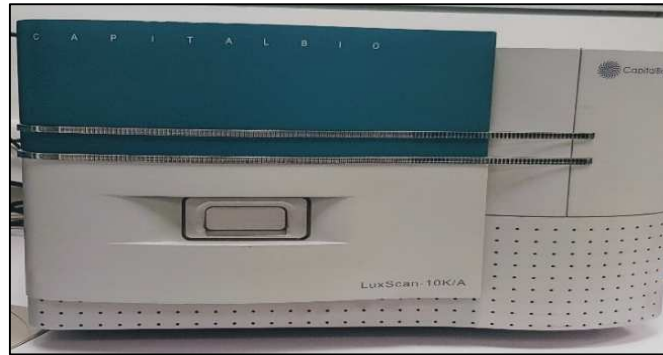


Fig 5: Equipo Capital BIO para la técnica ImmunoCAP ISAC.

Permite la medida simultánea en un solo test y con pocos μL de suero o plasma, de anticuerpos específicos frente a múltiples componentes alérgicos. El chip IgE específico proporciona resultados para más de un centenar de componentes de más de 50 alérgenos (ver *Anexo I*):

- ImmunoCAP ISAC™ es un inmunoensayo de fase sólida en el que los componentes alérgenos que están inmovilizados en un sustrato sólido en formato de microarray, se incuban con muestras de suero o plasma humano para detectar anticuerpos IgE específicos.
- La unión de los anticuerpos IgE específicos a los componentes alérgenos inmovilizados se detecta añadiendo un anticuerpo anti-IgE humano marcado mediante fluorescencia secundaria.
- El proceso sigue con la adquisición de imágenes utilizando un escáner de fluorescencia para microarray, el LuxScan (CapitalBioCorporation). Se determinan las **unidades estándar ISAC** para IgE específico (**ISU**).
- Los resultados son determinados mediante el software MIA (microarray image analysis software).

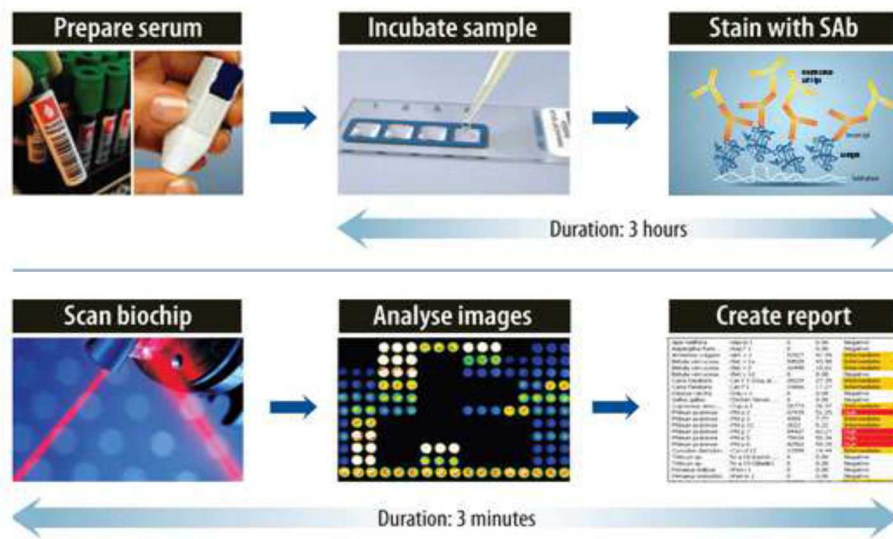


Fig 6: Esquema general de la metodología ImmunoCAP ISAC™

En la bibliografía se han encontrado varios estudios comparando ambas técnicas:

En un estudio multicéntrico realizado en España en el año 2016 se estudió la IgE específica a varios pólenes de árboles y gramíneas de 390 pacientes de 13 clínicas repartidas en 10 provincias diferentes que eran alérgicos al polen, con objeto de determinar la exactitud diagnóstica del ImmunoCAP ISAC 112 en la medida de la IgE para la alergia al polen de diversos grupos y comprobar su utilidad clínica en la población de la Península Ibérica. Se vio que la sensibilidad oscilaba entre 68,2% (plátano de sombra) y 93,9% (polen de gramíneas). La especificidad fue superior al 90% en todos los casos. El AUC para el plátano de sombra fue buena (0,798), para el resto de pólenes fue muy buena ($>0,876$). La eficacia diagnóstica de ambos métodos fue similar para los alérgenos mayores de cada grupo, por lo que se llegó a la conclusión de que el ISAC 112 *“es una herramienta exacta para el diagnóstico de la alergia al polen de gramíneas, ciprés, olivo, plátano de sombra, y parietaria con prestaciones similares o superiores (plátano de sombra) a las de ImmunoCAP”*. (12)

En un estudio similar realizado en Alemania (11), se compararon muestras de suero de 101 pacientes alérgicos al polen de gramíneas por ambos métodos, obteniendo coeficientes de correlación que oscilaban entre $r=0,78$ para el *Phl p12* hasta $r=0,96$ para *Phl p2*, concluyendo también en una muy buena correlación observada entre la técnica de ISAC 112 e ImmunoCAP.

En una revisión realizada en el año 2016 por *Patelis et cols.*(13) sobre el uso del ISAC 112 para el diagnóstico y tratamiento de los pacientes atópicos, se objetivaron varias premisas:

- Un perfil de positividades IgE detallado ayuda a establecer la heterogeneidad de sensibilizaciones especie-específicas y reacciones cruzadas. Esto es importante para la inmunoterapia, por ejemplo: en un tratamiento cuya diana es **Bet v1** para individuos que no expresan sensibilización a ese alérgeno mayor del abedul, pero sí a otros alérgenos del árbol. Por ello, los test moleculares por biochip ayudan a mejorar la inmunoterapia con extractos a través de la identificación de la fuente primaria de sensibilización.
- En algunas regiones, la presencia de diferentes especies vegetales ocasiona la superposición de las temporadas de polinización y es aquí donde puede ser útil para las reacciones cruzadas en pacientes polisensibilizados. Permite también predecir futuras reacciones alérgicas, ya que las sensibilizaciones a alimentos van de la mano en muchos pacientes con alergia a pólenes, lo que se ha visto en un estudio realizado en Italia con pacientes con síntomas respiratorios y polisensibilizados donde el 58% mostró Ig E positiva a alérgenos alimentarios y más de un 50% a LTPs (Lipids Transfer Proteins).
- Se ha visto que además ayuda a predecir futuras atopias (en un estudio con niños suizos).
- La inmunoterapia (IT) basada en alérgenos recombinantes es efectiva, pero no superior a la IT tradicional basada en extractos, aunque componentes específicos y de reactividad cruzada en el ISAC pueden ayudar a identificar verdaderas co/multi sensibilizaciones y mejorar las prescripciones (en dos áreas de España el estudio mediante ISAC dio lugar a un 50% de cambios en las prescripciones).
- Además, la medida de la IgE específica ayuda a determinar la eficacia de los tratamientos actuando en la monitorización, ya que la disminución de los niveles de este anticuerpo da lugar al aumento de la IgG4, lo que parece correlacionar con la eficacia de la IT (aunque se ha visto que esto no siempre es cierto).
- El estudio concluye que ISAC es útil en el estudio de la alergia principalmente en pacientes con sintomatología compleja o polisensibilizados.

Algunos conceptos importantes para el estudio de la alergia:

Los alérgenos pueden clasificarse como **alérgenos mayores** si son reconocidos por más del 50% de pacientes alérgicos a una fuente alérgica concreta o como **alérgenos menores** si por el contrario son reconocidos por menos del 50% de pacientes alérgicos a esa fuente. Por otro lado, está el concepto de reactividad cruzada y panalérgeno: Reactividad cruzada se define como: “la presencia de manifestaciones clínicas alérgicas como consecuencia de la existencia de una reactividad frente a una fuente proteica específica, sin que haya mediado una exposición previa a la misma”(15). Depende principalmente de tres factores: 1) La respuesta inmune del individuo, 2) el tipo y la intensidad de la exposición, 3) la naturaleza del alérgeno, ya que es necesario al menos un 70% de similitud estructural entre las proteínas implicadas. Se puso de manifiesto en los años 70 a partir de los experimentos de inhibición RAST (radioalergoabsorbentes).(14) Panalérgenos son los alérgenos que dan lugar al fenómeno de la reactividad cruzada.

Así, se han descrito varias asociaciones entre sensibilización a pólenes diversos y frutas:

- Polen de Abedul-frutas/vegetales diversos (manzana, pera, cereza, melocotón, albaricoque, ciruela, kiwi, frutos secos, apio, zanahoria, soja, patata).
- Polen de Gramíneas y frutas (manzana, tomate, melocotón, cacahuètes).
- Polen de Artemisia y vegetales (zanahoria, apio, especies).
- Polen de Ambrosia y plátano, sandía.
- Polen de Plátano y frutas (avellana, melocotón, manzana, melón, cacahuètes, etc.).
- Polen de Olivo y frutas (melocotón, pera, kiwi, melón, frutos secos).
- También se han analizado las reacciones cruzadas existentes entre alérgenos de ácaros y otros invertebrados no relacionados taxonómicamente, pero que comparten una proteína común: la tropomiosina.

Por todo lo descrito anteriormente, por su elevada prevalencia e importancia para los sistemas de salud y los escasos estudios en la zona a este respecto, nos ha parecido importante estudiar en profundidad los componentes aeroalérgenos y las proteínas causantes de reactividad cruzada (tropomiosinas y LTPs).

1. COMPONENTES AEROALÉRGENOS:

1.1 POLEN DE GRAMÍNEAS:

1.1.1 GRAMA MAYOR: *Cynodon dactylon*.

-Alérgeno mayor: *Cyn d1* (gramínea grupo 1 de la Grama Mayor).

Glicoproteína con función beta- expansina del grupo 1. La grama se utiliza con mucha frecuencia para el establecimiento de céspedes recreativos.



1.1.2 HIERBA TIMOTEA: *Phleum pratense*

-Alérgenos estudiados: Gramínea grupo 1 (*Phl p1*), Gramínea grupo 2 (*Phl p2*): Enzima cortadora de berberina (*Phl p4*), Gramínea grupo (*Phl p5*), Gramínea grupo 6 (*Phl p6*), Proteína relacionada con *Ole e1* (*Phl p11*).



1.2 POLEN DE ÁRBOLES:

1.2.1 ABEDUL: *Betula verrucosa*

-Alérgeno estudiado: *Bet v1*, una proteína PR-10 (Pathogenesis-related-protein grupo 10), un alérgeno causante de procesos de reactividad cruzada, que defiende a las plantas de hongos y otros microorganismos. El abedul posee varios alérgenos implicados en procesos de reactividad cruzada (varias prot. PR-10). Es responsable de la mayoría de las alergias respiratorias de invierno/primavera en el Norte y Centro europeos.



1.2.2 CEDRO DEL JAPON: *Cryptomeria japonica*

-Alérgeno estudiado: *Cry j1* proteína de tipo pectato liasa. Gran presencia en Japón.



1.2.3 CIPRÉS: *Cupressus arizonica*

-Alérgeno estudiado: *Cup a1*, proteína de tipo pectato liasa.

El ciprés produce polinosis en áreas mediterráneas de Francia, Italia, Israel y España.



1.2.4 POLEN DE OLIVO: *Olea europaea*

-Alérgenos estudiados: *Ole e1* (alérgeno del olivo común grupo 1) y *Ole e9* (1,3-betaglucanasa). La variedad cultivada de olivo ocupa el 14 % de la superficie cultivada en la Comunidad Valenciana.



1.2.5 PLÁTANO DE SOMBRA: *Platanus acerifolia*

-Alérgenos estudiados: *Pla a1* (Inhibidor putativo de la invertasa), *Pla a2* (Poligaracturonasa). La polinización se caracteriza por ser corta, pero muy intensa, llegando en muy pocos días a unos niveles elevados de polen.



1.3 POLEN DE MALEZAS:

1.3.1 AMBROSÍA: *Ambrosia artemisiifolia*

-Alérgeno estudiado: *Amb a1* (Pectato liasa). Son abundantes en Norteamérica.



1.3.2 ARTEMISA: *Artemisia vulgaris*



- Alérgeno estudiado: *Art v1* (proteína defensina-like). Se puede encontrar en Europa, partes de Asia y Norteamérica.

1.3.3 CHENOPODIUM: *Chenopodium album*

- Alérgeno estudiado: *Che a1* (proteína *Ole e1*- like). Podemos encontrarlo en cualquier zona templada del planeta y zonas subtropicales.



1.3.4 PARIETARIA: *Parietaria judaica*

- Alérgeno estudiado: *Par j2* (proteína de transferencia de lípidos no específica). Es una de las principales causas de alergia al polen en la cuenca del Mediterráneo.



1.3.5 PLANTAGO: *Plantago lanceolata*.

- Alérgeno estudiado: *Pla II* (proteína *Ole e1*- like. Se distribuye por todo el mundo, pero es nativo de Europa.



1.3.6 SALSOLA: *Salsola kali*

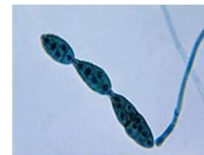
- Alérgeno estudiado: *Sal k1* (familia pectina metilesterasas). Se distribuye ampliamente por Europa, principalmente en áreas costeras.



1.4 HONGOS:

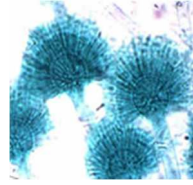
1.4.1 ALTERNARIA: *Alternaria alternata*

- Alérgenos estudiados: *Alt a1* (glicoproteína ácida), *Alt a6* (enolasa).



1.4.2 ASPERGILLUM:

- Alérgenos estudiados: *Asp f1* (mitogilina), *Asp f3* (proteína peroxisomal), *Asp f6* (superóxido Mn dismutasa).



1.4.3 CLADOSPORIUM:

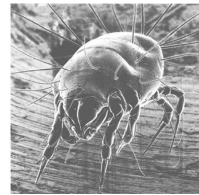
- Alérgeno estudiado: *Cla h8* (manitol deshidrogenasa).



1.5 ÁCAROS:

1.5.1 B. TROPICALIS

- Alérgeno estudiado: *Blo t5. Blomia tropicalis* es un ácaro de almacenamiento y la fuente alérgica a ácaros más importante en países tropicales. En España es abundante en Canarias, citada en Cataluña y Andalucía.



1.5.2 D. FARINAE

- Alérgenos estudiados: *Der f1* y *Der f2*. Este ácaro es muy común en zonas secas y comparte características morfológicas con *D. pteronyssinus*. Aparece junto con *B. tropicalis* en zonas tropicales y subtropicales como una fuente mayor de alérgenos. Es muy abundante en Norteamérica.



1.4.1 D. PTERONYSSINUS

- Alérgenos estudiados: *Der p1* y *Der p2*. Es la fuente alérgica más importante dentro del grupo de los ácaros y se distribuye prácticamente por todo el mundo.



1.4.1 L. DESTRUCTOR

- Alérgenos estudiados: *Lep d2*. Este ácaro puede ser localizado en zonas donde hay plantas o comida de animales procesados y/o almacenados y con altos niveles de humedad (entre 65-100%) y una temperatura de entre 20-30°C.



2. COMPONENTES MARCADORES DE REACTIVIDAD CRUZADA:

2.1 TROPOMIOSINAS:

Son proteínas altamente conservadas en todo el reino animal. En los invertebrados dan lugar a reacciones alérgicas al marisco, HDM y cucarachas y también inducen reactividad IgE en infecciones por nematodos (Anisakis). Debido a su reactividad cruzada, son consideradas panalérgenos. Se han descrito alrededor de 40. Las tropomiosinas de vertebrados no causan reacciones alérgicas.

2.1.1 ANISAKIS: *Anisakis simplex*



-Alérgenos estudiados: Tropomiosina *Ani s3*. El anisakis simplex es un gusano nematodo parásito de muchos pescados. El hombre puede actuar como huésped accidental de la larva, padeciendo la enfermedad (anisakiasis), asociada con la ingesta de pescado crudo (salazón, ahumado, en vinagre) o poco cocinado. Tras la ingestión se pueden producir reacciones alérgicas agudas, con manifestaciones en forma de urticaria/angioedema o tipo anafilaxia.

2.1.2 CUCARACHA: *Blattodea spp.*



- Alérgenos estudiados: Tropomiosina *Bla g7*

2.1.3 D. PTERONYSSINUS

- Alérgeno estudiado: *Der p10*.

2.1.4 GAMBA: *Penaeus spp.*

- Alérgeno estudiado: *Pen m1*



2.2 LTPs:

Son proteínas transportadoras de lípidos no específicas (Non-specific lipid transfer proteins), los alérgenos más frecuentemente involucrados en reacciones alérgicas a alimentos en la población adulta del Mediterráneo. La primera en ser identificada como tal, fue la proteína *Pru p3* del melocotón. Ésta contiene un dominio altamente conservado de 8 residuos de Cys, que es característico de la superfamilia de las prolaminas (que incluye inhibidores de la alfa amilasa, albuminas 2S y LTPs). En su estructura forma una red de 4 puentes disulfuro que hace a la proteína resistente a los cambios de pH y las altas temperaturas. Las LTPs se encuentran ampliamente distribuidas por toda la planta y parece que están involucradas en la defensa contra infecciones bacterianas y fúngicas. Así, las de mayor relevancia clínica se han descrito en pólenes y en alimentos.

2.2.1 CACAHUETE: *Arachis hypogaea*.

-Alérgeno estudiado: *Ara h9*

2.2.2 AVELLANA: *Corylus avellana*.

-Alérgeno estudiado: *Cor a8*

2.2.3 NUEZ: *Juglans regia*.

-Alérgeno estudiado: *Jug r3*

2.2.4 MELOCOTÓN: *Prunus persica*.

-Alérgeno estudiado: *Pru p3*.

2.2.5 TRIGO: *Triticum*.

-Alérgeno estudiado: *Tri a14*

2.2.6 ARTEMISA: *Artemisia vulgaris*

-Alérgeno estudiado: *Art v3*

2.2.7 POLEN DE OLIVO: *Olea europaea*

-Alérgeno estudiado: *Ole e7*

2.2.8 PLÁTANO DE SOMBRA:

-Alérgeno estudiado: *Pla a3*

HIPÓTESIS:

Las enfermedades alérgicas afectan a un gran número de individuos, que además afrontan un empeoramiento de las manifestaciones clínicas en ciertas fases de su vida. Por lo tanto, existe una necesidad de mejorar el cuidado de estos pacientes a través de una mejor comprensión de la enfermedad alérgica.

Actualmente, los alérgenos moleculares se han convertido en una potente herramienta para el estudio de los patrones de sensibilización. Su determinación se realiza en el suero de los pacientes, a través de una prueba, el ImmunoCap ISAC, en la que se determina la IgE específica frente a 112 alérgenos moleculares.

Por ello, creemos importante realizar un estudio descriptivo que permita identificar los patrones de alérgenos moleculares en la provincia de Alicante. Todo ello orientado a mejorar el tratamiento con inmunoterapia específica de los pacientes alérgicos y con ello, su calidad de vida, con una consecuente mejora del uso de los recursos hospitalarios.

OBJETIVOS:

Estudiar el patrón, la proporción y los niveles de sensibilización de IgE específica frente a los principales alérgenos moleculares de pólenes, hongos y ácaros (aeroalérgenos), así como procesos de reactividad cruzada entre dichos alérgenos en pacientes de la provincia de Alicante. Para ello, se les había solicitado previamente el estudio molecular por parte de sus alergólogos.

MATERIAL Y MÉTODOS:

- Diseño del estudio:

Se trata de un estudio descriptivo transversal retrospectivo.

- Período de estudio:

Julio 2012 a diciembre 2018.

- Selección de sujetos y tamaño de la muestra:

Pacientes adultos que acudan a las consultas de Alergología de los hospitales de la provincia (Alicante, Orihuela, Elche, Alcoy, Elda, San Juan, Villajoyosa- Benidorm) a los que se les solicite el estudio de alérgenos moleculares por ImmunoCAP ISAC. La prueba se realizó en el laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario de Alicante en la Sección de Autoinmunidad y Alergia.

Los criterios de inclusión serán demográficos: pacientes hombres y mujeres adultos (edad ≥ 17 años), geográficas (provincia de Alicante), temporales (julio 2012 a diciembre 2018) y clínicos (prueba de ISAC solicitada por manifestaciones clínicas de alergia).

Los criterios de exclusión son: pacientes con edades < 17 años.

El número de pacientes estudiados, que cumplen dichos criterios, es de 1529, según se recoge en la base de datos de ImmunoCAP ISAC del Laboratorio del Hospital de Alicante.

- Intervención:

Se midieron las concentraciones de IgE específica frente a los principales alérgenos moleculares determinados en la prueba ISAC. Se utilizarán las unidades ISAC (Standardized Units, ISU), con rangos que van de 0-100 ISU. Resultados positivos en términos de sensibilización fueron definidos como valores $>0,3$ ISU, de acuerdo a las instrucciones del fabricante. *Variables sociodemográficas*: edad y sexo. No se estudió ninguna variable clínica relacionada.

- Recogida y procesamiento de la información:

Los pacientes que cumplan los criterios de inclusión constituirán nuestro tamaño muestral. Se extraerán del software propio del equipo: software MIA (*microarray image analysis*) los resultados de las muestras de los pacientes que llegaron al laboratorio del Hospital General de Alicante y a los que se les realizó el ISAC en el período de tiempo anteriormente descrito.

- Análisis de los datos:

Los resultados de las determinaciones de laboratorio se informatizarán en una base de datos para su análisis estadístico. Utilizaremos el paquete estadístico IBM© SPSS Statistics Versión 25.

- Limitaciones:

La principal limitación es el tipo de diseño (retrospectivo, de un solo grupo), con sus conocidos inconvenientes de los estudios pre-post sin grupo control: muestran eventos y observaciones en un momento determinado, en una población determinada, en este caso en pacientes alérgicos de la provincia de Alicante. Son muy útiles como estudios iniciales para clasificar aspectos de una enfermedad. También pueden describir asociaciones entre variables, pero no permiten establecer un vínculo “causa-efecto” entre ellas. Sirven para establecer prevalencia, pero como la observación se realiza en un momento dado determinado no es posible calcular incidencia con los datos que derivan de estos. En ella veremos múltiples asociaciones sin poder saber cuál de las variables “asociadas” es causa o consecuencia de la otra.

Por otro lado, estos estudios son especialmente susceptibles a ciertos sesgos. Esto es, ante una situación en la que una variable que parece la causa de un evento sea en realidad una consecuencia de este, o solo que estén asociadas. Esto puede ocurrir cuando un factor de riesgo está fuertemente asociado con una enfermedad y se cree que su aparición es previa a la aparición de esta; pero, sin embargo, en realidad solo afecta la duración o el pronóstico de la misma.

Una segunda limitación que podríamos encontrar es que no se han asociado variables clínicas al estudio, con lo que no puede conocer si esto influye o no en los resultados encontrados y en qué medida.

✚ RESULTADOS PREELIMINARES

El presente estudio es de tipo retrospectivo incluyendo 1529 pacientes adultos con un 36,6% (559) hombres y un 63,4% (970) mujeres, de edades comprendidas entre 17,5 y 92 años, a los que se les solicitó por sus alergólogos la determinación de alérgenos moleculares por el método de biochip de ImmunoCAP ISAC de Thermo Fisher™. El período de estudio abarca desde julio de 2012 a diciembre de 2018. La prueba se realizó en el laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario de Alicante en la Sección de Autoinmunidad y Alergia.

La media de edad: 37,40 años, mediana: 35,81 años y moda 31,94 años. P25: 27,07 años p75: 45,49 años.

El grueso de los pacientes analizados (83,2%) de edades inferiores a 50 años. (**Fig.7**)

Un 84,2% de pacientes (1288) tuvieron al menos un resultado positivo de entre las pruebas estudiadas (>0,3 ISU) en el ISAC.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
EIDADES	17-30 años	516	33,7	33,7
	30-50 años	756	49,4	83,2
	50-70 años	223	14,6	97,8
	>70 años	34	2,2	100,0
	Total	1529	100,0	

Fig.7: Distribución de la población de estudio por grupos de edad.

Para el grupo de pólenes de gramíneas:

En cuanto al grupo de gramíneas, en la siguiente figura se muestra la proporción de pacientes con IgE específica positiva (>0,3 ISU) a los diversos alérgenos moleculares de este grupo.

POLEN GRAMINEAS	IgE+	N%	N
Gramma mayor	<i>Cyn d1</i>	28	428
Hierba timotea (Phleum)	<i>Phlp1</i>	31,5	481
	<i>Phlp2</i>	9,2	141
	<i>Phlp4</i>	16,9	259
	<i>Phlp5</i>	12,2	186
	<i>Phlp6</i>	6,1	93
	<i>Phlp11</i>	4	61

Fig.8: Pacientes con IgE positiva frente a alérgenos del grupo de gramíneas

En el presente estudio y en concordancia con la literatura (6), **se ha encontrado la mayor prevalencia del *Phl p1* en cuanto al grupo de alérgenos de la hierba timotea y al grupo de gramíneas: un 31,5% (481)** de pacientes con IgE positiva a esta proteína. Este alérgeno es un alérgeno mayor de sensibilización, una β expansina que posee más de un 80% de homología con el grupo 1 de alérgenos de otras familias de gramíneas (grupo *Pooideae*), mostrando reactividad cruzada con la mayoría de alérgenos del grupo 1 de las mismas.

Además, es el componente de sensibilización más prevalente en individuos alérgicos al polen de gramíneas.

Se realizó también la matriz de correlaciones entre los alérgenos del grupo, tal y como se muestra en la siguiente tabla:

Correlación de Pearson (r) grupo gramíneas							
	<i>Cyn d 1</i>	<i>Phl p 1</i>	<i>Phl p 2</i>	<i>Phl p 4</i>	<i>Phl p 5</i>	<i>Phl p 6</i>	<i>Phl p 11</i>
<i>r Cyn d 1</i>	1	0,755	0,407	0,431	0,393	0,157	0,286
<i>r Phl p 1</i>	0,755	1	0,452	0,354	0,431	0,160	0,153
<i>r Phl p 2</i>	0,407	0,452	1	0,216	0,368	0,117	0,165
<i>r Phl p 4</i>	0,431	0,354	0,216	1	0,405	0,312	0,269
<i>r Phl p 5</i>	0,393	0,431	0,368	0,405	1	0,717	0,478
<i>r Phl p 6</i>	0,157	0,160	0,117	0,312	0,717	1	0,446
<i>r Phl p 11</i>	0,286	0,153	0,165	0,269	0,478	0,446	1

Las correlaciones más altas fueron encontradas entre *Cyn d1* y *Phl p1*, y entre *Phl p5* y *Phl p6*.

Se estudió la distribución de sensibilización por sexos para el alérgeno más sensibilizante, *Phl p1*, encontrando que, de los 481 pacientes positivos, un 35,2% de los hombres (197) presentaron positividad frente a un 29,3% de mujeres (284).

Se ha estudiado si existen diferencias estadísticamente significativas para el alérgeno más sensibilizante, el *Phl p1*, en cuanto al sexo según la t de Student para muestras independientes. Se ha encontrado que sí que hay diferencias en cuanto al sexo, sin embargo estos resultados no se pueden explicar con los datos que poseemos, pero se podrían realizar estudios posteriores que lo determinen:

sexo		Media (ISU)	SD	Sig. (bilateral)
<i>Phl p 1</i>	Hombres	4,458	13,186	0,024
	Mujeres	3,053	10,753	

Para el grupo de pólenes de árboles:

Se ha encontrado la siguiente proporción de pacientes con IgE específica positiva (>0,3 ISU) para los alérgenos del grupo:

POLEN ARBOLES	IgE+	N%	N
Abedul	<i>Bet v1</i>	2	30
Cedro del japon	<i>Cry j1</i>	21,8	334
Ciprés	<i>Cup a1</i>	32	489
Olivo	<i>Ole e1</i>	48,7	744
	<i>Ole e9</i>	4,8	73
Plátano de sombra	<i>Pla a1</i>	0,8	12
	<i>Pla a2</i>	13,9	212

Fig.9: Pacientes con IgE positiva frente a alérgenos del grupo de pólenes de árboles

Se encontró que un **48,7%** de los pacientes (**744**) fueron positivos a *Ole e1*, frente a un **4,8%** (73) que fueron positivos a *Ole e9* del mismo polen.

La alergia al polen de olivo es causada en hasta un 70% de casos por **Ole e1**. En pacientes con alergia al olivo, es más frecuente encontrar polisensibilización que monosensibilización. Además, esta molécula comparte hasta un 82,6% de secuencia aminoacídica con otros árboles que pertenecen a la misma familia, así como reactividad cruzada IgE. Muchas moléculas *Ole e1*-like han sido identificadas en *Chenopodium* (**Che a1**), hierba timotea (**Phl p11**), *Salsola*, etc.(6)

Se estudió la matriz de correlaciones entre las proteínas del grupo de polen de árboles:

Correlación de Pearson (r) grupo árboles							
	<i>Bet v 1</i>	<i>Cry j 1</i>	<i>Cup a 1</i>	<i>Ole e 1</i>	<i>Ole e 9</i>	<i>Pla a 1</i>	<i>Pla a 2</i>
<i>r Bet v 1</i>	1	0,012	0,018	0,009	-0,002	-0,006	0,049
<i>r Cry j 1</i>	0,012	1	0,780	0,183	0,053	0,001	0,242
<i>r Cup a 1</i>	0,018	0,780	1	0,255	0,045	0,011	0,244
<i>r Ole e 1</i>	0,009	0,183	0,255	1	0,320	0,001	0,164
<i>r Ole e 9</i>	-0,002	0,053	0,045	0,320	1	0,000	0,020
<i>r Pla a 1</i>	-0,006	0,001	0,011	0,001	0,000	1	0,105
<i>r Pla a 2</i>	0,049	0,242	0,244	0,164	0,020	0,105	1

Se observó reactividad cruzada con una $r=0,780$ y significación estadística $p<0,01$ entre las dos proteínas pectato liasa del cedro (*Cry j1*) y el ciprés (*Cup a1*).

Se estudió la distribución de sensibilización por sexos para el alérgeno más sensibilizante, el **Ole e1**, encontrando que, de los 744 pacientes positivos, un 50,3% de hombres (281) presentaron positividad al alérgeno del olivo: **Ole e1** (proteína olivo grupo 5) frente a un 47,7% (744) de mujeres.

No se han encontrado diferencias significativas en cuanto al sexo para el **Ole e1** según la t de Student:

	sexo	Media (ISU)	SD (ISU)	Sig. (bilateral)
<i>Ole e 1</i>	Hombres	5,18	15,047	0,347
	Mujeres	4,50	12,670	

Para el grupo de pólenes de malezas:

POLEN MALEZAS	IgE+	N%	N
Ambrosía	<i>Amb a1</i>	0,5	8
Artemisia	<i>Art v1</i>	7,8	119
Chenopodium	<i>Che a1</i>	10,1	154
Parietaria	<i>Par j2</i>	6	92
Plantago	<i>Pla l1</i>	3	46
Salsola	<i>Sal k1</i>	40	611

Fig.10: Pacientes con IgE positiva frente a alérgenos del grupo de pólenes de malezas

La mayor sensibilización para el polen de malezas se encontró para la *Salsola* entre todos los alérgenos del grupo tal y como cabía esperar para la zona geográfica en la que nos encontramos, ya que en áreas secas del sudeste (provincias de Alicante y Murcia), los niveles del polen de la familia *Amaranthaceae* son elevados de abril a octubre; alrededor del 40% de pacientes alérgicos que presentan síntomas al final del verano son sensibles a estos pólenes. En España, el polen de *Salsola* junto con el de olivo y hierbas como la hierba timotea son la principal causa de sensibilización (para *S. kali* y *C. album*)(19).

Se realizó la matriz de correlaciones y **no se observó reactividad cruzada entre las proteínas del grupo, a pesar de lo encontrado en la literatura** (alto nivel de reactividad cruzada observada entre diferentes miembros de especies *Ambrosia* y *Artemisia*).

Correlación de Pearson (r) grupo malezas						
	<i>Amb a 1</i>	<i>Art v 1</i>	<i>Che a 1</i>	<i>Par j 2</i>	<i>Pla l 1</i>	<i>Sal k 1</i>
<i>r Amb a 1</i>	1	0,021	-0,004	-0,004	-0,001	-0,016
<i>r Art v 1</i>	0,021	1	-0,021	0,067	0,013	0,135
<i>r Che a 1</i>	-0,004	-0,021	1	0,016	0,173	0,350
<i>r Par j 2</i>	-0,004	0,067	0,016	1	0,188	0,108
<i>r Pla l 1</i>	-0,001	-0,013	0,173	0,188	1	0,123
<i>r Sal k 1</i>	-0,016	0,135	0,350	0,108	0,123	1

Se estudió la distribución de sensibilización por sexos para el alérgeno mayoritario (*Salsola*), encontrando que un 41% de los hombres (229) presentaron positividad (229), frente al 39,3% de las mujeres (382).

No se encontró significación estadística según la t de Student con respecto a las diferencias por sexo para *Salsola*.

	sexo	Media (ISU)	SD (ISU)	Sig. (bilateral)
<i>Sal kl</i>	Hombres	9,417	20,207	0,289
	Mujeres	8,362	17,842	

Para el grupo de alérgenos de hongos:

HONGOS	IgE+	N%	N
Alternaria	<i>Alt a1</i>	15,2	232
	<i>Alt a6</i>	2,1	32
Aspergillus	<i>Asp f1</i>	0,3	5
	<i>Asp f3</i>	1,1	17
	<i>Asp f6</i>	0,3	5
Cladosporium	<i>Cla h8</i>	1,5	23

Fig.11: Pacientes con IgE positiva frente a alérgenos del grupo de hongos

El alérgeno al que más pacientes estaban sensibilizados es el *Alt a1* de la *Alternaria*: 15,2% de los pacientes (232).

La prevalencia de sensibilización para *A. alternata* es difícil de estimar y algunos estudios epidemiológicos han reportado una amplia y variable prevalencia de la reactividad a este alérgeno. El *European Community Respiratory Health Survey* ha visto que el 4,4% de la población adulta está sensibilizada a la *Alternaria*. En un estudio de la *Global Asthma and Allergy European Network (GA(2)LEN)* que incluyó 3034 pacientes de 17 centros colaboradores de 14 países europeos, la prevalencia de sensibilización fue de aproximadamente el 9% (20).

Se estudió la matriz de correlaciones para los hongos del grupo y no se encontró reactividad cruzada entre ellos.

<i>Correlación de Pearson (r) grupo hongos</i>						
	<i>Alt a 1</i>	<i>Alt a 6</i>	<i>Asp f 1</i>	<i>Asp f 3</i>	<i>Asp f 6</i>	<i>Cla h 8</i>
<i>r Alt a 1</i>	1	0,121	0,069	0,022	0,005	0,192
<i>r Alt a 6</i>	0,121	1	0,031	0,000	-0,003	0,036
<i>r Asp f 1</i>	0,069	0,031	1	-0,002	0,033	-0,005
<i>r Asp f 3</i>	0,022	0,000	-0,002	1	0,004	0,023
<i>r Asp f 6</i>	0,005	-0,003	0,033	0,004	1	-0,002
<i>r Cla h 8</i>	0,192	0,036	-0,005	0,023	-0,002	1

Se estudió la distribución de sensibilización por sexos para el alérgeno más sensibilizante, encontrando que un 20,4% de hombres (114), frente a 12,1% de mujeres (118) presentaron positividad frente al alérgeno *Alt a 1*.

Se realizó la t de Student para muestras independientes y se encontró significación estadística en cuanto a las diferencias de sensibilización según el sexo para el alérgeno mayoritario del grupo (*Alt a 1*).

	sexo	Media (ISU)	SD (ISU)	Sig. (bilateral)
<i>Alt a 1</i>	Hombres	1,769	5,679	<0,0001
	Mujeres	0,852	3,778	

Para el grupo de alérgenos de ácaros:

Se estudió la IgE específica para los alérgenos del grupo obteniendo los siguientes pacientes positivos:

ÁCAROS	IgE+	N%	N
<i>Blomia tropicalis</i>	<i>Blo t5</i>	2,7	42
<i>Dermatophagoides farinae</i>	<i>Der f1</i>	22,9	350
	<i>Der f2</i>	29,6	453
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	<i>Der p1</i>	23,3	356
	<i>Der p2</i>	29,8	455
<i>L.destructor</i>	<i>Lep d2</i>	4,8	73

Fig.12: Pacientes con IgE positiva frente a alérgenos del grupo de ácaros

Se encontró para *D. pteronyssinus* el mayor número de pacientes sensibilizados: **Der p1**: 23,3% (356 pacientes) y **Der p2** 29,8% (455 pacientes) positivos. Un número de pacientes positivos similar para *D. farinae*: el porcentaje de positivos para **Der f1** fue de un 22,9% (350 pacientes) y para **Der f2** se encontraron 29,6% (453 pacientes) positivos.

Según el mapa acarológico de España realizado por los laboratorios LetiPharma® (Fig. 12), los resultados encontrados concuerdan con lo esperado para la zona geográfica en la que se sitúa la provincia de Alicante: **mayor prevalencia para los ácaros del género Dermatophagoides; son los más sensibilizantes.**



Mapa acarológico de España

Se realizó la matriz de correlaciones para los alérgenos del grupo de ácaros, observando:

- La mayor correlación para **Der f2** y **Der p2** ($r=0,921$).
- Elevada correlación entre **Der f1** y **Der p1** ($r=0,830$).
- También es alta para **Der p1** con **Der p2** (del mismo ácaro): $r=0,701$ y de **Der f1** con **Der f2**: $r=0,697$.

<i>Correlación de Pearson (r) grupo ácaros</i>						
	<i>Blo t 5</i>	<i>Der p 1</i>	<i>Der p 2</i>	<i>Der f 1</i>	<i>Der f 2</i>	<i>Lep d 2</i>
<i>r Blo t 5</i>	1	0,085	0,351	0,078	0,308	0,294
<i>r Der p 1</i>	0,085	1	0,701	0,830	0,633	0,224
<i>r Der p 2</i>	0,351	0,701	1	0,68	0,921	0,219
<i>r Der f 1</i>	0,078	0,830	0,685	1	0,697	0,258
<i>r Der f 2</i>	0,308	0,633	0,921	0,697	1	0,223

Además, se aplicó la t de Student para ver las diferencias en cuanto a la sensibilización de los pacientes en función del sexo encontrando significación estadística únicamente para *Der f1* y *Der f2*.

	sexo	Media (ISU)	SD (ISU)	Sig. (bilateral)
<i>Der f 1</i>	Hombres	2,345	9,450	0,042
	Mujeres	1,555	5,755	
<i>Der f 2</i>	Hombres	5,227	13,844	0,039
	Mujeres	3,903	10,934	

Para los alérgenos del grupo de tropomiosinas:

TROPOMIOSINAS	IgE+	N%	N
Anisakis	<i>Ani s3</i>	1,9	29
Cucaracha	<i>Bla g7</i>	1,8	27
Dermatophagoides	<i>Der p10</i>	2,3	35
Gamba	<i>Pen m1</i>	2,0	31

Fig.14: Pacientes con IgE positiva alérgenos grupo tropomiosinas

Se estudió la matriz de correlaciones para las tropomiosinas del grupo, obteniendo como cabía esperar una muy alta correlación entre todas las proteínas del grupo con coeficientes de correlación que van desde $r=0,947$ a $r=0,979$.

<i>Correlación de Pearson (r) grupo tropomiosinas</i>				
	<i>Bla g 7</i>	<i>Ani s 3</i>	<i>Der p 10</i>	<i>Pen m 1</i>
<i>r Bla g 7</i>	1	0,971	0,947	0,979
<i>r Ani s 3</i>	0,971	1	0,966	0,957
<i>r Der p 10</i>	0,947	0,966	1	0,957
<i>r Pen m 1</i>	0,979	0,957	0,957	1

Se ha estudiado si existen diferencias estadísticamente significativas para los alérgenos del grupo en cuanto al sexo según la t de Student para muestras independientes, pero no se observó significación estadística para ninguno de ellos.

LTPs:

Se estudió la IgE específica para los alérgenos del grupo:

LTPs	IgE+	N%	N
<i>Cacahuete</i>	<i>Ara h9</i>	24,1	369
<i>Avellana</i>	<i>Cor a8</i>	21,6	331
<i>Nuez</i>	<i>Jug r3</i>	29,8	456
<i>Melocotón</i>	<i>Pru p3</i>	34,7	531
<i>Trigo</i>	<i>Tri a14</i>	5,8	88
<i>Artemisia</i>	<i>Art v3</i>	22,2	339
<i>Olivo</i>	<i>Ole e7</i>	11,2	171
<i>Plátano de sombra</i>	<i>Pla a3</i>	26	397
<i>Parietaria</i>	<i>Par j2</i>	6	92

Fig.13: Pacientes con IgE positiva a los alérgenos del grupo de las LTPs

El alérgeno más sensibilizante fue el melocotón, con un 34,7% (531) pacientes positivos a su LTP.

En cuanto a la matriz de correlaciones para el grupo de LTPs:

<i>Correlación de Pearson (r) grupo LTPs</i>									
	<i>Ara h 9</i>	<i>Cor a 8</i>	<i>Jug r 3</i>	<i>Pru p 3</i>	<i>Tri a 14</i>	<i>Par j 2</i>	<i>Art v 3</i>	<i>Ole e 7</i>	<i>Pla a 3</i>
<i>r Ara h 9</i>	1	0,790	0,823	0,791	0,405	0,052	0,686	0,149	0,785
<i>r Cor a 8</i>	0,790	1	0,801	0,767	0,365	0,014	0,615	0,080	0,819
<i>r Jug r 3</i>	0,823	0,801	1	0,790	0,438	0,071	0,709	0,118	0,857
<i>r Pru p 3</i>	0,791	0,767	0,790	1	0,357	0,041	0,623	0,132	0,798
<i>r Tri a 14</i>	0,405	0,365	0,438	0,357	1	0,121	0,338	0,111	0,341
<i>r Par j 2</i>	0,052	0,014	0,071	0,041	0,121	1	0,021	0,077	0,027
<i>r Art v 3</i>	0,686	0,615	0,709	0,623	0,338	0,021	1	0,102	0,642
<i>r Ole e 7</i>	0,149	0,080	0,118	0,132	0,111	0,077	0,102	1	0,120
<i>r Pla a 3</i>	0,785	0,819	0,857	0,798	0,341	0,027	0,642	0,120	1

Ole e7, Tri a14 y Par j2 no correlacionan bien con el resto de alérgenos del grupo.

Se observó reactividad cruzada entre el resto de elementos del grupo. La menor correlación fue para *Cor a8* con *Art v3* (artemisia con avellana), $r=0,615$. La mayor correlación observada fue para *Jug r3* (nuez) con *Pla a3* (plátano de sombra), $r=0,857$.

Se realizó la prueba t de Student para ver la significación estadística en las diferencias por sexo, no encontrando diferencias en la sensibilización en hombres y en mujeres para el alérgeno más sensibilizante: ***Pru p3***.

	sexo	Media (ISU)	SD (ISU)	Sig. (bilateral)
<i>Pru p3</i>	Hombres	1,607	3,440	0,638
	Mujeres	1,503	4,528	

PLAN DE TRABAJO Y CRONOGRAMA

El proyecto se llevará a cabo en el Servicio de Análisis Clínicos del *Hospital General Universitario de Alicante* con arreglo a la siguiente planificación:

I. FASE DE PLANIFICACION/ COORDINACION.

- Planteamiento del trabajo a realizar y búsqueda bibliográfica.
- Planificación de las tareas a realizar
- Plazos de ejecución de cada parte del proyecto, organización administrativa de la gestión económica del proyecto,
- Reuniones con el tutor.

II. FASE DE RECOGIDA Y DEPURACIÓN DE LOS DATOS Y PREPARACIÓN DE LOS DATOS PARA EL ANÁLISIS.

- Extracción de los datos de todos los pacientes a los que se les ha realizado el ImmunoCAP ISAC en el laboratorio del Hospital General de Alicante en las fechas seleccionadas para el estudio a través de la base de datos del sistema de información (software MIA del autoanalizador ImmunoCAP ISAC).
- Depuración, ordenación y procesamiento de los datos para la obtención de las variables.
- Recodificación y construcción de variables.

III. FASE DE ANÁLISIS.

- Estadísticas descriptivas de las variables. Transformaciones de variables.
- Pruebas de contraste. Análisis de subgrupos.

IV. FASE DE ELABORACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.

Reuniones de síntesis y evaluación de los resultados obtenidos; actualización de la bibliografía para la discusión de los resultados; planificación y diseño de las comunicaciones y publicaciones. Propuestas de evaluación y mejora de la intervención, posibles líneas futuras de investigación, colaboración con otros grupos.

V. FASE DE DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS.

- Comunicaciones a congresos: de laboratorio, de alergia, de atención primaria o de gestión. Al menos un congreso internacional.

- Preparación y envío de publicaciones, al menos a dos revistas nacionales y una internacional. En paralelo, comunicación resumida de la investigación con finalidad divulgativa: foros de medicina, colectivos de pacientes, medios de información sanitaria.

La investigadora principal es Residente de 4º año de Análisis Clínicos, Licenciada en Farmacia por la Universidad de Granada.

	Año 1				Año 2			
	TRIMESTRE				TRIMESTRE			
	1	2	3	4	1	2	3	4
FASE I	Búsqueda bibliográfica Planificación Reuniones Coordinación							
FASE II		RECOGIDA DE DATOS Depuración de los datos Recodificación y construcción de variables						
FASE III				ANÁLISIS DE DATOS				
FASE IV						ELABORACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS		
FASE V							COMUNICACIONES, PUBLICACIONES, CONGRESOS	

ASPECTOS ÉTICOS:

ÉTICA:

Se ha solicitado aprobación de este proyecto por el CEIC del centro. Entendemos que el análisis retrospectivo de datos derivados de la actividad clínica no debe exigir consentimiento, en cuanto que las identificaciones de los médicos y de los pacientes atendidos estén codificadas para asegurar su anonimato. Aun así, si se considera imprescindible por el CEIC, se procederá a solicitar consentimiento por escrito a los médicos del hospital y del Área.

PRESUPUESTO

En el Hospital General de Alicante contamos con los medios humanos y materiales necesarios para el desarrollo del proyecto, lo que incluye material informático y ofimático de uso general, infraestructura para reuniones, etc. Para tareas de apoyo en el análisis estadístico se contratarán servicios de asesoría. Para la redacción de artículos y su envío a revistas de alcance internacional, se contratarán servicios de traducción especializada.

En cuanto a la licencia de software: se adquirirá una licencia del software estadístico SPSS (IBM software, EEUU) para gestión de datos, análisis de resultados y elaboración de informes, tablas, gráficos y trabajos de investigación.

Inscripción a congresos: la difusión de los resultados en reuniones científicas de calidad contrastada. El objeto del estudio puede ser de interés para profesionales de diversas especialidades: Laboratorio, Alergia, Atención Primaria, Calidad Asistencial, Economía de la Salud, etc. Viajes y manutención: la asistencia a congresos y jornadas científicas, al menos una de ellas internacional, y también en menor medida las reuniones de coordinación y las acciones de divulgación sobre el tema del estudio, conllevarán gastos de viaje y manutención.

1. Gastos de Personal

INVESTIGADORA PRINCIPAL: MARIA PILAR GARCÍA FERNÁNDEZ-RUFETE

Gastos de personal: 0 €

Subtotal Gastos de Personal: 0 €

2. Gastos de Ejecución

A) Adquisición de bienes y contratación de servicios: (Bienes inventariables, material fungible y otros gastos)

- **Software estadístico:** Licencia SPSS para Windows (IBM) 2.596 €

- **Asesoría estadística:** 1.500 €

- **Traducción biomédica especializada:** 1.200 €

- **Gastos de publicación:** 1.000 €

- **Subtotal Gastos Bienes y Servicios:** 6.296 €

B) Gastos de Viajes

Congreso internacional (1 persona): inscripción, viaje, estancia, manutención. 2.070 €

Congreso nacional (2 personas): inscripción, viaje, estancia, manutención. 1.550 €

Reuniones de coordinación y actividades de divulgación: desplazamientos y dietas
500€

Subtotal Gastos Viajes: 4.120 €

Subtotal Gastos Ejecución: 10.416 €

Total Presupuesto: 10.416 €



APLICABILIDAD Y UTILIDAD DE RESULTADOS:

Con la elaboración de este trabajo se pretende **facilitar la labor de los alergólogos en el diagnóstico** etiológico de los agentes implicados en las enfermedades alérgicas mediante el estudio de las IgE específicos en los pacientes atópicos de la provincia de Alicante, así como procesos alérgicos que implican proteínas de reactividad cruzada. Al tener un espectro tan grande el panel, nos permite observar sensibilizaciones no detectadas anteriormente, así como poder descartar otras.

El segundo objetivo es la **optimización de los tratamientos** (inmunoterapia, vacunas), ya que el diagnóstico por componentes ha supuesto un avance importante en el estudio de los pacientes alérgicos, refiriendo diferentes formas de presentación clínica en relación con los distintos perfiles de sensibilización, permitiendo un abordaje más individualizado de cada paciente. Es de este modo, una herramienta útil, en particular para los casos más complejos: pacientes con una historia clínica poco consistente, aquellos que no responden satisfactoriamente al tratamiento o polisensibilizados.

Asimismo, se busca **mejorar el conocimiento de la epidemiología de la enfermedad alérgica en la provincia**, en particular frente a los alérgenos estudiados, ya que no hay hasta la fecha demasiados estudios al respecto en la zona. Conoceremos los alérgenos moleculares más frecuentes en nuestro área clasificados por fuente alérgica y por tipo de proteína, y las reactividades cruzadas encontradas en Alicante.

BIBLIOGRAFIA

1. Coombs RR. Immunopathology. *Br Med J*. 1968 Mar 9;1(5592):597–602.
2. Coombs RR. Immunopathological mechanisms. *Proc R Soc Med*. 1974 Jun;67(6 Pt 2):525–30.
3. Pawankar R, Canonica G, Holgate S, Lockey R. WAO white book on allergy : update 2013. *Pediatr*. 2013;
4. Brożek JL, Bousquet J, Agache I, Agarwal A, Bachert C, Bosnic-Anticevich S, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines—2016 revision. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;
5. Harwanegg C, Laffer S, Hiller R, Mueller MW, Kraft D, Spitzauer S, et al. Microarrayed recombinant allergens for diagnosis of allergy. *Clinical and Experimental Allergy*. 2003.
6. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, et al. EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol*. 2016;
7. Sastre J, Sastre-Ibañez M. Molecular diagnosis and immunotherapy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2016.
8. Brunetto B, Tinghino R, Braschi MC, Antonicelli L, Pini C, Iacovacci P. Characterization and comparison of commercially available mite extracts for in vivo diagnosis. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2010;
9. Huang H-J, Resch-Marat Y, Rodriguez-Dominguez A, Chen K-W, Kiss R, Ziegelmayer P, et al. Underestimation of house dust mite-specific IgE with extract-based ImmunoCAPs compared with molecular ImmunoCAPs. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Nov 1;142(5):1656-1659.e9.
10. Casset A, Mari A, Purohit A, Resch Y, Weghofer M, Ferrara R, et al. Varying allergen composition and content affects the in vivo allergenic activity of commercial *Dermatophagoides pteronyssinus* extracts. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;159(3):253–62.

11. Ahlgrim, C; Gutermuth, J; Önell, A; Borres, MP; Schäffner, I; Darsow, U; Pfab, F; Brockow, K; Ring, J; Behrendt, H; Jakob, T; Huss-Marp J. Comparison of molecular multiplex and singleplex analysis of IgE to grass pollen allergens in untreated german grass pollen allergic patients [Internet]. [cited 2019 Feb 13]. Available from: <http://ibecs.isciii.es/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/>
12. García BE, Martínez-Aranguren R, Bernard Alonso A, Gamboa P, Feo Brito F, Bartra J, et al. Is the ISAC 112 Microarray Useful in the Diagnosis of Pollinosis in Spain? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2016 Apr 1;26(2):92–9.
13. Patelis A, Borres MP, Kober A, Berthold M. Multiplex component-based allergen microarray in recent clinical studies. *Clin Exp Allergy*. 2016 Aug;46(8):1022–32.
14. Leiferman KM, Gleich GJ, Jones RT. The cross-reactivity of IgE antibodies with pollen allergens. II. Analyses of various species of ragweed and other fall weed pollens. *J Allergy Clin Immunol*. 1976;
15. Nieto García A, Mazón Ramos Á, Pamies Espinosa R, Caballero Gómez L, Oliver Jiménez F, Colomer Hernández N. Implicación clínica de la reactividad cruzada entre alérgenos. In: *Allergologia et Immunopathologia*. 2004.
16. Herbario de la Universidad Pública de Navarra [Internet]. [cited 2019 Jul 24]. Available from: <https://www.unavarra.es/herbario/index.htm>
17. Aceituno E, Del Pozo V, Mínguez A, Arrieta I, Cortegano I, Cárdbaba B, et al. Molecular cloning of major allergen from cupressus arizonica pollen: Cup a 1. *Clin Exp Allergy*. 2000;
18. AVAIC - Asociación Valenciana de Alergología e Inmunología Clínica [Internet]. [cited 2019 Jul 24]. Available from: <http://www.avaic.es/>
19. Villalba M, Barderas R, Mas S, Colás C, Batanero E, Rodríguez R. Amaranthaceae pollens: Review of an emerging allergy in the mediterranean area. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. 2014.
20. Gabriel MF, Postigo I, Tomaz CT, Martínez J. *Alternaria alternata* allergens: Markers of exposure, phylogeny and risk of fungi-induced respiratory allergy.

Environment International. 2016.

21. Alergología. Alergia a anisakis | Hospital Universitari General de Catalunya - Grupo Quirónsalud [Internet]. [cited 2019 Jul 26]. Available from: <https://www.hgc.es/es/cartera-servicios/alergologia/consejos/alergia-anisakis>

ANEXOS:

-Anexo 1: IgE específicas a componentes alergénicos determinados mediante ImmunoCAP ISAC™ :

- Componentes alimentarios especie-específicos:

Clara de huevo	nGal d 1	Ovomucoide
	nGal d 2	Ovoalbúmina
	nGal d 3	Conalbúmina/Ovotransferrina
Yema de huevo / Carne de pollo	nGal d 5	Livetina/Albúmina sérica
Leche de vaca	nBos d 4	Alfa-lactoalbúmina
	nBos d 5	Beta-lactoglobulina
	nBos d 8	Caseína
	nBos d lactoferrin	Transferrina
Bacalao	rGad c 1	Parvalbumina
Gamba	nPen m 2	Arginina kinasa
	nPen m 4	Proteína de unión al calcio sarcoplasmático
Anacardo	rAna o 2	Proteína de almacenamiento, 11S globulina
Nuez de Brasil	rBer e 1	Proteína de almacenamiento, 2S albúmina
Avellana	nCor a 9	Proteína de almacenamiento, 11S globulina
Nuez	nJug r 1	Proteína de almacenamiento, 2S albúmina
	nJug r 2	Proteína de almacenamiento, 7S globulina
Semilla de sésamo	nSes i 1	Proteína de almacenamiento, 2S albúmina
Cacahuete	rAra h 1	Proteína de almacenamiento, 7S globulina
	rAra h 2	Proteína de almacenamiento, conglutina
	rAra h 3	Proteína de almacenamiento, 11S globulina
	nAra h 6	Proteína de almacenamiento, 2S albúmina

Soja	nGly m 5	Proteína de almacenamiento, Beta-conglicinina
	nGly m 6	Proteína de almacenamiento, Glicinina
Trigo sarraceno	nFag e 2	Proteína de almacenamiento, 2S albúmina
Trigo	rTri a 14	Proteína transportadora de lípidos (LTP)
	rTri a 19.0101	Omega-5 gliadina
Trigo	nTri a aA_TI	Alfa-Amilasa / Inhibidor de tripsina
Kíwi	nAct d 1	Cisteín proteasa
	nAct d 5	Kiwelina

- Componentes aeroalergenos especie específicos:

Polen de gramíneas

Gramma mayor	nCyn d 1	Gramínea grupo 1
Hierba Timotea	rPhl p 1	Gramínea grupo 1
	rPhl p 2	Gramínea grupo 2
	nPhl p 4	Enzima cortadora de berberina
	rPhl p 5	Gramínea grupo 5
	rPhl p 6	Gramínea grupo 6
	rPhl p 11	Proteína relacionada con Ole e1

Polen de árboles

Abedul	rBet v 1	Proteína PR10
Cedro del Japón	nCry j 1	Pectato liasa
Ciprés	nCup a 1	Pectato liasa
Polen de olivo	nOle e 1	Olivo grupo 5
	rOle e 9	Beta-1,3-glucanasa
Plátano de sombra	rPla a 1	Inhibidor putativo de la invertasa
	nPla a 2	Poligalacturonasa

Polen de malezas

Ambrosía	nAmb a 1	Pectato liasa
Artemisa	nArt v 1	Defensina
Chenopodium	rChe a 1	Proteína relacionada con Ole e1
Parietaria	rPar j 2	Proteína transportadora de lípidos (LTP)
Plántago	rPla l 1	Proteína relacionada con Ole e1
Salsola	nSal k 1	Pectin metilesterasa

Animales

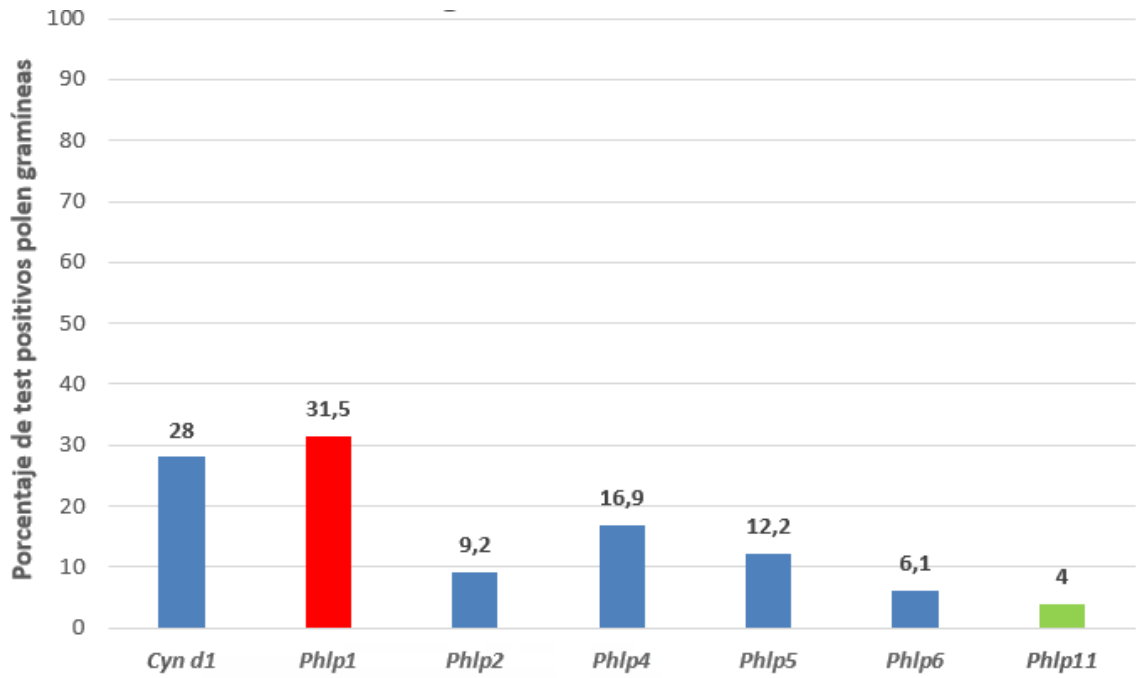
Perro	rCan f 1	Lipocalina
	rCan f 2	Lipocalina
	rCan f 5	Arginina esterasa
Caballo	rEqu c 1	Lipocalina
Gato	rFel d 1	Uteroglobina
	rFel d 4	Lipocalina
Ratón	nMus m 1	Lipocalina

Hongos		
Alternaria	rAlt a 1	Glicoproteína ácida
	rAlt a 6	Enolasa
Aspergillus	rAsp f 1	Mitogilina
	rAsp f 3	Proteína peroxisomal
	rAsp f 6	Superoxido Mn dismutasa
Cladosporium	rCla h 8	Manitol deshidrogenasa
Ácaros		
B. tropicalis (HDM)	rBlo t 5	Ácaro grupo 5
D. farinae (HDM)	nDer f 1	Cisteín proteasa
	rDer f 2	Familia NPC2
D. pteronyssinus (HDM)	nDer p 1	Cisteín proteasa
D. pteronyssinus (HDM)	rDer p 2	Familia NPC2
L. destructor (storage mite)	rLep d 2	Familia NPC2
Cucaracha		
Cucaracha	rBla g 1	Cucaracha grupo 1
	rBla g 2	Proteasa aspártica
	rBla g 5	Glutation S transferasa
<i>- Otros componentes especie específicos</i>		
Veneno de abeja	rApi m 1	Fosfolipasa A2
	nApi m 4	Melitina
Veneno de avispa papelera	rPol d 5	Antígeno 5
Veneno de avispa común	rVes v 5	Antígeno 5
Parásitos		
Anisakis	rAni s 1	Inhibidor de la serín proteasa
Látex		
Látex	rHev b 1	Factor de enlongación de la goma
	rHev b 3	Pequeña partícula de goma
	rHev b 5	Proteína ácida
	rHev b 6.01	Proheveína

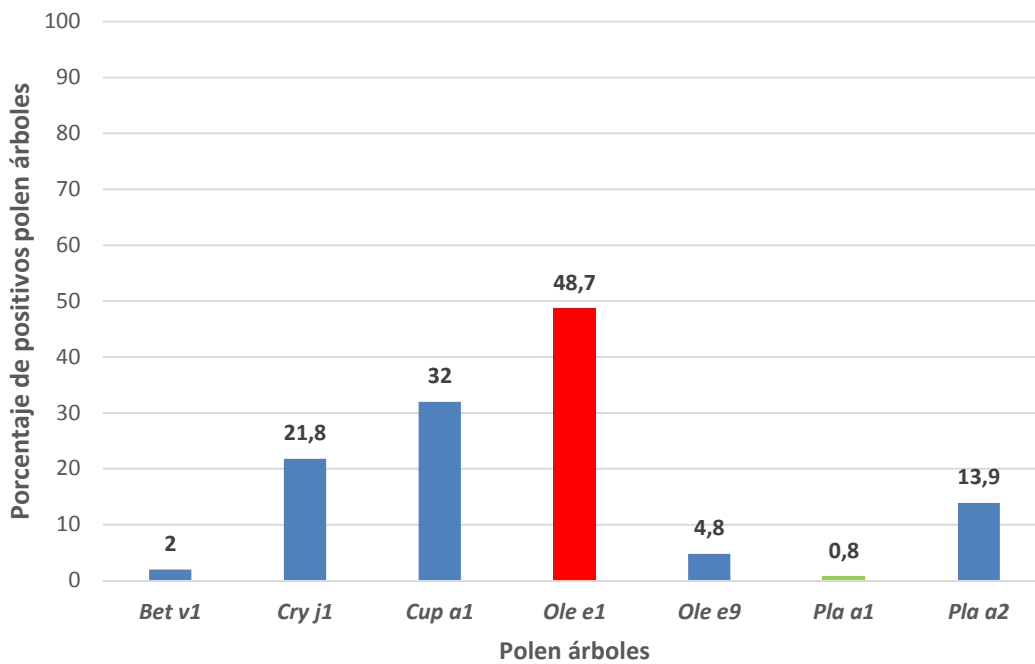
- Componentes marcadores de reactividad cruzada

Lipid transfer protein (nsLTP)		
Melocotón	rPru p 3	Proteína transportadora de lípidos (LTP)
Artemisa	nArt v 3	Proteína transportadora de lípidos (LTP)
Polen de olivo	nOle e 7	Proteína transportadora de lípidos (LTP)
Plátano de sombra	rPla a 3	Proteína transportadora de lípidos (LTP)
Proteína PR10		
Abedul	rBet v 1	Proteína PR-10
Aliso	rAln g 1	Proteína PR-10
Polen de avellano	rCor a 1.0101	Proteína PR-10
Avellana	rCor a 1.0401	Proteína PR-10
Manzana	rMal d 1	Proteína PR-10
Melocotón	rPru p 1	Proteína PR-10
Soja	rGly m 4	Proteína PR-10
Cacahuete	rAra h 8	Proteína PR-10
Kiwi	rAct d 8	Proteína PR-10
Apio	rApi g 1	Proteína PR-10
Proteína homóloga de taumatina		
Kiwi	nAct d 2	Proteína homóloga de taumatina
Profilina		
Abedul	rBet v 2	Profilina
Látex	rHev b 8	Profilina
Mercurial	rMer a 1	Profilina
Hierba Timotea	rPhl p 12	Profilina
CCD		
CCD	nMUXF3	CCD
Polcalcina		
Abedul	rBet v 4	Polcalcina
Hierba Timotea	rPhl p 7	Polcalcina

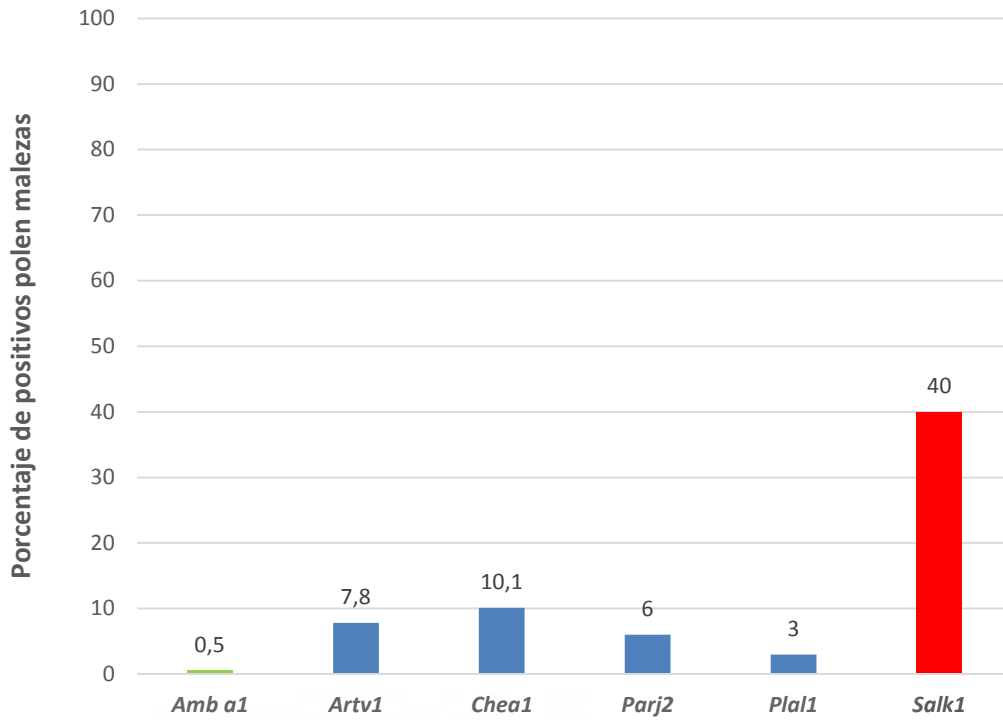
Anexo 2 :Histogramas de frecuencias por grupo de alérgenos:



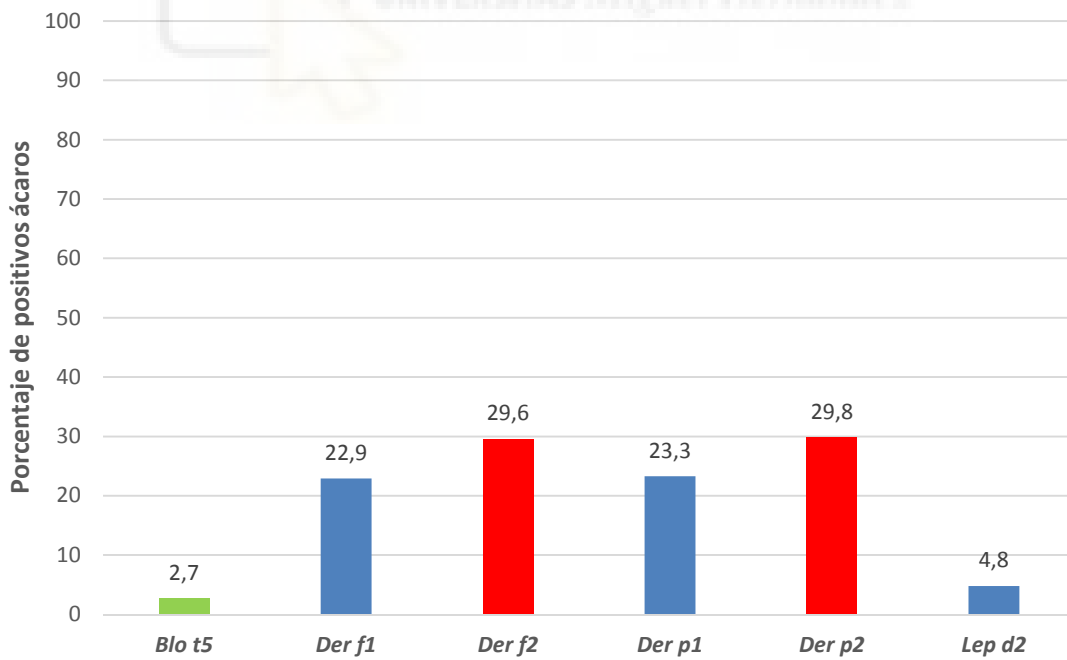
Porcentaje de test positivos polen gramíneas



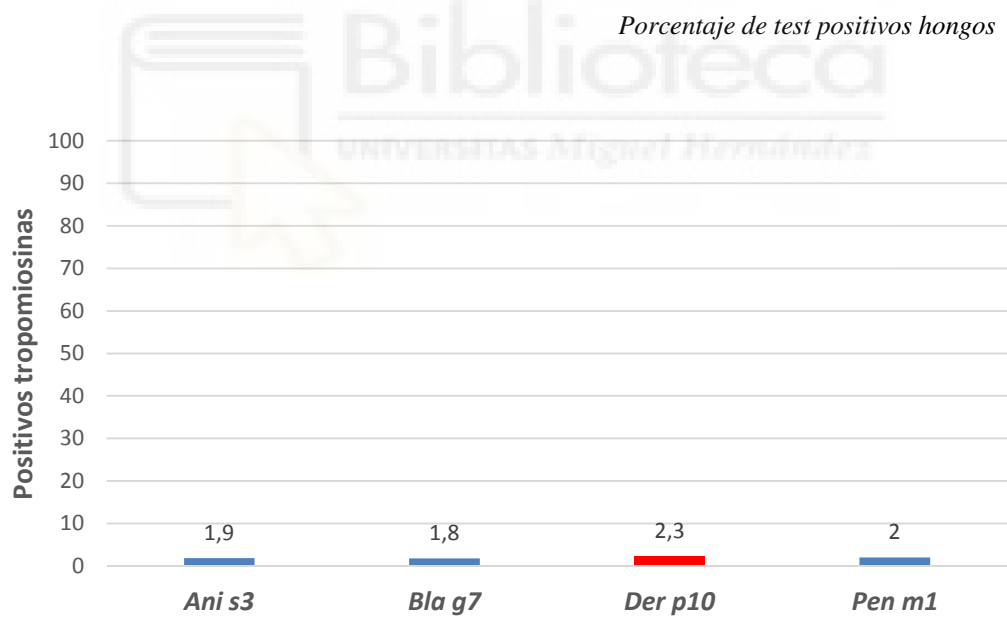
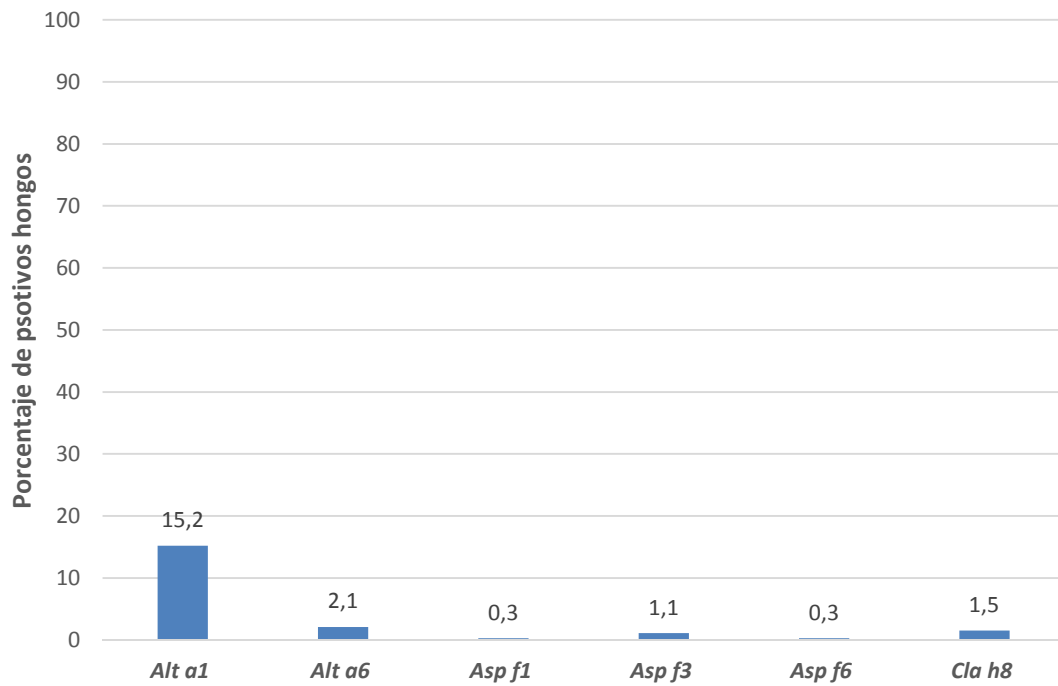
Porcentaje de test positivos polen árboles.



Porcentaje de test positivos polen malezas.



Porcentaje de tests positivos ácaros



Porcentaje de test positivos tropomiosinas

