

Trabajo Fin de Grado

Evaluación de la detección de IgE específica por
microarrays en pacientes sensibilizados a
múltiples alérgenos

*Evaluation of specific IgE detection by microarrays
in patients sensitized to multiple allergens*

Autor

María Pilar Osácar Puyoles

Directores

Carlos Colás Sanz

Luis Martínez Lostao

Facultad de Medicina

2022-2023

Índice

RESUMEN	3
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	5
Definición	5
Epidemiología	5
Fisiopatología	5
Clínica	6
Diagnóstico	8
Tratamiento	9
Pacientes polisensibilizados	9
Tipos de alérgenos	10
Panalérgenos	10
Síndromes de reactividad cruzada	12
Proteínas de Transferencia de Lípidos (LTP)	12
Taumatinas	13
Diagnóstico molecular	13
OBJETIVOS	15
MATERIAL Y MÉTODOS	16
Diseño del estudio	16
Definición de variables	16
Manifestaciones clínicas	16
Pruebas analíticas	16
Datos analíticos	18
Análisis estadístico	19
Consideraciones éticas	20
RESULTADOS	21
Análisis descriptivo	21
Estudio de la concordancia	23
Estudio de la asociación entre los valores de IgE y la clínica	27
DISCUSIÓN	29
Estudio de IgE específica en pacientes polisensibilizados	29
Estudio de la concordancia entre ISAC y ALEX	29
Asociación entre los valores de IgE y las manifestaciones clínicas	30
CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFÍA	33

RESUMEN

Introducción

El diagnóstico de pacientes polisensibilizados en alergología presenta desafíos debido a las múltiples reacciones y a la dificultad de identificar los desencadenantes. En este sentido, el diagnóstico molecular por *microarrays* ha mostrado ser prometedor, permitiendo identificar los alérgenos involucrados y las relaciones de reactividad cruzada.

Objetivos

Este estudio analizó la detección de IgE específica en pacientes sensibilizados a múltiples alérgenos, utilizando dos técnicas de *microarrays* (*ImmunoCAP ISAC* y *ALEX²*). Se analizaron los perfiles de IgE específica, la concordancia de los resultados y su relación con la sintomatología, con el fin de determinar si existe asociación entre los niveles de IgE específica y la clínica alérgica.

Material y métodos

Se realizó un estudio observacional longitudinal prospectivo de una cohorte de 39 pacientes alérgicos polisensibilizados en los que se estudiaron los síntomas tras la ingesta de frutas y se analizó la IgE específica mediante dos técnicas de *microarrays*. Para el análisis estadístico se seleccionaron los componentes alergénicos de las familias de LTP y taumatinas, se emplearon tests no paramétricos y se estableció un nivel de significación de $p < 0,05$.

Resultados

El análisis mostró que más del 80% de los pacientes presentaron positividad a 6 o más alérgenos y se encontró una alta detección de componentes alergénicos positivos en las familias de las LTP y las taumatinas. La correlación entre las dos plataformas fue buena para la detección de la taumatina y moderada-leve para las diferentes moléculas de la familia de las LTP. Finalmente, se observaron diferencias significativas en los valores de IgE y el número de LTP positivas en relación con la presencia y gravedad de la sintomatología.

Conclusiones

La detección de IgE específica es crucial para el diagnóstico y tratamiento de pacientes polisensibilizados. Se ha encontrado sensibilización a múltiples alérgenos, destacando las familias panalergénicas de las LTP y la taumatina. Existe concordancia entre las técnicas de cribado utilizadas y se ha identificado asociación entre los niveles elevados de IgE específica contra LTP y la presencia de síntomas tras la ingesta de frutas en pacientes incluidos en el estudio.

Palabras clave

IgE específica, polisensibilización, *microarrays*, familias panalergénicas, diagnóstico molecular, *ImmunoCAP ISAC*, *ALEX²*.

ABSTRACT

Introduction

The diagnosis of polysensitized patients in allergology presents challenges due to the multiple reactions and the difficulty of identifying the triggers. In this regard, molecular diagnosis by microarrays has shown promising in identifying the allergens involved and cross-reactivity relationships.

Objectives

This study analyzed the detection of specific IgE in patients sensitized to multiple allergens, using two microarray techniques (ImmunoCAP ISAC and ALEX²). The specific IgE profiles, the concordance of the results and their relationship with symptomatology were analyzed in order to determine whether there is an association between specific IgE levels and allergic symptoms.

Material and Methods

A prospective longitudinal observational study was performed on a cohort of 39 polysensitized allergic patients in whom symptoms were studied after fruit ingestion and specific IgE was analyzed by two microarray techniques. For the statistical analysis, the allergenic components of the LTP and thaumatin families were selected, nonparametric tests were used and a significance level of $p < 0.05$ was established.

Results

The analysis showed that more than 80% of the patients presented positivity to 6 or more allergens, and a high detection of positive allergenic components in the LTP and thaumatin families was found. The correlation between the two platforms was good for the detection of thaumatin and moderate-mild for the different molecules of the LTP family. Finally, significant differences were observed in IgE values and in the number of positive LTPs in relation to the presence and severity of symptomatology.

Conclusions

The detection of specific IgE is crucial for the diagnosis and treatment of polysensitized patients. Sensitization to multiple allergens has been found, highlighting the panallergenic families of LTP and thaumatin. There is concordance between the screening techniques used and an association has been identified between high levels of specific IgE against LTP and the presence of symptoms after fruit ingestion in patients included in the study.

Keywords

Specific IgE, polysensitization, microarrays, panallergenic families, molecular diagnostics, ImmunoCAP ISAC, ALEX².

INTRODUCCIÓN

Definición

La alergia es una respuesta exagerada, en la que el sistema inmunitario identifica como peligrosas sustancias que no lo son. En ocasiones, la reacción del sistema inmune contra antígenos extraños no se conduce por las vías adecuadas provocando un efecto perjudicial para el sujeto, esta reactividad alterada se denomina hipersensibilidad. El término alergia hace referencia a una hipersensibilidad inmediata alérgeno- específica, mediada por anticuerpos de clase IgE, que se manifiesta produciendo fenómenos inflamatorios o de destrucción tisular en órganos, siendo los más comúnmente afectados la piel y las mucosas(1).

Epidemiología

Las enfermedades alérgicas constituyen un problema global de salud pública, siendo unas de las enfermedades crónicas más frecuentes en nuestro medio, afectando principalmente a niños y personas jóvenes. En las últimas décadas su prevalencia ha aumentado de forma exponencial; se estima que pueden llegar a afectar entre el 30 y el 40% de la población mundial, con una mayor incidencia en los países industrializados(1). Muchas de estas afecciones producen una importante reducción en la productividad laboral y escolar de los sujetos, interfiriendo notablemente en las actividades cotidianas del paciente; lo que confiere a esta patología una gran morbilidad con un importante impacto socio- económico.

A su vez, es importante mencionar el incremento de pacientes que padecen alergias complejas que involucran polisensibilización y afectación de múltiples órganos, lo que aumenta la morbilidad de los sujetos que las padecen y provoca una mayor demanda en servicios de atención de salud(1).

Fisiopatología

La hipersensibilidad de tipo I se manifiesta clínicamente siempre después de un primer contacto con un determinado alérgeno. En el mecanismo de producción de la alergia tiene lugar una secuencia de acontecimientos que se detallan a continuación(2).

Sensibilización

Los alérgenos penetran en el organismo a través de la piel o de las mucosas (respiratoria, ocular, digestiva, etc.) y ahí son captados por las células dendríticas que presentan péptidos provenientes del alérgeno a los linfocitos T indiferenciados (Th0) a través del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC-II). La interacción entre el péptido alérgénico y los receptores de los linfocitos T hace que éstos se activen hacia un perfil Th2 y colaboren con los linfocitos B, que a su vez se activan diferenciándose a células plasmáticas, produciendo IgE específica contra ese alérgeno. Esta IgE pasa al torrente sanguíneo, donde se une a los receptores de alta afinidad FcεR-I presentes de forma muy abundante en la superficie de mastocitos y basófilos, dispersos en tejidos como la piel o las barreras mucosas y sangre periférica(3).

Reexposición

Ante un posterior contacto con el alérgeno, éste vuelve a penetrar en el organismo, siendo reconocido por las moléculas de IgE presentes en la superficie de mastocitos y basófilos. Como consecuencia de la interacción estas células se activan generando y liberando mediadores de

inflamación como son, en un primer lugar, histamina, leucotrienos, triptasa y prostaglandinas, que producen las manifestaciones rápidas de hipersensibilidad como son la vasodilatación, el aumento de la permeabilidad vascular, la broncoconstricción y la inflamación. A su vez, los mastocitos liberan citocinas que activan a los eosinófilos, acudiendo al foco como células efectoras finales en una fase tardía de la respuesta alérgica(3).

Por otro lado, el alérgeno continúa siendo captado por células dendríticas que a su vez activan los linfocitos Th2 y prosigue la producción de IgE específica, de forma que se amplifica la sensibilización al alérgeno.

La fisiopatología de la hipersensibilidad de tipo I explicada anteriormente se esquematiza en la figura 1.

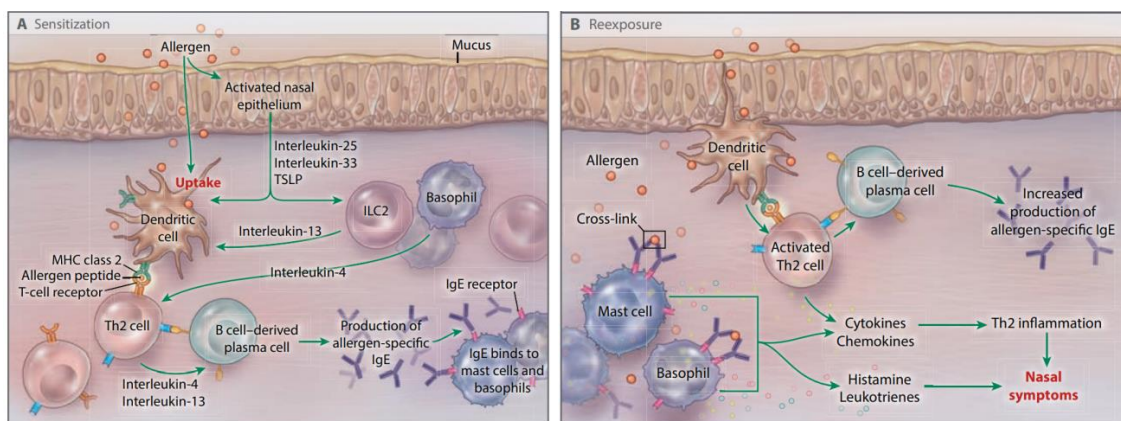


Figura 1. Mecanismos implicados en la hipersensibilidad inmediata alérgeno – específica.
Wheatley LM, Togias A. Clinical practice. Allergic rhinitis. *N Engl J Med.* 2015; 372(5):456-63.

Clínica

Las manifestaciones clínicas de la hipersensibilidad de tipo I se deben a la acción de los mediadores liberados por los mastocitos y pueden presentarse de diferentes formas, algunas de las cuales se detallan a continuación, dependiendo del órgano donde tenga lugar la reacción alérgica. En su forma sistémica más extrema, denominada anafilaxia, el compromiso de la vía aérea y las alteraciones hemodinámicas sistémicas hacen que este cuadro pueda ser potencialmente mortal.

Marcha atópica

Antes de comenzar a explicar las principales manifestaciones clínicas de la hipersensibilidad de tipo I, se explicará brevemente el concepto de atopia. Se conoce como atopia a la predisposición genética a desarrollar sensibilizaciones y producir anticuerpos tipo IgE en respuesta a alérgenos habituales en el medio. Pese a que se ha demostrado su naturaleza hereditaria, los factores de riesgo para el desarrollo de atopia están en estudio ya que existen múltiples genes que contribuyen a su patogénesis, que a su vez interactúan con factores ambientales regulando la aparición de sintomatología alérgica (1).

La secuencia con la que se presentan las enfermedades alérgicas en estos pacientes se denomina “marcha atópica”. Suele comenzar en la infancia y se manifiesta progresivamente durante varios años. Los primeros síntomas en aparecer son los dermatológicos, seguidos de los gastrointestinales que surgen al introducir la alimentación complementaria; transcurridos los

primeros años de edad comienza a surgir la rinoconjuntivitis, al entrar en contacto con los pólenes ambientales y posteriormente pueden desarrollar un cuadro asmático.

Síntomas respiratorios

La rinitis alérgica se produce por inflamación de la mucosa nasal, afecta al 20% de la población general, y provoca cuadros agudos consistentes en estornudos, rinorrea acuosa, prurito y obstrucción nasal. Suelen asociar lagrimeo, inyección conjuntival y prurito ocular; así como cefalea, mal estar general y somnolencia diurna(4).

El asma bronquial alérgico se caracteriza por la presencia de tos seca persistente, disnea en crisis y sibilancias en tórax; suele empeorar por la noche, con el ejercicio o tras la inhalación de humos o vapores irritantes.

Síntomas cutáneos

Los agentes causales más comunes son los alimentos, medicamentos o picaduras, los cuales al entrar en contacto con la piel o mucosas producen la liberación de histamina por parte de los mastocitos.

La urticaria aguda, consiste en la aparición de habones que se extienden por toda la superficie corporal afectando a la epidermis, están acompañados de intenso prurito y desaparecen tras varias horas sin dejar lesión residual.

Cuando las lesiones comprometen a capas más profundas de la piel se produce el angioedema, una intensa inflamación del tejido subcutáneo peor delimitada que los habones presentes en la urticaria. Si esta inflamación es muy intensa puede producir una deformación de la zona en la que aparece y de afectar a la laringe, puede provocar un cuadro de asfixia aguda (2).

Otra afección de la piel es la formación de eccemas, reacciones inflamatorias eritematosas y edematizadas que pueden presentar vesículas, engrosamiento o descamación de la piel. Los eccemas de causa alérgica pueden ser la dermatitis de contacto, producida directamente al entrar en contacto los alérgenos con la piel del paciente; o la dermatitis atópica consistente en lesiones eccematosas de distribución característica asociadas a piel seca e intenso picor. Esta afección suele relacionarse con cuadros de rinitis, asma y alergia alimentaria (2).

Síntomas digestivos

Las reacciones localizadas en la mucosa oral y faríngea, denominadas síndrome de alergia oral, se manifiestan con prurito local y son muy frecuentes, especialmente en adultos con alergia a vegetales asociada a alergia al polen. También se puede producir la reacción alérgica en forma de clínica digestiva, provocando vómitos, dolor abdominal o diarrea, en las horas próximas a la ingesta del alimento(5).

Dentro de la afección digestiva existen cuadros clínicos no mediados por IgE, como son la enterocolitis inducida por proteínas de la dieta (conocida como FPIES del inglés, *Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome*) que cursa con vómitos repetidos y gran afectación del estado general; y la esofagitis eosinofílica, consistente en la infiltración de la pared del tubo digestivo por eosinófilos, en la que el paciente presenta principalmente disfagia.

Existen ciertos factores, denominados cofactores de alergia alimentaria, que, al asociarse con la toma de determinados alimentos alergénicos, pueden dar lugar a reacciones más severas o con menos cantidad de alimento (5). Los cofactores que más se han relacionado son el ejercicio, el alcohol, la toma de antiinflamatorios no esteroideos, el estrés o la toma de IECAS. Es importante

conocerlos ya que se debe evitar la asociación de estos con los alimentos causantes de la reacción.

Anafilaxia

La anafilaxia se produce tras la degranulación masiva de los basófilos al torrente sanguíneo. Las consecuencias de ello son síntomas como hipotensión, broncoespasmo, urticaria aguda, angioedema, diarrea o vómitos, que suceden al poco tiempo de exposición al alérgeno. En los casos más graves se puede producir una crisis de asma o angioedema grave o se puede llegar al shock por colapso circulatorio, pudiendo provocar la muerte del paciente(5).

En estos casos es fundamental identificar el agente causal para evitarlo y prevenir nuevas reacciones en el futuro; además los pacientes en riesgo deben llevar consigo un autoinyector de adrenalina intramuscular, para suministrársela ante el contacto con el alérgeno con la aparición de los primeros síntomas.

Diagnóstico

El diagnóstico de las enfermedades alérgicas debe comenzar con una detallada historia clínica y una cuidadosa exploración del paciente. Si estos datos sugieren una hipersensibilidad de tipo I, se pueden emplear diferentes procedimientos para confirmar el diagnóstico de sospecha.

Pruebas cutáneas

Las pruebas cutáneas son el método más empleado, considerándose el primer nivel para el diagnóstico de la hipersensibilidad de tipo I y se basa en la reproducción en la piel y a menor escala del fenómeno de hipersensibilidad. El procedimiento consiste en depositar en la epidermis una gota del extracto que contiene el alérgeno, puncionándose a continuación con una lanceta especial para estas pruebas; la respuesta se observa a los 20 minutos. Si aparecen pápulas pruriginosas generalmente rodeadas de eritema, se puede afirmar que los mastocitos ahí presentes poseen IgE específica preformada para ese alérgeno, ya que liberan histamina la cual produce la inflamación. Una prueba positiva indica que el paciente está sensibilizado a ese alérgeno, pero no siempre indica que esté causando síntomas(6).

Análisis de IgE en suero

Como ya se ha comentado, la IgE es la principal molécula implicada en los fenómenos de alergia; por ello en el estudio de un paciente con un posible cuadro alérgico resulta conveniente analizar los niveles de IgE total presente en el suero. Éstos resultarán habitualmente elevados en los pacientes sensibilizados respecto a los de sujetos no sensibilizados. Sin embargo, no todos los pacientes sensibilizados presentan niveles elevados de IgE total, y además no en todos los sujetos con una IgE total elevada la causa subyacente es un proceso alérgico.

Por otra parte, es posible analizar los niveles de IgE específica en suero, capaz de reconocer un determinado alérgeno, lo que constituye una herramienta muy útil en el estudio de la alergia, ya que ha permitido un mayor conocimiento del mecanismo inmunológico causante de ésta. Esta técnica se considera de segundo nivel en el diagnóstico alergológico y habitualmente, la determinación de IgE específica en el suero del paciente se realiza mediante una técnica de fluoroenzimoinmunoanálisis. En este análisis se enfrenta el suero del paciente, que contiene IgE específica, a un alérgeno presente en una fase sólida; de forma que se produce una interacción *invitro* antígeno- anticuerpo en dicha fase sólida. Tras eliminar el exceso de suero de la fase sólida, la IgE adherida al alérgeno se detecta empleando un anticuerpo anti-IgE conjugado con una enzima. Finalmente, a la fase sólida se le añade el sustrato específico para este enzima de

modo que este proteoliza el sustrato generando un producto fluorescente con una intensidad proporcional a la cantidad de IgE específica frente al alérgeno presente en el suero del paciente. Si la IgE específica supera los valores de 0,35 KU/l, es indicativo de que el paciente está sensibilizado a ese determinado alérgeno, ya que presenta en suero una cantidad significativa de IgE capaz de reconocerlo al entrar en contacto con el mismo(7).

Existen, en líneas generales, dos tipos de ensayos inmunológicos para la determinación de IgE específica en función del número de alérgenos que se evalúan en cada prueba: la determinación *singleplex*, en la que se hace una sola determinación por prueba, y la *multiplex* en la que se realizan varias determinaciones a la vez (8). Recientemente se han realizado avances en esta técnica, al emplearse, en lugar del extracto proteico que contiene el alérgeno de interés, únicamente el componente alergénico específico responsable de la sensibilización en la mayoría de los pacientes. Esto permite detectar la presencia de IgE específica frente a la o las proteínas concretas que causan la reacción de hipersensibilidad en cada paciente, aumentando la especificidad de la prueba diagnóstica. Este tipo de método se conoce como diagnóstico molecular, y dado que ha sido el empleado en el presente estudio, se explicará más detalladamente en la parte final de la introducción.

Tratamiento

En el manejo y tratamiento de las enfermedades alérgicas se diferencia entre el tratamiento farmacológico agudo de las reacciones alérgicas y el manejo a largo plazo para evitar posteriores reacciones, así como el empleo de terapias inmunomoduladoras.

Respecto al manejo agudo, se emplean los antihistamínicos, fármacos que anulan el efecto de los mediadores liberados (histamina y leucotrienos). Para reducir los fenómenos inflamatorios derivados de la liberación de mediadores y activación de eosinófilos, se utilizan ampliamente los corticoides y, en casos más específicos anticuerpos monoclonales anti-eosinófilos y anti interleuquina (IL) 4 y 13. También existen fármacos estabilizantes de los mastocitos y otros anticuerpos monoclonales que evitan la activación de la IgE ya adherida al mastocito.

En relación con el manejo a largo plazo para prevenir futuras reacciones, es fundamental, siempre que sea posible, evitar el contacto con el alérgeno causante. Por otro lado, existen técnicas de inmunoterapia específica que ofrecen la posibilidad de revertir los fenómenos de hipersensibilidad mediante la administración de forma progresiva del alérgeno, de forma que el paciente desvíe la respuesta hacia linfocitos Th1, en lugar de Th2 responsables del fenómeno alérgico; de manera que, ante un posterior contacto con el alérgeno, éste pasaría desapercibido para el organismo, sin provocarle ningún tipo de reacción.

Pacientes polisensibilizados

Al evaluar a un paciente desde el punto de vista alergológico, el principal objetivo debe ser averiguar la etiología de la enfermedad. Para ello es fundamental realizar una detallada historia clínica, así como conocer la aerobiología de la zona que oriente a cerca de las posibles fuentes alergénicas con las que puede estar en contacto el paciente.

El número de individuos alérgicos que parecen estar monosensibilizados a un solo alérgeno es limitado, siendo cada vez más frecuente que los sujetos alérgicos muestren manifestaciones clínicas al entrar en contacto con distintas fuentes alergénicas. Esto puede deberse a dos motivos principalmente: 1) debido a la presencia de una polisensibilización a diferentes fuentes

alergénicas o; II) debido a la presencia de una reactividad cruzada, en la que los anticuerpos IgE producidos originalmente contra un componente alergénico determinado pueden unirse a componentes con una estructura homóloga, pero presentes en una fuente alergénica diferente. Un ejemplo serían los pacientes alérgicos al polen del abedul (cuyo componente alergénico principal es la proteína Bet v 1), los cuales pueden presentar reacciones alérgicas al entrar en contacto con pólenes de árboles como el castaño, avellano, haya o roble; puesto que están relacionados evolutivamente. Sin embargo, esto no explica el fenómeno de reactividad cruzada entre especies de plantas no relacionadas evolutivamente. Así, continuando con el ejemplo, se han identificado homólogos al Bet v1 en frutas rosáceas, legumbres, frutos secos y semillas. Para explicar este fenómeno es necesario analizarlo desde una perspectiva alergénica a nivel molecular, de modo que la clasificación molecular ofrece la posibilidad de explicar la alergia a múltiples alérgenos polínicos y alérgenos alimentarios relacionados con el polen, por ello las moléculas alergénicas se han integrado en familias según sus similitudes estructurales (9). A continuación, se explicarán más detalladamente los tipos de alérgenos.

Tipos de alérgenos

Los alérgenos se pueden clasificar en función de su naturaleza o de la forma en la que el paciente se expone a ellos, diferenciándose en: aeroalérgenos, tales como pólenes, hongos, ácaros, epitelios de animales; alérgenos por vía digestiva, como alimentos o medicamentos; o alérgenos inyectados por picadura de insectos(10).

Las moléculas alergénicas son proteínas, habitualmente de bajo peso molecular, capaces de inducir la respuesta del sistema inmunitario y la síntesis de anticuerpos tipo IgE, sensibilizando de este modo a las personas potencialmente alérgicas. Como ya se ha comentado, tras un segundo contacto con el alérgeno, el paciente previamente sensibilizado manifiesta los síntomas de la alergia al provocar éste la degranulación de las células efectoras, mastocitos y eosinófilos.

El organismo reconoce los alérgenos a través de una unión antígeno – anticuerpo, posible gracias a un reducido grupo de aminoácidos presente en la proteína alergénica, denominados epítomos o determinantes antigénicos. Es importante tener en cuenta que en las proteínas alergénicas hay moléculas propias de la fuente alergénica, que se identifican como marcadores de sensibilización genuina denominados componentes alergénicos, y moléculas de reactividad cruzada presentes en múltiples fuentes alergénicas diferentes, relacionadas o no taxonómicamente, y que, debido a su elevada similitud en la secuencia de aminoácidos, son capaces de inducir reactividad cruzada frente a diferentes extractos alergénicos denominados panalérgenos.

Panalérgenos

Tal y como se ha comentado, la mayoría de los alérgenos corresponden estructuralmente a proteínas o polipéptidos, algunos de los cuales son muy similares entre distintas especies, ya que poseen estructuras muy conservadas y otras más diferentes y específicas de la fuente alergénica.

De entre la gran variedad de alérgenos existentes, el presente estudio se va a centrar en la familia de los panalérgenos, proteínas presentes en múltiples fuentes alergénicas y responsables de provocar reactividad cruzada entre especies no relacionadas. Este efecto de la reactividad cruzada se produce ante el reconocimiento de distintos alérgenos por un mismo anticuerpo IgE, lo cual es posible ya que la IgE reconoce en la proteína alergénica tan solo un limitado número

de aminoácidos, denominado epítipo. Por ello es suficiente con que dos proteínas alergénicas presenten una similitud parcial en su secuencia de aminoácidos para que se produzca el fenómeno de reactividad cruzada.

Los panalérgenos son moléculas ubicuas en la naturaleza con una estructura que se ha conservado a lo largo de la evolución, por lo que comparten una gran similitud entre diferentes fuentes. Están distribuidas ampliamente tanto en el reino animal como en el vegetal, presentan funciones biológicas importantes y provocan diferentes síndromes de reactividad cruzada. Las principales familias de panalérgenos así como sus principales características se recogen en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Características de los principales panalérgenos

Alérgeno	Función	Características	Localización	Reactividad cruzada
Profilinas	Proteína del citoesqueleto de las células eucariotas	Termolábil	Casi todas las plantas (pólenes y alimentos)	Pólenes y alimentos
PR-10	Proteínas de defensa, localizadas en piel y pulpa	Destruídas con cocción y digestión	Norte de Europa, polinización del abedul	Sdme polen (abedul) - frutas
Polcalcina	Unión al calcio		Polen de gramíneas, árboles y malezas	Polisensibilizados a pólenes
Tropomiosina	Músculo de las células eucariotas	Termoestable	Alérgeno mayor de los crustáceos	Marisco, ácaros, insectos y anisakis
CCD	Determinantes de carbohidratos		Alimentos vegetales y polen	Sdme polen- frutas
Taumatina	Proteínas de defensa	Resiste a cocción y digestión		Sdme de alergia oral y anafilaxia
LTP	Proteína de transferencia de lípidos	Termoestable. Resiste proteólisis	Rosáceas, pólenes	Anafilaxia por alimentos
Albúmina	Proteína sérica		Leche, carne, epitelios	Legumbres, frutos secos y especias
Quitinasas	Proteínas de defensa	Termolábil. Resiste proteólisis	Látex, fruta, vegetales	Síndrome látex-frutas

Tabla basada en: *Echevarria Zudaire LÁ. Novedades En Diagnóstico Y Prevención Alergia Alimentaria. Curso Actualización AEPAP 2018. 2018;145-57.*

Las distintas proteínas panalergénicas se agrupan en familias según sea su estructura y características físico- químicas, y esto a su vez condiciona su riesgo a originar reacciones más o menos graves. Por ejemplo, las profilinas, que pertenecen a familias con alta labilidad al calor o la digestión, producen cuadros más leves y localizados, como son el síndrome de alergia oral; mientras que otras proteínas más resistentes al calor o degradación enzimática, como son las proteínas transportadoras de lípidos, llegan a la circulación sistémica pudiendo producir cuadros graves de anafilaxia.

La denominación de los diferentes componentes alergénicos se realiza según la *International Union of Immunological Societies, Allergen Nomenclature Sub- Committee (IUIS)*, de forma que las tres primeras letras corresponden al nombre en latín de la fuente alergénica, la cuarta representa la primera letra del segundo nombre de la fuente y finalmente se añade un número

indicando el orden en el que fueron identificados los componentes; un ejemplo sería el panalérgeno Ara h 9, presente en el cacahuete, cuyo nombre en latín es *Arachis hipogea* (11).

Síndromes de reactividad cruzada

Tal y cómo se ha mencionado, el concepto de reactividad cruzada hace referencia a la presencia de manifestaciones clínicas alérgicas al entrar en contacto con una fuente alérgica sin que se haya producido una exposición previa a ésta. Uno de los factores fundamentales para que este fenómeno se lleve a cabo es la similitud secuencial entre proteínas de diferentes fuentes alérgicas, responsables de esta interacción, lo que ocurre entre las proteínas incluidas en las diferentes familias de panalérgenos anteriormente descritas (12). La expresión clínica de los pacientes que presentan síndromes de reactividad cruzada varía mucho, ya que depende de factores como la alergenidad de la proteína, su composición físico- química, temperatura, pH, etc. Y factores ambientales, como las condiciones de conservación y almacenaje, el grado de maduración del alimento, el nivel de exposición al alérgeno, etc.

Se pueden dar síndromes de reactividad cruzada entre alérgenos inhalantes y alimentos, lo cual suele ocurrir en pacientes sensibilizados a aeroalérgenos, principalmente pólenes, ácaros o epitelios de modo que estos pacientes desencadenan una reacción alérgica al entrar en contacto con determinados alimentos vegetales o animales no relacionados biológicamente. Por otro lado, también se han descrito síndromes de reactividad cruzada entre alimentos vegetales de familias taxonómicamente relacionadas. El presente estudio se ha centrado en analizar dos familias de alérgenos, con alta prevalencia en el área mediterránea: las Proteínas de Transferencia de Lípidos (LTP, del inglés *Lipid Transfer Protein*) y las Taumatinas, responsables de provocar síndromes de reactividad cruzada que pueden ser de alta gravedad para el paciente.

Proteínas de Transferencia de Lípidos (LTP)

La familia de las LTP está formada por proteínas de defensa de amplia distribución en el reino vegetal y debe su nombre a su capacidad para unir lípidos y transferirlos entre distintos sistemas de membranas. Estas proteínas se localizan fundamentalmente en la parte externa de diversas frutas, como rosáceas (melocotón, manzana, fresa, ciruela, cereza, etc.), uva, kiwi, plátano, cítricos (naranja, mandarina, limón); vegetales como lechuga, tomate, espárrago, cereales, frutos secos (castaña, avellana, cacahuete), así como pólenes de olivo, plátano de sombra, ciprés y otros.

El contenido de LTP en estos vegetales se localiza principalmente en la piel y su cantidad depende de varios factores, como son su madurez, almacenaje y tratamientos recibidos, por lo que la alergenidad es variable. Una de las características principales de estos alérgenos es su alta resistencia a la hidrólisis por enzimas digestivas, así como a la hidrólisis térmica o al procesamiento con microondas o ultrasonidos, lo que permite a estas proteínas sensibilizar tanto por vía digestiva como por vía inhalada, debido a la reactividad cruzada que presentan con alérgenos homólogos de pólenes (13). Los pacientes sensibilizados a las LTP presentan un perfil muy heterogéneo de modo que existen pacientes únicamente sensibilizados a vegetales ricos en LTP, principalmente a frutas rosáceas como el melocotón (Pru p 3), mientras que otros pueden estar sensibilizados únicamente a alérgenos del polen y finalmente un tercer grupo de pacientes en los que se puede desencadenar una reacción alérgica a alimentos que contengan LTP en un contexto de sensibilización a estas proteínas presentes en el polen. Esta sensibilización puede provocar una amplia variedad de síntomas, desde síndrome de alergia oral hasta síntomas digestivos o sistémicos, incluyendo la anafilaxia. La gravedad de la sintomatología

clínica, la asociación a cofactores y la dificultad de prever a cuántas proteínas LTP está sensibilizado un paciente hacen de esta población un grupo de pacientes con alergia alimentaria de alto riesgo.

Se ha producido, durante la última década, un avance en el tratamiento de estos pacientes desde el campo de la inmunoterapia específica, administrada por vía oral, sublingual o epicutánea. Los estudios publicados hasta la fecha revelan resultados prometedores, mejorando en estos pacientes la tolerancia a diversos alimentos ricos en LTP. Esta inmunoterapia se indica principalmente en pacientes con reacciones graves o alergias múltiples que conviven con dietas muy restrictivas.

Taumatinas

Las taumatinas (TLP del inglés *Thaumatococcus-Like Proteins*) son polipéptidos de unos 200 aminoácidos que deben el nombre a su elevada similitud de secuencia con la taumatina, una proteína que confiere sabor dulce y que fue descrita originalmente en el arbusto *Thaumatococcus daniellii*.

Estas proteínas alergénicas presentan importante prevalencia en el área mediterránea, pertenecen al grupo 5 de proteínas relacionadas con la patogénesis, familia PR-5, y su expresión en vegetales está inducida por infecciones de patógenos como virus, bacterias y hongos, o por condiciones adversas ambientales como el estrés osmótico. Las taumatinas están presentes en pólenes, cereales y frutos secos, además de diversas frutas y verduras como kiwi, plátano, cereza, manzana, melocotón, uva, pimiento, lechuga o col. Son proteínas estables y resistentes a altas temperaturas y digestión enzimática por lo que permanecen intactas en alimentos procesados pudiendo provocar en el paciente desde un síndrome de alergia oral hasta una reacción anafiláctica. Aunque la literatura existente hasta la fecha pone de manifiesto su notable prevalencia y potencial alérgico en España, actualmente el diagnóstico de sensibilización a taumatinas es limitado ya que únicamente se dispone de dos extractos purificados, la proteína nAct d2, procedente del kiwi y la mMal d2, procedente de la manzana, lo que limita el diagnóstico de los pacientes sensibilizados a las taumatinas (14).

Diagnóstico molecular

Tradicionalmente, el diagnóstico de la alergia IgE mediada se ha realizado utilizando extractos completos de fuentes alergénicas, los cuales presentan dos principales limitaciones: Por un lado, su difícil estandarización en cuanto al contenido; y, por otro, la diversidad de moléculas de diferente naturaleza, cuya cantidad fluctúa en función del origen de la materia prima, el momento de extracción y el procedimiento mediante el que esta se ha llevado a cabo.

Como ya se ha mencionado, las proteínas alergénicas están formadas por moléculas propias de la fuente alergénica y moléculas de reactividad cruzada denominadas panalérgenos. Por tanto, al emplear en el diagnóstico extractos alergénicos completos, no es posible diferenciar si la prueba positiva se debe a una sensibilización genuina a una fuente alergénica particular o si se trata de un fenómeno de reactividad cruzada. Es por esto por lo que el diagnóstico molecular por componentes ha supuesto un gran avance en el área de la Alergología en esta última década, ya que ha permitido verificar si los pacientes polisensibilizados están verdaderamente sensibilizados a alérgenos específicos de diferentes fuentes alergénicas o si por el contrario están sensibilizados a panalérgenos y lo que padecen es un síndrome de reactividad cruzada.

Además, el diagnóstico molecular ha supuesto un importante avance en el ámbito de la alergia por distintas razones, ya que permite distinguir pacientes con alergia leve de otros en riesgo de padecer reacciones graves, permite detectar sensibilizaciones a alérgenos insospechados, ofrece la posibilidad de optimizar la indicación de inmunoterapia y además posibilita establecer determinados patrones específicos para diferentes áreas geográficas (15).

Las técnicas para el diagnóstico in vitro de IgE específica más frecuentemente usadas son los ensayos tipo *Immuno-CAP*, en los que la unión antígeno-anticuerpo se revela mediante anticuerpos específicos ligados a un marcador fluorescente. Como ya se ha comentado previamente, estas pueden llevarse a cabo mediante plataformas de análisis *singleplex*, en las que sólo es posible analizar la presencia de IgE específica frente una molécula alérgica por ensayo, o *multiplex*, que permiten la determinación de IgE específica frente a una gran cantidad de componentes alérgicos a la vez. Actualmente se emplean principalmente plataformas basadas en el uso de *microarrays* que contienen un gran número de moléculas alérgicas, tanto específicas como de reactividad cruzada. Estas plataformas permiten un multi- diagnóstico por componentes accesible a profesionales cualificados y son una herramienta informativa que puede abrir nuevas puertas al actual conocimiento acerca de los mecanismos de sensibilización. Actualmente la plataforma más empleada es la denominada ISAC, la cual ha estado disponible desde el año 2001. Pero recientemente se ha comercializado otra técnica, denominada ALEX, la cual contiene un *microarray* más amplio. El presente estudio se ha centrado en comparar estas dos plataformas que se detallan más concretamente a continuación y cuyo proceso para la detección de IgE específica queda reflejado en el apartado de material y métodos.

[Immuno CAP ISAC \(Thermo Fisher Scientific Inc.\)](#)

A día de hoy, uno de los *arrays* más empleado es la prueba de IgE específica *multiplex* denominada ISAC (del inglés, *Immuno Solid- Phase Allergen Chip*). Esta prueba consiste en un *microarray* de componentes alérgicos en fase sólida, en el que dichos componentes están químicamente preactivados e inmovilizados en el fondo de un pocillo en un portaobjetos de vidrio mediante un proceso realizado industrialmente denominado punteado. El *array* ISAC permite la determinación de IgE específica de un total de 112 alérgenos específicos o panalérgenos de más de 50 fuentes alérgicas diferentes.

[ALEX² \(Allergy Explorer\)](#)

En el pasado año 2019 se introdujo en el mercado una nueva técnica de análisis *multiplex* llamada ALEX² (del inglés, *Allergy Explorer de Macroarray Diagnostic*), la cual permite la detección simultánea de IgE total y específica contra un total de 295 alérgenos, siendo 117 extractos alérgicos y 183 componentes moleculares. El funcionamiento es similar al descrito para ISAC, pero con la peculiaridad de disponer de una matriz de alérgenos más amplia y con la posibilidad de detectar tanto IgE total como IgE específica frente a extractos alérgicos como componentes moleculares, todo ello en un mismo ensayo (16).

OBJETIVOS

En la actualidad, el diagnóstico de sensibilización a distintos alérgenos en los pacientes polisensibilizados pasa por la realización de un número muy elevado de determinaciones de IgE específica frente a distintos alérgenos, cuyo resultado resulta en ocasiones de difícil interpretación y además supone un elevado gasto sanitario. Las técnicas de cribado de polisensibilización basadas en *microarrays* permiten la determinación simultánea de IgE específica frente a un amplio número de alérgenos específicos. Estas técnicas permiten, además, evaluar la presencia de panalérgenos, lo cual tiene gran trascendencia a la hora de aconsejar la evitación de distintos grupos de alimentos, de evaluar la importancia clínica de los alérgenos inhalados o de programar una inmunoterapia específica con alérgenos.

La técnica de *microarrays* disponible actualmente en el Servicio de Inmunología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa es la denominada InmunoCAP ISAC, que cuenta con una matriz de 112 componentes; pero recientemente ha salido al mercado otro array denominado ALEX², que cuenta con un panel de alérgenos y componentes ampliado. Es por ello que en el presente estudio se ha planteado la comparación de ambas pruebas diagnósticas, así como la correlación de los resultados obtenidos en estas con la clínica padecida por los pacientes a estudio.

De esta forma, se busca determinar si existe asociación entre la obtención de un mayor nivel de IgE específica en el *microarray* y una clínica más grave en esos pacientes; y de así serlo cuál de las dos técnicas detecta mejor esta relación.

Objetivo general

El presente estudio tiene como objetivo principal evaluar la detección de IgE específica obtenida por dos técnicas de *microarrays*: InmunoCAP ISAC y ALEX², en pacientes sensibilizados a múltiples alérgenos.

Objetivos específicos

Los objetivos concretos del presente trabajo son:

1. Analizar los perfiles de determinación de IgE específica frente a distintos alérgenos en pacientes alérgicos polisensibilizados empleando dos técnicas de cribado de polisensibilización basadas en el empleo de *microarrays*.
2. Analizar la correlación y concordancia de los resultados en la determinación de IgE específica frente a distintos alérgenos en pacientes alérgicos polisensibilizados empleando dos técnicas de cribado de polisensibilización basadas en el empleo de *microarrays*.
3. Analizar la correlación de los resultados en la determinación de IgE específica frente a distintos alérgenos con la sintomatología en pacientes alérgicos polisensibilizados empleando dos técnicas de cribado de polisensibilización basadas en el empleo de *microarrays*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

El presente trabajo es un estudio observacional longitudinal prospectivo de una cohorte de pacientes alérgicos polisensibilizados controlados en el Servicio de Alergología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza.

El periodo de reclutamiento estuvo comprendido entre marzo y octubre del 2022, en el cual se incluyeron para el estudio aquellos pacientes que cumplieron con el siguiente criterio de inclusión:

- Pacientes que acuden a la consulta de Alergología por síntomas compatibles con alergia respiratoria y/o alimentaria y presentan pruebas cutáneas intraepidérmicas positivas a dos o más alérgenos.

Así mismo, se excluyeron aquellos pacientes que presentaron pruebas cutáneas intraepidérmicas negativas o positivas a un único alérgeno.

Se seleccionaron para el estudio los primeros 40 pacientes consecutivos que cumplieron el criterio de inclusión previamente descrito. Durante la realización de las pruebas, en uno de los pacientes no se pudo realizar el *microarray* ALEX² por problemas técnicos, por lo que finalmente el estudio incluye 39 pacientes.

El suero de estos pacientes fue en un primer momento analizado mediante la técnica analítica ImmunoCAP ISAC, ya que es el método de diagnóstico molecular actualmente incluido en la Cartera de Servicios del Servicio de Inmunología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, y posteriormente se informó a los pacientes a estudio del empleo de sus muestras para ser analizado con otro método de detección de IgE específica, la técnica ALEX².

Definición de variables

Manifestaciones clínicas

Para cada uno de los pacientes a estudio se recogieron los datos clínicos correspondientes a los síntomas padecidos al entrar en contacto con frutas, en concreto identificando si presentaban: síndrome de alergia oral, urticaria, angioedema, rinitis-conjuntivitis, asma, cólico abdominal, hipotensión o shock anafiláctico.

Posteriormente, para simplificar el análisis estadístico, se decidió la agrupación de estos síntomas en cuatro grados, expuestos en la tabla 2.

Tabla 2. Grados de sintomatología

Grado	0	1	2	3
Síntomas	No síntomas	Síndrome de alergia oral	Urticaria o angioedema	Shock o anafilaxia

Pruebas analíticas

Tal y como se ha mencionado previamente, las muestras de suero de los pacientes incluidos en el estudio fueron analizadas por dos técnicas de detección de IgE específica basadas en el empleo de *microarrays*, ImmunoCAP ISAC y ALEX², anteriormente descritas en el apartado de introducción, y cuyas técnicas de realización pasan a detallarse a continuación de manera más precisa.

Esta técnica se basa en el empleo de un *microarray* que contiene 112 componentes moleculares diferentes, los cuales interaccionan con la IgE específica presente en el suero del paciente.

El análisis consta de dos fases, una primera en la que se pone en contacto el suero del paciente con los alérgenos presentes en el *array* situado en el portaobjetos para permitir la generación de la reacción antígeno- anticuerpo y una segunda en la que se añade un anticuerpo anti- IgE conjugado con un fluorocromo que permitirá la detección de las IgE específicas adheridas a las moléculas alergénicas cuantificando la fluorescencia generada. Finalmente se procesan las imágenes cuantificando la fluorescencia obtenida, lo que indica las concentraciones de IgE adheridas a cada uno de los componentes alergénicos. Para ello se emplea un programa de análisis, el *Microarray Analyzer* (MIA), que procesa la imagen obtenida y elabora un informe enumerando los resultados de los componentes alergénicos detectados en unidades internacionales estandarizadas ISAC (ISU), que se representan en un rango de 0,3 a 100, ofreciendo una indicación semi-cuantitativa de las concentraciones de IgE específica (17).

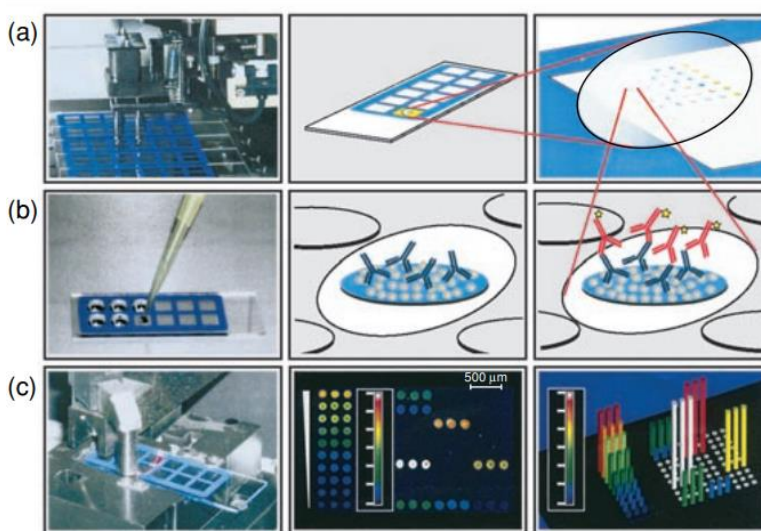


Figura 2. Análisis molecular mediante el chip de alérgenos en fase sólida ISAC 112®. De: Harwanegg C, Laffer S, Hiller R, Mueller MW, Kraft D, Spitzauer S, et al. *Microarrayed recombinant allergens for diagnosis of allergy. Clin Exp Allergy. 2003;33(1):7–13.*

- (a) Proceso de “punteado” de la Micromatriz en un portaobjetos de vidrio.
- (b) Incubación del suero del paciente con las moléculas alergénicas y unión de los anticuerpos anti- IgE conjugados con fluorocromo.
- (c) Análisis de la fluorescencia generada en el *microarray* por un escáner láser.

ALEX²

Este *microarray* contiene un total de 295 reactivos (117 extractos de alérgenos y 183 componentes moleculares) depositados en una membrana de nitrocelulosa. El proceso analítico comienza recubriendo el portaobjetos con 0,5 ml de suero del paciente, diluido a una concentración 1:5, con una solución que incluye un inhibidor de Determinantes de Carbohidratos Cruzados Reactivos (CCD). Tras la incubación con el suero, los chips se lavan y se incuban con un anticuerpo de detección de IgE humana conjugado con fosfatasa alcalina. Después de otro ciclo de lavado se añade el sustrato enzimático y pasados unos minutos se completa la reacción que se mide con una cámara de dispositivo de carga acoplada (CCD). Un software

digitaliza las imágenes obtenidas y redacta un informe, enumerando los extractos y componentes alérgenos detectados, así como su valor en kUA/L⁽¹⁴⁾.

Datos analíticos

Los datos analíticos que se recogieron inicialmente fueron los de la IgE específica contra los diferentes componentes alérgenos comunes analizados en los dos *microarrays* empleados en el estudio, ImmunoCAP ISAC® y ALEX², los cuales se enumeran en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Alérgenos comunes en ISAC® y ALEX²

Act d 1	Bet v 2	Der p 1	Lep d 2
Act d 2	Bla g 1	Der p 10	Mal d 1
Act d 5	Bla g 2	Der p 2	Mer a 1
Aln g 1	Bla g 5	Der p 23	Mus m 1
Alt a 1	Blo t 5	Equ c 1	Ole e 1
Alt a 6	Bos d 4	Equ c 3	Ole e 7
Amb a 1	Bos d 5	Fag e 2	Ole e 9
Ana o 2	Bos d 6	Fel d 1	Par j 2
Ana o 3	Bos d 8	Fel d 2	Pen m 1
Ani s 1	Can f 1	Fel d 4	Pen m 2
Ani s 3	Can f 2	Gad c 1	Pen m 4
Api g 1	Can f 3	Gal d 1	Phl p 1
Ara h 1	Can f 4	Gal d 2	Phl p 12
Ara h 2	Can f 6	Gal d 3	Phl p 2
Ara h 3	Che a 1	Gal d 5	Phl p 5
Ara h 6	Cla h 8	Gly m 4	Phl p 6
Ara h 8	Cor a 1.0401	Gly m 5	Phl p 7
Ara h 9	Cor a 14	Gly m 6	Pla a 1
Art v 1	Cor a 8	Hev b 1	Pla a 3
Art v 3	Cor a 9	Hev b 3	Pla l 1
Asp f 1	Cry j 1	Hev b 5	Pru p 3
Asp f 3	Cup a 1	Hev b 6.01	Sal k 1
Asp f 6	Cyn d 1	Hev b 8	Ses i 1
Ber e 1	Der f 1	Jug r 1	Tri a 14
Bet v 1	Der f 2	Jug r 3	Tri a 19.0101
			Tri a aA_TI

Los datos correspondientes a los 101 componentes alérgenos específicos indicados en la **Tabla 3** se emplearon para hacer el estudio descriptivo de los resultados obtenidos.

Debido a la gran cantidad de familias alérgicas y a la imposibilidad de analizar todas ellas en el presente trabajo, se decidió seleccionar aquellas moléculas alérgicas pertenecientes a las familias de las LTP y de las taumatinas, puesto que son algunos de los componentes más frecuentemente implicados en síndromes de reactividad cruzada en nuestro medio y cuyo estudio puede ser de importancia para el correcto diagnóstico de pacientes polisensibilizados. En un primer momento, al realizar el análisis de la concordancia entre ambas técnicas diagnósticas, se estudiaron los datos obtenidos para el total de moléculas pertenecientes a la familia de las LTP y la taumatina. Posteriormente, al analizar la relación entre la cantidad de IgE específica obtenida y la clínica padecida por los sujetos, se decidió seleccionar un menor número de moléculas de LTP estudiando las 4 que mayor cantidad de positivos presentaban; estos componentes pasan a detallarse en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Moléculas de la familia de las LTP

Moléculas totales	LTP				
	Ara h 9 Art v 3	Jug r 3 Cor a 8	Ole e 7 Tri a 14	Par j 2 Pru p 3	Pla a 3
Moléculas seleccionadas	Ara h 9	Pru p 3	Cor a 8	Pla a 3	

Respecto a la familia de las Taumatinas, al contar con una única molécula común en ambas técnicas (Act d 2), se analizó de igual manera en los diferentes test estadísticos.

Análisis estadístico

En primer lugar, se realizó un análisis estadístico descriptivo de los resultados obtenidos tras la determinación de IgE específica frente a los alérgenos incluidos en las dos técnicas de cribado de polisensibilización empleadas en el estudio (ImmunoCAP ISAC® y ALEX²). Tal y como se ha mencionado y dado el gran número de variables a estudiar, en el presente trabajo se seleccionaron los componentes alérgenos pertenecientes a las familias de las LTP y de las taumatinas.

En segundo lugar, se realizó un análisis comparativo de los resultados de la determinación de IgE específica frente a los alérgenos incluidos en las dos técnicas de cribado de polisensibilización empleadas en el estudio distribuidos en las siguientes familias de panalérgenos: LTP, PR-10, taumatinas, profilinas y tropomiosinas. Al tratarse de dos variables cuantitativas y continuas, se analizó el grado de correlación mediante el coeficiente de determinación R^2 , cuyo valor mide la fuerza de asociación entre ambas técnicas, que aumentará conforme más próximo esté de 1.

Posteriormente, se estudió la concordancia entre las dos técnicas de detección de IgE específica; para ello se calculó el coeficiente kappa de Cohen para los componentes alérgenos pertenecientes a la familia de las LTP y taumatinas presentes en ambos *arrays*. Para el cálculo de los índices kappa se agruparon los datos de IgE específica obtenidos según diferentes niveles de sensibilización descritos previamente que se recogen en la **Tabla 5** (18).

Tabla 5. Niveles de sensibilización

Clase	Cantidad de IgE (KU/L)	Nivel de sensibilización
0	<0,35	Indetectable
1	0,35 a <0,7	Bajo
2	0,7 a <3,5	Moderado
3	3,5 a <17,5	Alto
4	≥17,5	Muy alto

Los resultados del análisis Kappa se interpretaron de la siguiente manera: k: 0-0,20: no concordancia; 0,21-0,40: concordancia leve; 0,41-0,60: concordancia moderada; 0,61-0,80: concordancia elevada; y 0,81-1,00: concordancia casi perfecta.

En tercer lugar, se ha estudiado la relación entre los niveles de IgE específica para los componentes alérgenos de la familia de las LTP y taumatina obtenidos en las técnicas de diagnóstico molecular ISAC y ALEX con los cuadros clínicos relacionados tras la ingesta de frutas que padecen los pacientes a estudio.

Antes de seleccionar los diferentes test estadísticos a emplear, se estudió la distribución de las variables a analizar para establecer si estas seguían o no una distribución normal. Al contar con un tamaño muestral pequeño ($n < 50$) se aplicó el test *Shapiro-Wilk*, el cual se plantea como hipótesis nula (H_0) que los valores sigan una distribución normal. Tras realizar el test, los valores de p obtenidos fueron de $< 0,001$. Puesto que resultaron menores al nivel de significación establecido ($p > 0,05$), se rechazó la hipótesis nula, lo cual supone que las variables no siguen una distribución normal, por lo que se deben emplear en el análisis estadístico test no paramétricos.

En primer lugar, se realizó la prueba U de *Mann-Whitney*, que permite comparar la media de una variable dependiente y determinar si existen diferencias en dos grupos independientes. Se empleó para valorar si existían diferencias, en la media de los valores de IgE específica para las 4 LTP seleccionadas y la taumatina, en dos grupos de pacientes, con y sin síntomas.

Posteriormente se realizó el test H de *Kruskal-Wallis*, que permite comparar la varianza de la mediana de una variable entre varios grupos. En este caso se empleó para determinar si había diferencias entre los grupos divididos según la gravedad de su sintomatología (definidos en la Tabla 2) y el número de LTPs que habían resultado positivas en las diferentes técnicas. A la hora de determinar entre que grupos se observaron diferencias significativas, se realizó el análisis post-hoc denominado de *Dwass-Steel-Critchlow-Fligner* (DSCF), en el que se compararon dos a dos los diferentes grados de sintomatología analizando si se observaban diferencias significativas en cuanto al número de LTP positivas.

Para el análisis estadístico, el nivel de significación se fija en $p < 0,05$, y los paquetes de software empleados han sido Excel 2010 Office 365 (Microsoft) y *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versión 22.0 con licencia de la Universidad de Zaragoza.

Consideraciones éticas

El estudio realizado en el presente trabajo ha obtenido el informe dictamen favorable desde el Comité de Ética de la Investigación Clínica de la Comunidad de Aragón (CEICA) con el número de acta 04/2023 (código del proyecto: C.I. PI23/074).

Al tratarse de un estudio observacional longitudinal prospectivo de una cohorte de pacientes alérgicos polisensibilizados controlados en el Servicio de Alergología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza, los datos que se van a emplear provienen de las pruebas realizadas en el Servicio de Inmunología de dicho Hospital, obtenidos a través de la base de datos *Modulab* Laboratorio Versión 3.1.01 (*Werfen*) durante el seguimiento de dichos pacientes. Los datos se someterán a un proceso de pseudoanonimización, por lo que no se considera necesario la solicitud del consentimiento informado.

RESULTADOS

Análisis descriptivo

En primer lugar, se procedió a realizar un análisis descriptivo de los resultados más representativos de los obtenidos tras la realización de las técnicas diagnósticas ISAC y ALEX en el grupo de pacientes a estudio, y para ello se analizó la distribución de los mismos según el número de alérgenos positivos detectados con ambas técnicas diagnósticas (**Figura 3**).

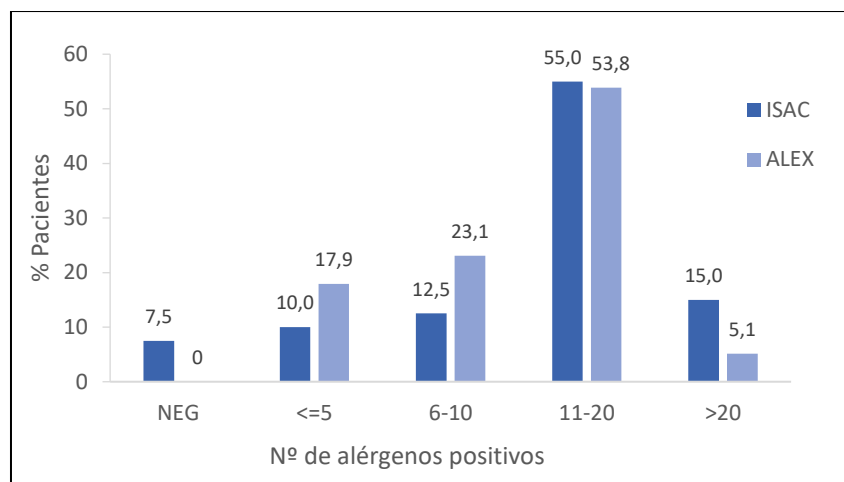


Figura 3. Porcentaje de pacientes según el número de alérgenos positivos en ISAC y ALEX

Como se puede observar en la **Figura 3**, más del 80% de los pacientes presentaron positividad para 6 o más alérgenos con ambas técnicas, de los cuales más del 50% presentan sensibilización a entre 11 y 20 alérgenos de los analizados en estas plataformas.

Posteriormente, se centró el análisis en el estudio de los panalérgenos detectados mediante las técnicas diagnósticas ISAC y ALEX. Para ello se realizó un estudio del porcentaje de componentes alérgénicos positivos respecto al total de componentes alérgénicos analizados en los pacientes incluidos en el estudio distribuidos según la familia de panalérgenos a la que pertenecen detectados en ambas plataformas (**Figura 4**).

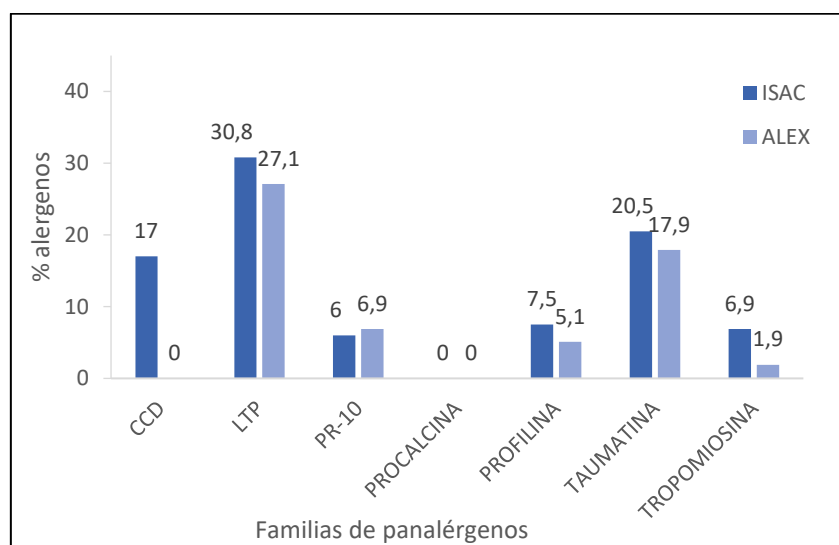


Figura 4. Porcentaje de alérgenos positivos en ISAC y ALEX según familia de panalérgenos

Tal y como muestra la **Figura 4**, las dos familias de panalérgenos en las que se detectaron el mayor número de componentes alérgénicos positivos fueron la familia de las LTP, en la que se detectó en torno a 30% de alérgenos positivos respecto al total de las LTP analizadas en los pacientes incluidos en el estudio en ambas plataformas, y la familia de las taumatinas en la que se detectaron en torno a un 20% de alérgenos positivos sobre el total de taumatinas analizadas en todos los pacientes en ambas plataformas.

Así, posteriormente se realizó el análisis, tanto en la familia de las LTP como en la taumatina, desglosando sus valores según los niveles de sensibilización anteriormente indicados en la sección de Materiales y Métodos (**Figura 5**).

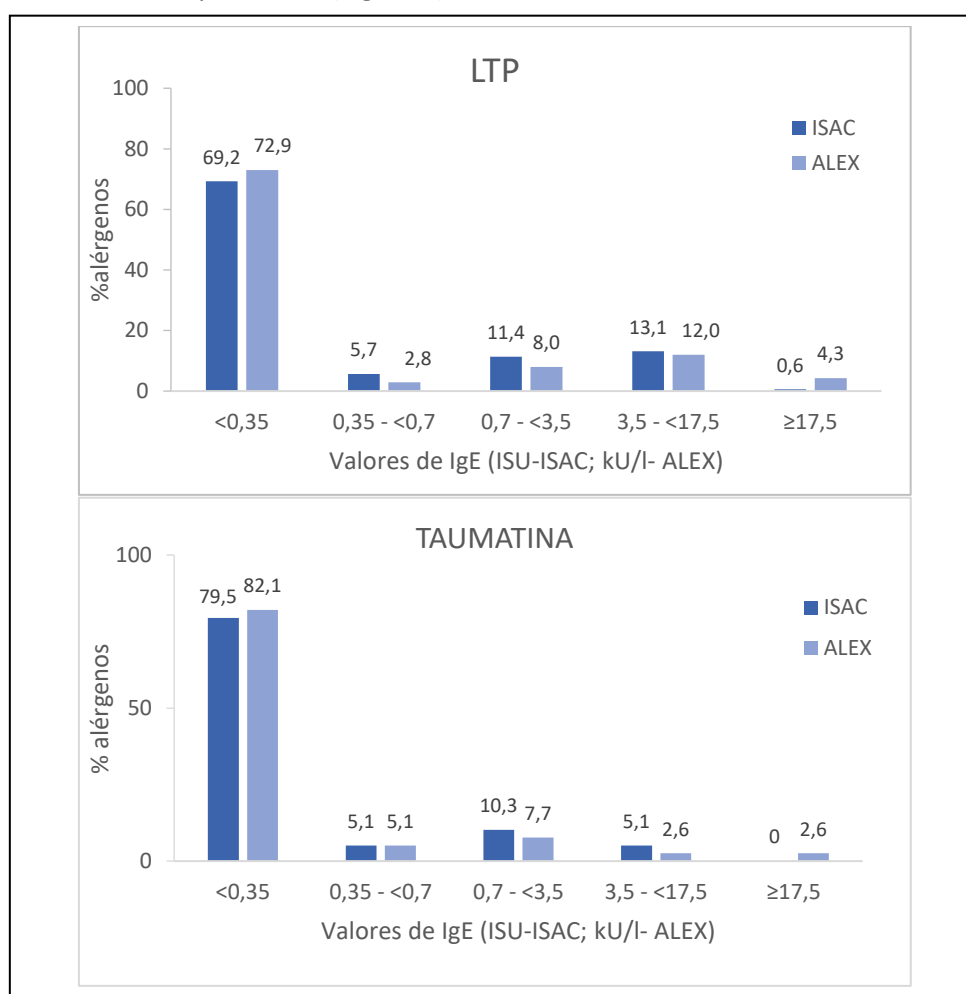


Figura 5. Porcentaje de LTP y Taumatinas distribuidos según valores de sensibilización

En la **Figura 5** se puede observar que, dentro de los alérgenos positivos pertenecientes a la familia de las LTP, los mayores porcentajes se dieron en los valores comprendidos entre 3,5 y 17,5 kU/l, que corresponde al nivel alto de sensibilización (ver Tabla 5 de Material y Métodos). En el caso de la taumatina, los mayores porcentajes de alérgenos positivos en ambas técnicas se dieron en los valores comprendidos entre 0,7 y 3,5 kU/l, que corresponde al nivel moderado de sensibilización (ver Tabla 5 de Material y Métodos). Por otra parte, el porcentaje de los alérgenos positivos dentro de la familia de las LTP incluidos en los grados moderado, alto y muy alto de sensibilización respecto al total de alérgenos positivos dentro de esta familia supuso un 81,5% en la plataforma ISAC y del 87,7% en la plataforma ALEX. En el caso de la taumatina, los porcentajes de alérgenos positivos incluidos en los grados mencionados fueron de 75,1% y 72,1% en las plataformas ISAC y ALEX respectivamente.

Estudio de la concordancia

Posteriormente se realizó un análisis para evaluar la concordancia entre los resultados obtenidos en ambas técnicas, ISAC y ALEX. Este análisis se realizó para los datos de IgE específica obtenidos en las distintas familias de panalérgenos incluidas en ambas plataformas, cuyos valores se muestran en la **Figura 6**.

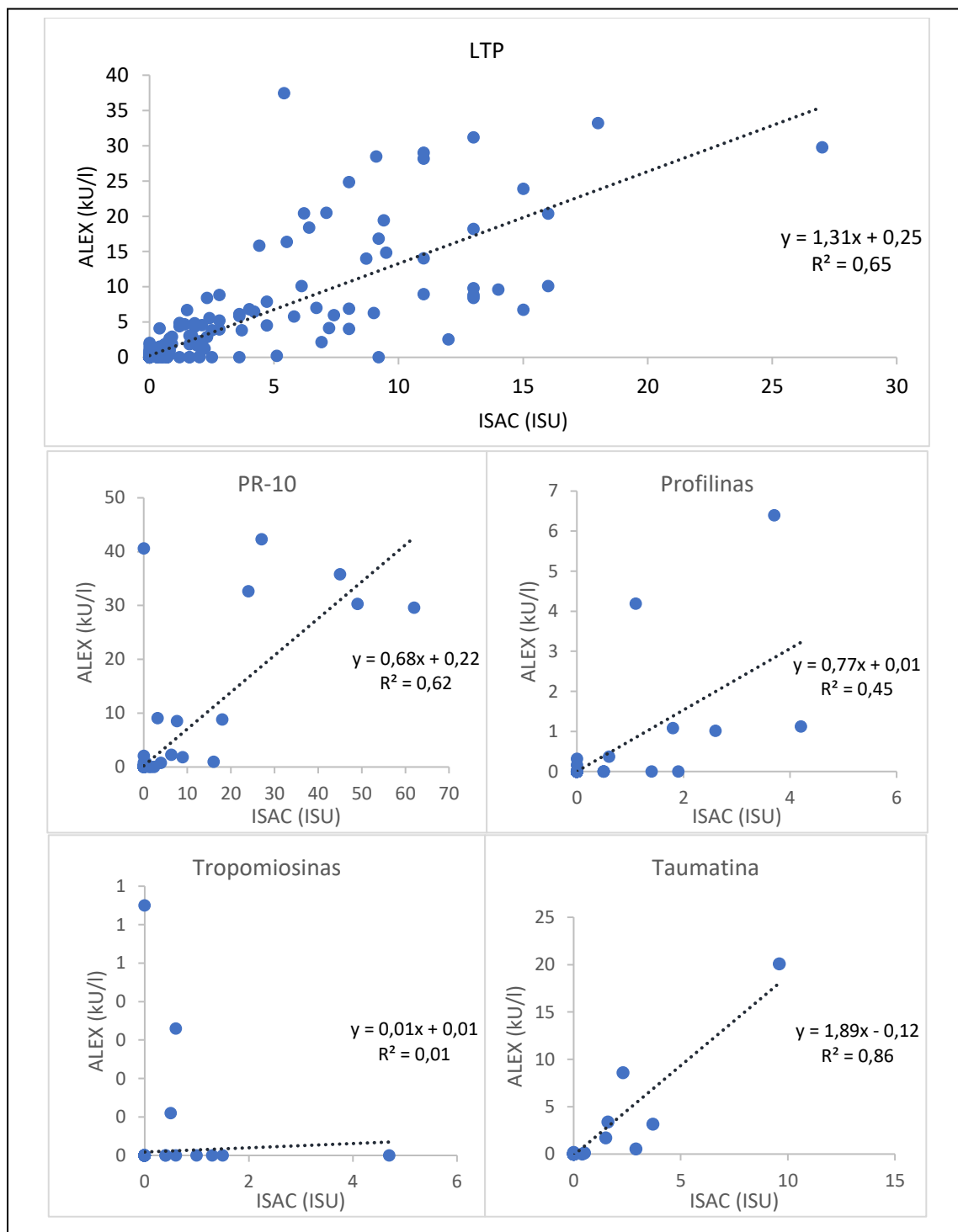


Figura 6. Relación entre ISAC y ALEX para las familias de panalérgenos

Tal y como se muestra en las gráficas de nube de puntos y en los coeficientes de determinación R^2 , la correlación más alta entre ambas plataformas se observó en la taumatina, con un valor de

R^2 de 0,86, lo que indica una óptima correlación entre los resultados obtenidos en ambas plataformas. También se observó una buena correlación en la familia de las LTP y PR-10, con unos valores de R^2 de 0,65 y 0,62 respectivamente. En el caso de la familia de las Profilinas, el valor de R^2 fue de 0,45, lo que indicaba una correlación más débil, mientras que, en el caso de la familia de las tropomiosinas, el valor de R^2 de 0,01 indicaba que la correlación fue prácticamente nula entre estas pruebas.

Dado que la familia de panalérgenos de las LTP es uno de los principales objetos de estudio de este trabajo, se analizó la correlación entre los valores de IgE específica obtenidos con ambas técnicas analíticas, para cada una de las moléculas alergénicas pertenecientes a esta familia incluidas en las plataformas ISAC y ALEX (**Figura 7**).

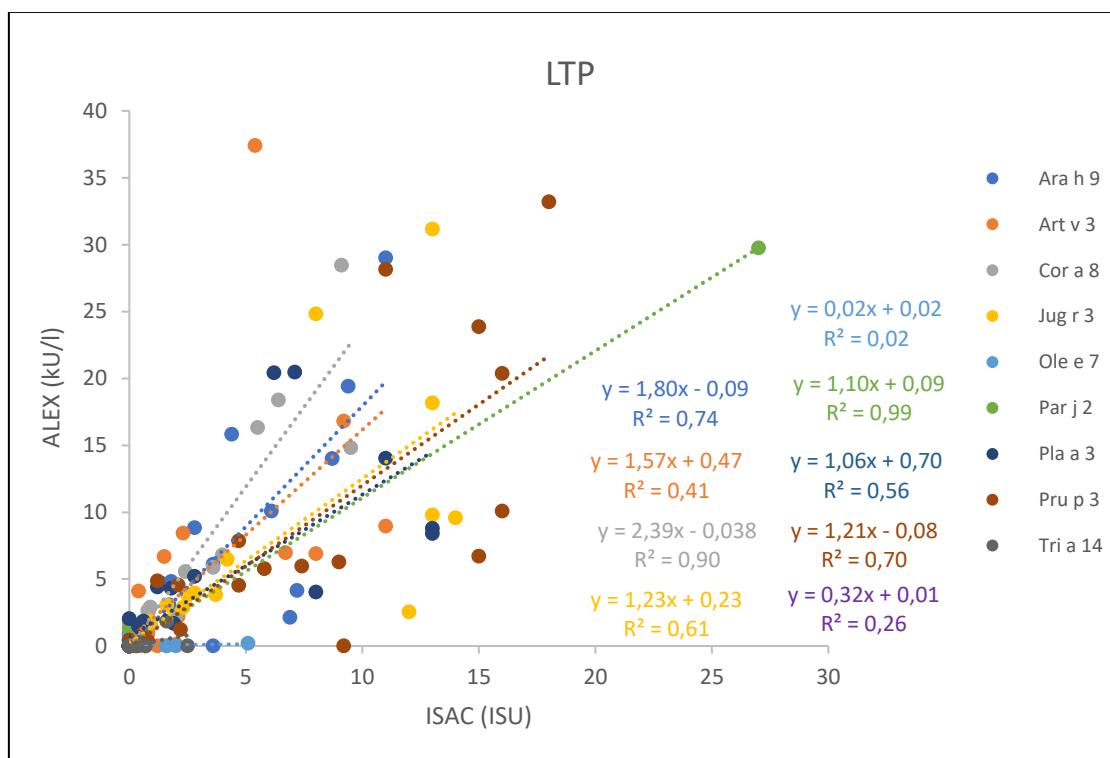


Figura 7. Correlación entre ISAC y ALEX para las moléculas pertenecientes a la familia de las LTP

Tal y como se observa en la **Figura 7**, los componentes alergénicos Par j 2 y Cor a 8 presentaron una fuerte relación entre ambas técnicas, con unos coeficientes de determinación R^2 de 0,99 y 0,90 respectivamente. Por otro lado, los componentes Ara h 9, Pru p 3, Jur r 3 y Pla a 3 presentaron una relación moderada entre ISAC y ALEX, cuyos coeficientes de determinación fueron de 0,74, 0,70, 0,61 y 0,56 respectivamente. Finalmente, los componentes Art v 3, Tri a 14 y Ole e 7 mostraron unos coeficientes de determinación bajos, de 0,41, 0,26 y 0,02 respectivamente.

Posteriormente, se llevó a cabo el análisis estadístico para evaluar la concordancia entre las dos pruebas diagnósticas. Para ello, se calcularon los índices *Kappa* de *Cohen*, que permitieron medir el acuerdo entre los resultados de IgE específica obtenidos para la familia de las LTP y la taumatina. Para su estudio, los valores de IgE se agruparon según los rangos establecidos en el apartado de Material y Métodos (**Figura 8**).

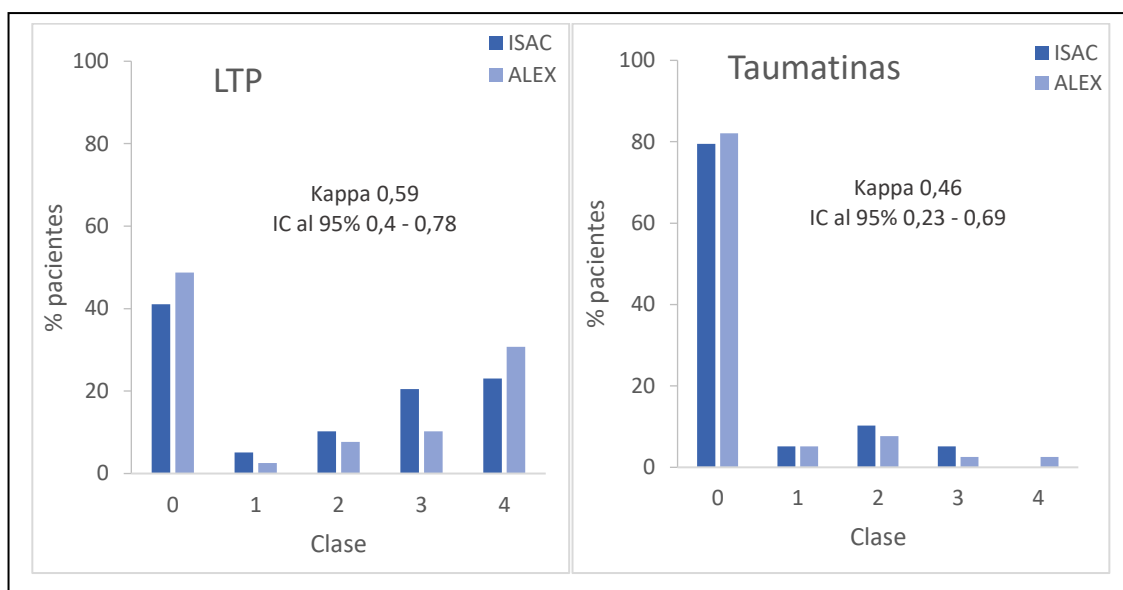


Figura 8. Análisis Kappa de Cohen entre ISAC y ALEX para la familia de las LTP y la taumatina

En la figura 8 se observa que el índice *Kappa* en el análisis de concordancia en la familia de las LTP fue de 0,59 y, en el caso de la taumatina, de 0,46, lo que supone una concordancia moderada entre las dos técnicas empleadas para ambas familias de panalérgenos.

Finalmente, se calcularon los índices *Kappa* para cada uno de los diferentes componentes alérgicos pertenecientes a la familia de las LTP y la taumatina (**Figura 9**).

Se puede observar que los componentes Art v 3, Cor a 8, Jur r 3 y Pru p 3 mostraron una concordancia elevada para las moléculas, con unos índices *Kappa* entre 0,6 y 0,8 mientras que los componentes Ara h 9, Pla a 3, Tri a 14 y Act 2 mostraron una concordancia moderada con índices *Kappa* entre 0,4 y 0,6. Para el componente Par j 2, se observó una concordancia leve con un índice *Kappa* de 0,3; mientras que, en el componente Ole e 7, la concordancia fue nula, con un índice *Kappa* de -0,035.

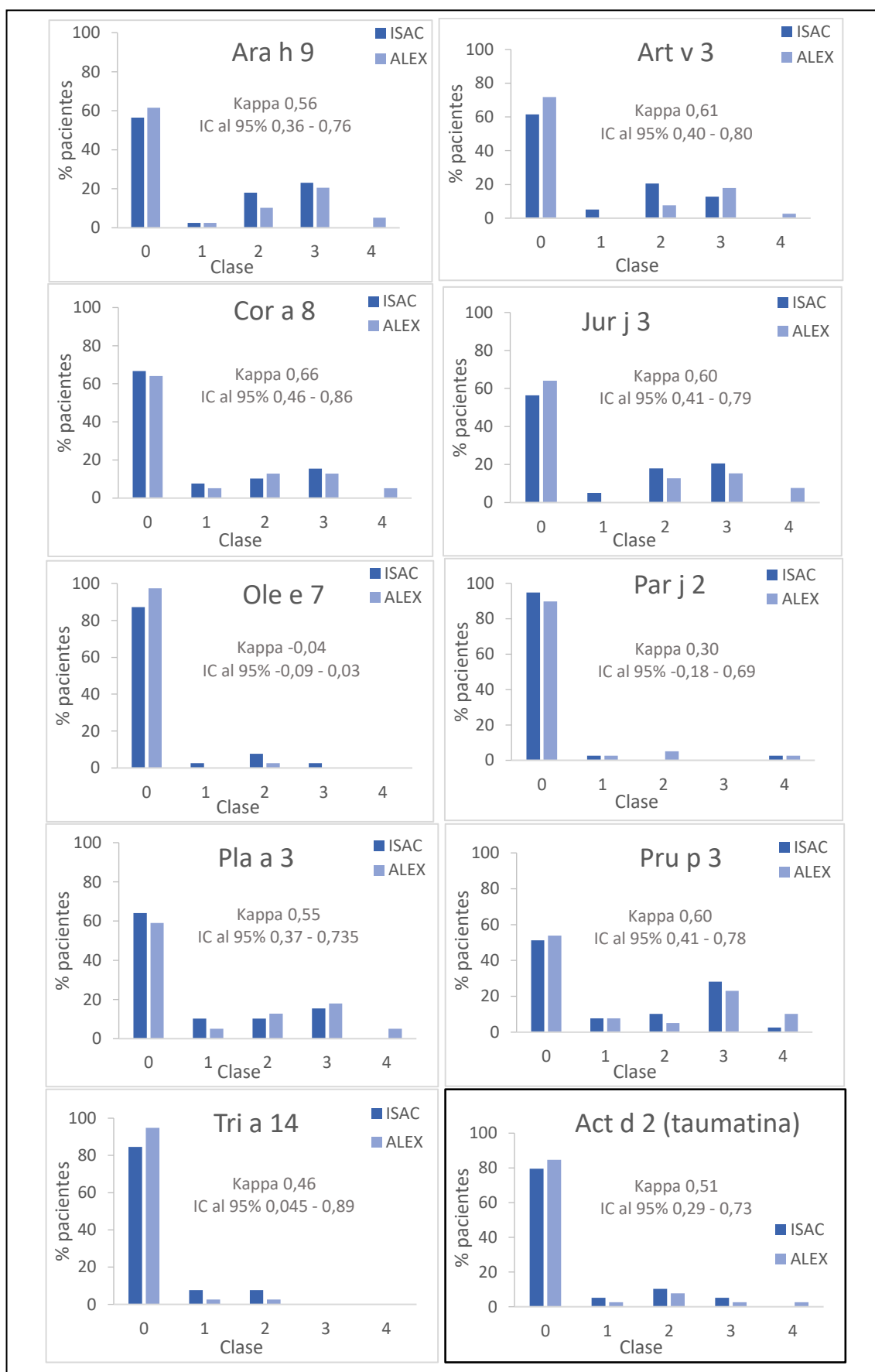


Figura 9. Análisis Kappa de Cohen entre ISAC y ALEX para los alérgenos de la familia de las LTP y la taumatina

Estudio de la asociación entre los valores de IgE y la clínica

Por último, se analizó la relación de los valores de IgE específica frente a los componentes alergénicos de la familia de las LTP y la taumatina en los pacientes incluidos en el estudio y su asociación con la presencia de determinados síntomas tras la ingesta de frutas.

En primer lugar, se realizó el test estadístico no paramétrico U de *Mann-Whitney*, para determinar si existían diferencias significativas entre el grupo de pacientes con y sin síntomas en las medias de los valores absolutos de las 4 LTP seleccionadas en el estudio (Pru p 3, Ara h 9, Cor a 8 y Pla a 3) y la taumatina Act d 2, determinadas tanto en la plataforma ISAC como en ALEX. Los valores del test quedan reflejados en la **Tabla 6**.

Tabla 6 Test U de Mann-Whitney

	ISAC		ALEX	
	Estadístico	p	Estadístico	p
Pru p 3	70,5	0,047	65,0	0,027
Ara h 9	56,0	0,010	56,0	0,010
Cor a 8	72,0	0,033	64,0	0,018
Pla a 3	68,0	0,025	60,0	0,013
Act d 2	92,0	0,121	80,0	0,057

Dado que los valores de p obtenidos en el test han resultado menores que el nivel de significación establecido ($p < 0,05$), se rechaza la hipótesis nula, aceptando que sí existían diferencias significativas entre la media de los valores absolutos de la IgE específica frente a las LTP seleccionadas en los pacientes con y sin síntomas. Estas diferencias se observaron tanto en la plataforma ISAC como ALEX. Por otro lado, para la taumatina Act d 2, el valor de p obtenido es $> 0,05$ por lo que no existían diferencias entre los valores absolutos de IgE específica frente a este componente alergénico entre ambos grupos de pacientes en ninguna de las dos plataformas.

A continuación, se llevó a cabo el test estadístico H de *Kruskal-Wallis* para examinar la existencia de diferencias entre 4 grupos de pacientes, clasificados según la gravedad de sus síntomas, en relación al número de LTP positivas detectado por ambas técnicas. Este análisis se realizó considerando tanto el total de moléculas pertenecientes a la familia, como enfocándose en las cuatro moléculas previamente seleccionadas. Los resultados del test se exponen en la **Tabla 7**.

Tabla 7 Prueba H de Kruskal-Wallis

	ISAC			ALEX		
	χ^2	gl	p	χ^2	gl	p
LTP totales (número positivos)	9,45	3	0,024	10,00	3	0,019
LTP seleccionadas (número positivos)	9,25	3	0,026	9,25	3	0,026

LTP totales: Pru p 3; Ara h 9; Cor a 8; Pla a 3; Art v 3; Jur r 3; Ole e7; Par j 2; Tri a 14

LTP seleccionadas: Pru p 3; Ara h 9; Cor a 8; Pla a 3

Grados por sintomatología: 0 = no síntomas; 1 = SAO; 2 = urticaria/angioedema; 3 = shock/anafilaxia

Los valores de p obtenidos fueron $<0,05$, por lo que existían diferencias significativas entre al menos dos de los grupos definidos según la gravedad de su sintomatología en cuanto al número de LTP positivas, tanto del total de moléculas como de las 4 seleccionadas.

Sin embargo, la prueba H de *Kruskal-Wallis* no indica entre cuales de los 4 grupos creados se observan estas diferencias; para ello es necesario realizar el análisis *post-hoc* denominado de *Dwass-Steel-Critchlow-Fligner* (DSCF). En esta comparativa, se analizaron dos a dos los diferentes grupos definidos por su gravedad en la sintomatología, estudiando entre cuáles de ellos se observaban diferencias significativas en relación al número de LTP positivas detectados en ambas técnicas. Los resultados de la prueba se exponen en la **Tabla 8**.

Tabla 8 Comparaciones dos a dos de Dwass-Steel-Critchlow-Fligner respecto al total de LTP

LTP totales (número positivos)					
		ISAC		ALEX	
Grado sintomatología		W	p	W	p
0	1	3,50	0,064	4,05	0,022
0	2	1,51	0,709	0,69	0,962
0	3	3,94	0,027	3,65	0,049
1	2	-1,69	0,632	-2,44	0,312
1	3	0,13	1,000	-0,21	0,999
2	3	1,93	0,524	2,01	0,485

Al realizar la comparación por parejas de los grados de sintomatología, se observaron diferencias significativas en cuanto al número de LTP positivas entre los grupos 0 y 1 en la plataforma ALEX, y entre los grupos 0 y 3, tanto en ISAC como en ALEX, ya que son las comparaciones en las que el nivel de p fue $<0,05$. En el resto de los grupos comparados no se han observado diferencias significativas en ninguna de las dos plataformas.

Tabla 9 Comparaciones dos a dos de Dwass-Steel-Critchlow-Fligner respecto a las LTP seleccionadas

LTP seleccionadas (número positivos)					
		ISAC		ALEX	
Grado sintomatología		W	p	W	p
0	1	3,55	0,058	3,55	0,058
0	2	0,69	0,962	0,69	0,962
0	3	3,10	0,075	3,41	0,075
1	2	-2,48	0,296	-2,48	0,296
1	3	-0,60	0,974	-0,60	0,974
2	3	2,22	0,397	2,22	0,397

En el análisis comparativo de los grupos definidos por la gravedad de la sintomatología, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al número de positivos en las cuatro LTP seleccionadas (Pru p 3, Ara h 9, Cor a 8 y Pla a 3), observándose valores de $p > 0,05$. Sin embargo, cabe destacar que las comparaciones entre los grupos 0 y 1 y 0 y 3 mostraron una tendencia cercana a la significación con valores de p alrededor de 0,05, tanto en los resultados obtenidos con la plataforma ISAC como en los obtenidos con ALEX.

DISCUSIÓN

Como ya se ha mencionado, la determinación de IgE específica es una herramienta clave a la hora de realizar un correcto diagnóstico y tratamiento en los pacientes polisensibilizados. En este trabajo se ha estudiado la determinación de IgE específica contra moléculas panalergénicas mediante dos técnicas diagnósticas en un grupo de pacientes con múltiples sensibilizaciones. Se han analizado los diferentes valores obtenidos con cada una de las técnicas y se ha estudiado la asociación de estos con la presencia de determinados síntomas en los pacientes.

Estudio de IgE específica en pacientes polisensibilizados

Se realizó un análisis descriptivo de los resultados obtenidos tras la realización de las pruebas, cuyos resultados reflejan que los pacientes a estudio pertenecen en efecto a la categoría de polisensibilizados, ya que en el 80% de estos se ha detectado sensibilización a 6 o más componentes alérgicos con ambas técnicas diagnósticas, y un 50% de estos presentan IgE específica contra entre 11 y 20 moléculas, lo que reafirma su polisensibilización.

Posteriormente se procedió al estudio de las familias de panalérgenos presentes en el *array*. En primer lugar, se analizó el porcentaje de alérgenos positivos pertenecientes a cada una de estas familias, lo que mostró como las dos familias con mayor número de positivos eran la familia de las LTP y la de las taumatinas, con un 30 y 20% de moléculas positivas respectivamente. Estos datos resultan acordes con lo esperado, ya que estas dos son las familias de panalérgenos más frecuentemente implicadas en procesos de polisensibilización en nuestro medio.

Además, para ambas familias se estudió a su vez el porcentaje de IgE detectada perteneciente a cada uno de los diferentes grados de sensibilización, constatándose que, al detectarse una sensibilización positiva a alguna molécula perteneciente a estas familias en más del 70% de los casos, el nivel detectado fue entre moderado y alto.

Estudio de la concordancia entre ISAC y ALEX

En la segunda parte de este trabajo se analizó la relación entre los valores de IgE específica obtenidos mediante las técnicas diagnósticas a estudio, Immuno CAP ISAC y ALEX². Para ello, se realizaron, tanto para las diferentes familias de panalérgenos como para las moléculas alérgicas pertenecientes a la familia de las LTP, las correspondientes rectas de regresión relacionando los valores obtenidos en ISAC y ALEX. Los resultados del análisis reflejaron una relación óptima para la taumatina, buena para LTP y PR-10, débil para las profilinas y nula para las tropomiosinas.

Resultados similares a los comentados se observaron en el estudio realizado por *Scala* y colaboradores, los cuales representaron, mediante diagramas de Ven, la correlación entre las técnicas ISAC y ALEX para diferentes familias de panalérgenos tanto vegetales como animales. En estas gráficas se representa como los valores de LTP coinciden en un 62%, los de PR-10 en un 72%, los de profilinas en un 71% y los de tropomiosinas en un 28% siendo esta última familia de panalérgenos la que mostraba la peor correlación entre ambas técnicas, similar a los resultados obtenidos en este trabajo (19).

Además, se realizó el análisis de la concordancia entre ambas técnicas mediante el análisis del estadístico *Kappa* de *Cohen*. Los resultados obtenidos reflejaron una concordancia elevada-moderada entre los datos recogidos por ambas técnicas, con unos valores medios del índice *Kappa* de entre 0,5 y 0,6; tanto para la familia de las LTP como para la taumatina. Los índices

Kappa para la gran mayoría de los componentes alergénicos de la familia de las LTP mostraron valores similares a los mencionados, entre 0,5 y 0,6. Estos resultados indican que ambas técnicas diagnósticas proporcionan resultados equiparables en el estudio de las dos familias de panalérgenos más frecuentes de pacientes polisensibilizados en nuestro medio.

En un estudio previo, *Bojcukova* y colaboradores compararon la plataforma multiplex ImmunoCAP ISAC con la plataforma ALEX², estudiando los valores de IgE específica frente a una serie de alérgenos inhalantes que incluían pólenes (gramíneas: Phl p 1, Phl p5; árboles Bet v 1), ácaros (Der p 1, Der p 2) y epitelio de gato (Fel d 1) en el suero de 198 pacientes. Los resultados obtenidos mostraron una muy buena correlación, con unos valores medios de los índices *Kappa* de 0,8. Entre otras causas, la diferencia en el tamaño de la muestra analizada y la diferencia en los componentes alergénicos analizados podrían justificar las diferencias en los valores de los índices *Kappa* obtenidos en el mencionado estudio y los de este trabajo.

Por otra parte, en el mencionado estudio se observó una ligera sobreestimación en la técnica ALEX² respecto a los valores recogidos por ISAC en los niveles altos de sensibilización (16). Acorde con esos datos, en el presente trabajo también se ha detectado esa diferencia entre ambas plataformas, describiéndose un mayor porcentaje de pacientes pertenecientes al nivel 4 de sensibilización en la técnica ALEX respecto a ISAC.

Si bien es cierto que los valores de concordancia obtenidos en el estudio previamente mencionado son mayores a los obtenidos en este trabajo, cabe mencionar que la muestra de pacientes con la que se realizó aquél era mayor. En este sentido, otro estudio realizado por *Platteel* y colaboradores comparaba a su vez las técnicas ISAC y ALEX, cuya muestra de pacientes era de 49 sujetos (20). En ese trabajo, el valor del índice *Kappa* obtenido para la familia de las LTP fue de 0,6, lo que concuerda con los resultados observados en este trabajo para la misma familia de panalérgenos.

Asociación entre los valores de IgE y las manifestaciones clínicas

Finalmente se analizó la relación entre los niveles de IgE específica y la sintomatología clínica presentada por los pacientes tras la ingesta de frutas. Para ello se estudió la asociación entre la presencia de estos síntomas y el número de componentes panalergénicos positivos en las pruebas de diagnóstico ISAC y ALEX tanto en la familia de las LTP como de la taumatina.

En primer lugar, se realizó el test estadístico U de *Mann-Whitney* para evaluar si existían diferencias significativas en relación a los niveles de IgE específica frente a moléculas pertenecientes a la familia de las LTP y la taumatina en los pacientes con y sin síntomas tras la ingesta de frutas. Los resultados revelaron la presencia de diferencias significativas indicando que la media de los valores absolutos de las LTP analizadas fue mayor en los pacientes con síntomas respecto a los que no los presentaron siendo las diferencias detectadas tanto en la plataforma ISAC como en ALEX. Sin embargo, no se hallaron variaciones en cuanto a los valores de IgE específica contra la taumatina, por lo que no se realizaron análisis adicionales en relación a este panalérgeno.

Posteriormente, para analizar de manera más exhaustiva la asociación entre la presencia de síntomas con los valores de LTP, se realizó el test estadístico H de *Kruskal-Wallis* para estudiar las variaciones entre el número de moléculas de LTP que habían resultado positivas y la gravedad de los síntomas observados tras la ingesta de frutas.

Los resultados de este análisis revelaron la existencia de diferencias significativas respecto al número de moléculas de LTP positivas entre los pacientes que no mostraron síntomas y aquellos que presentaron la sintomatología más grave (anafilaxia o shock anafiláctico) observándose estas diferencias tanto en la técnica ISAC como en la ALEX. No obstante, también se observaron diferencias en cuanto al número de moléculas de LTP positivas entre los pacientes que no mostraron síntomas y aquellos que lo hicieron en forma de síndrome de alergia oral, pero estas variaciones sólo se observaron en la técnica ALEX.

Resultados similares a los comentados se observaron en el estudio realizado por *Asero* y colaboradores cuyo objetivo fue la búsqueda de un marcador capaz de predecir el riesgo de un paciente a desarrollar una clínica grave tras la ingesta de determinados alimentos (21). En este estudio se analizó la sensibilización a LTP en 100 pacientes en los que se constató alergia a nueces, avellanas, cacahuete tomate, arroz y/o maíz. Para ello se midieron los niveles de IgE específica contra los alérgenos presentes en los alimentos mencionados y contra Pru p 3, el componente LTP presente en el melocotón, y se estudió su variación en relación con la sintomatología presentada por los pacientes.

Los resultados detectaron que los pacientes que mostraron niveles más altos de IgE específica contra Pru p 3 se asociaron con una mayor prevalencia de alergia a nuez, avellana y cacahuete. A su vez, se objetivó como los niveles medios de IgE específica frente a alimentos fueron mayores en sujetos alérgicos respecto a aquellos que eran tolerantes, aunque no se observaron diferencias entre los que presentaron clínica únicamente oral de los que lo hicieron de forma sistémica. Las conclusiones a las que se llegó con este estudio fueron que los niveles de IgE específica predicen solo de forma parcial la respuesta alérgica de los pacientes, y que las razones por las que un sujeto termina desarrollando o no clínica grave tras el contacto con un determinado alérgeno siguen sin estar completamente identificadas.

Esta relación entre gravedad de la sintomatología y el nivel de sensibilización también fue analizada por *Rossi* y colaboradores, los cuales estudiaron la asociación entre la gravedad de la sintomatología clínica y los niveles de IgE específica contra componentes alérgicos de la familia de las LTP (22). Para ello se estudió a 46 pacientes alérgicos al melocotón que se dividieron según la gravedad de la reacción presentada tras el contacto con el alérgeno y se evaluó en todos ellos la IgE específica contra diferentes alérgenos recombinantes y naturales. El análisis realizado demostró que existía una correlación directa entre los niveles de IgE específica contra la molécula Pru p 3 y la gravedad de los síntomas, siendo esta mucho mayor en los pacientes que habían presentado sintomatología sistémica. Los investigadores concluyeron que, en relación a la alergia a frutas pertenecientes a la familia de las Rosáceas, la detección de niveles de IgE específica contra Pru p 3 puede considerarse como una advertencia ante el posible desarrollo de reacciones alérgicas graves.

En definitiva, los resultados obtenidos en el presente trabajo están en línea con los obtenidos en los estudios mencionados ya que en ambos se observó que los pacientes que padecen reacciones alérgicas presentaron mayores niveles de IgE específica en suero, pero la determinación de estos niveles no fue suficiente para diferenciar aquellos sujetos que presentan un síndrome de alergia oral, de los que desarrollan una grave reacción sistémica.

CONCLUSIONES

Las conclusiones del presente trabajo son:

1. La determinación de IgE específica es fundamental para el diagnóstico y tratamiento adecuado de pacientes polisensibilizados siendo el empleo de técnicas de cribado basadas en *microarrays*, *ImmunoCAP* ISAC y ALEX², un método adecuado para detectar polisensibilización.
2. Las familias panalergénicas de las LTP y la taumatina son las más frecuentes en los pacientes polisensibilizados incluidos en el estudio.
3. La concordancia detectada entre las dos técnicas de análisis estudiadas para la detección de IgE específica contra las familias panalergénicas de las LTP y taumatina es moderada- alta indicando que ambas técnicas proporcionan resultados equiparables en el análisis de estas moléculas.
4. Existe una asociación significativa entre los niveles de IgE específica contra moléculas panalergénicas pertenecientes a la familia de las LTP y la presencia de síntomas clínicos tras la ingesta de frutas en los pacientes polisensibilizados incluidos en el estudio.
5. Existe una asociación entre la presencia de un mayor número de componentes positivos de la familia de las LTP y la presencia de reacciones sistémicas graves tras ingerir frutas, aunque los niveles de IgE específica no predicen completamente los síntomas que experimentarán los pacientes alérgicos tras la ingesta de frutas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Colas Sanz, C; Cubero Saldaña J. ¿Qué es la alergia? Importancia de las enfermedades alérgicas. En: Libro de las enfermedades alérgicas de la Fundación BBVA. Bilbao; 2021. ISBN 978-84-92937-83-7. p. 19-26. www.fbbva.es/alergia
2. Zubeldia Ortuño J. Mecanismos de las reacciones alérgicas. En: Libro de las enfermedades alérgicas de la Fundación BBVA. Bilbao; 2021. ISBN 978-84-92937-83-7. p. 49-60. www.fbbva.es/alergia
3. Van Ree R. Allergens - Structure and Function. En: Akdis CA, editor. Global Atlas of Allergy. Switzerland: European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2014. p. 388. Accesible en <https://www.zora.uzh.ch/id/eprint/140927/1/GlobalAtlasAllergy.pdf>
4. Wheatley LM, Togias A. Clinical practice. Allergic rhinitis. N Engl J Med. 2015 Jan 29;372(5):456-63. doi: 10.1056/NEJMcp1412282. PMID: 25629743; PMCID: PMC4324099.
5. Jones SM, Burks AW. Food Allergy. Solomon CG, editor. New England Journal of Medicine. 2017;377(12):1168-76. doi: 10.1056/NEJMcp1611971
6. Chiriac A.M.; Bousquet J. Principles of Allergy Diagnosis. En: Middleton's Allergy Essentials. Elsevier; 2017. p. 117-204. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-37579-5.00005-2>
7. Sanz Larruga ML y Labrador Horrillo M. Técnicas de diagnóstico in vitro. En: Tratado de Alergología. 2.^a ed. Madrid: Ergon; 2016. p. 215-36. ISBN: 978-84-16270-37-8
8. González Muñoz, M., Subiza Garrido-Lestache, J.L. (2018). Diagnóstico, monitorización y tratamiento inmunológico de las enfermedades alérgicas. España: Elsevier. ISBN: 9788491132400, 8491132406.
9. Hauser M, Roulias A, Ferreira F, Egger M. Panallergens and their impact on the allergic patient. Allergy Asthma Clin Immunol. 2010;6:1. DOI: 10.1186/1710-1492-6-1. PMID: 20298513.
10. Heffler E, Puggioni F, Peveri S, Montagni M, Canonica GW, Melioli G. Extended IgE profile based on an allergen macroarray: a novel tool for precision medicine in allergy diagnosis. World Allergy Organ J. 2018 Apr 26;11(1):7. doi: 10.1186/s40413-018-0186-3. PMID: 29743964; PMCID: PMC5918992.
11. Echevarria Zudaire LÁ. Novedades En Diagnostico Y Prevencion Alergia Alimentaria. Curso Actualización AEPAP 2018. 2018;145-57. Accesible en https://www.aepap.org/sites/default/files/pags._233-248_novedades_en_diagnostico_y_prevencion._.pdf
12. Nieto García A, Mazón Ramos A, Pamies Espinosa R, Caballero Gómez L, Oliver Jiménez F, Colomer Hernández N. Implicación clínica de la reactividad cruzada entre alergenos. Allergol Immunopathol (Madr). 2004;32(3):124-9. DOI: 10.1016/s0301-0546(04)79298-8. PMID: 15120028
13. Calidad de Vida y repercusión socioeconómica de las Enfermedades Alérgicas. C Colas, B de la Hoz, A. Roger y M Rodríguez. En: Tratado de Alergología. Editores I Dávila, I

Jauregui, JM Olaguibel y JM Zubeldia. Ed. ERGON. Madrid 2015. ISBN 987-84-16270-36-1. Vol I Pág 325-47

14. Breiteneder H, Ebner C. Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2000 Jul;106(1 Pt 1):27-36. doi: 10.1067/mai.2000.106929. PMID: 10887301
15. Blanco Guerra C, Almeida Quintana L, Castillo Sainz R, Sánchez-Monge Laguna de Rins R, Fernández Rivas M. Síndromes de reactividad cruzada en la alergia a los alimentos. *Alergología e inmunología clínica*. 2007;49:915-38.
16. Bojnakova, J., Class, T., Forstenlechner, P. et al. Comparison of two multiplex arrays in the diagnostics of allergy. *Clin Transl Allergy* 9, 31 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13601-019-0270-y>
17. Martínez-Aranguren R, Lizaso MT, Goikoetxea MJ, García BE, Cabrera-Freitag P, Trellez O, Sanz ML. Is the determination of specific IgE against components using ISAC 112 a reproducible technique? *PLoS One*. 2014 Feb 6;9(2):e88394. doi: 10.1371/journal.pone.0088394. PMID: 24516646; PMCID: PMC3916438.
18. Caro Rebollo J, Moneo Hernández MI, Cabañas Bravo MJ, Garín Moreno AL, Oliván Otal P, Cenarro Guerrero MT. Valoración del estudio alérgico en niños con atopía. *Rev Pediatr Aten Primaria*. 2010;12:227-37. Accesible en <https://pap.es/articulo/11177/valoracion-del-estudio-alergico-en-ninos-con-atopia>
19. Scala E, Caprini E, Abeni D, Meneguzzi G, Buzzulini F, Cecchi L, et al. A qualitative and quantitative comparison of IgE antibody profiles with two multiplex platforms for component-resolved diagnostics in allergic patients. *Clinical and Experimental Allergy*. 2021;51(12):1603-12. doi: 10.1111/cea.14016. PMID: 34523179.
20. Platteel ACM, Van Der Pol P, Murk JL, Verbrugge-Bakker I, Hack-Steemers M, Roovers THWM, et al. A comprehensive comparison between ISAC and ALEX2 multiplex test systems. *Clin Chem Lab Med*. 1 de junio de 2022;60(7):1046-52. doi: 10.1515/cclm-2022-0191. PMID: 35470638
21. Asero R, Arena A, Cecchi L, Conte ME, Crivellaro M, Emiliani F, et al. Are IgE levels to foods other than rosaceae predictive of allergy in lipid transfer protein-hypersensitive patients? *Int Arch Allergy Immunol*. mayo de 2011;155(2):149-54. doi: 10.1159/000318864. PMID: 21196759.
22. Rossi RE, Monasterolo G, Canonica GW, Passalacqua G. Systemic reactions to peach are associated with high levels of specific IgE to Pru p 3. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. diciembre de 2009;64(12):1795-6. doi: 10.1111/j.1398-9995.2009.02133.x. PMID: 19732048.