



**Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza**



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria



ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| 1. RESUMEN / ABSTRACT..... | 2 |
| 2. INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| 2.1) Hipersensibilidad a alérgenos ambientales..... | 4 |
| 2.1.1) Hipersensibilidad al polen..... | 5 |
| 2.1.2) Hipersensibilidad a hongos..... | 6 |
| 2.1.3) Hipersensibilidad a ácaros..... | 7 |
| 2.2) Hipersensibilidad a la picadura o mordedura de insecto..... | 7 |
| 2.2.1) Hipersensibilidad a Culicoides..... | 8 |
| 3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS..... | 9 |
| 4. METODOLOGÍA..... | 10 |
| 4.1) Selección de los animales..... | 10 |
| 4.2) Toma de muestras..... | 10 |
| 4.3) Detección y cuantificación de IgE en suero por ELISA..... | 11 |
| 4.4) Análisis estadísticos..... | 11 |
| 5. RESULTADOS..... | 12 |
| 6. DISCUSIÓN..... | 19 |
| 7. CONCLUSIONES / CONCLUSIONS..... | 25 |
| 8. VALORACIÓN PERSONAL..... | 26 |
| 9. BIBLIOGRAFÍA..... | 26 |
| 10. ANEXO. Tabla con los alérgenos de Allercept..... | 30 |

1. RESUMEN

Estudio de los alérgenos implicados en los procesos de dermatitis alérgicas en caballos. El objetivo de este estudio era determinar cuáles son los alérgenos más frecuentes que causan dermatitis alérgica en caballos españoles y si existe algún factor predisponente (estación anual, sexo, edad, raza, color de la capa, esterilización) que favorezcan la aparición de la enfermedad. Se utilizaron 50 caballos clínicamente diagnosticados de atopía, a los cuales se les extrajo una muestra de sangre durante la estación en la que mostraban signos clínicos y mediante un ELISA indirecto se determinó la concentración de IgE en suero frente a un total de 30 alérgenos (gramíneas, malezas, árboles, ácaros, hongos e insectos). La determinación sérica de esta inmunoglobulina sirve para mejorar la eficacia del tratamiento y para seleccionar los alérgenos a utilizar en la inmunoterapia específica. Se estimó la prevalencia para cada alérgeno y se determinó mediante un análisis Chi cuadrado el efecto de los factores predisponentes. Los resultados mostraron que *Tyrophagus putrescentiae* (54%), *Tabanus* (48%) *Dermatophagooides farinae/D. pteronyssinus* (44%), *Rumex crispus* (42%), y *Culicoides* (40%) fueron los alérgenos que causaron el mayor número de reacciones positivas, mientras que los hongos fueron los que menos. Se encontró un efecto de la estación sobre *Rumex crispus*, *Betula alba*, *Salix caprea* y *Culex tarsalis*; un efecto de la edad sobre *Phleum pratense* y *Stomoxys*, un efecto de la esterilización sobre *D. farinae/D. pteronyssinus*, y un efecto del color de la capa sobre *Tabanus*. No se observaron diferencias significativas en cuanto al sexo y la raza.

ABSTRACT

A study of allergens involved in equine allergic dermatitis. The aim of this study was to assess which allergens affect most frequently to Spanish horses with allergic dermatitis, and whether there is a factor that causes predisposition (season, gender, age, breed, coat color, sterilization) to develop the disease. A sample of blood was extracted from 50 horses clinically diagnosed of atopy during the season in which they showed symptoms and by indirect ELISA test IgE concentration were measured in sera against 30 allergens (grasses, weeds, trees, mites, fungi and insects). Determination of this immunoglobulin in serum serve as diagnostic tools in allergic diseases to improve efficacy of the treatment and proper allergen selection to specific immunotherapy. An estimation of the prevalence for each allergen was done and by Chi square analysis the effect of predisposing factors was determined. The results showed that *Tyrophagus putrescentiae* (54%), *Tabanus* (48%) *Dermatophagooides farinae/D. pteronyssinus* (44%), *Rumex crispus* (42%), and *Culicoides* (40%) were the most frequent allergens that caused positive reactions, whereas fungi were the least frequent. The study revealed an influence of season on *Rumex crispus*, *Betula alba*

and *Salix caprea* and *Culex tarsalis*; also, an influence of age on *Phleum pratense* and *Stomoxys*, an influence of sterilization on *D. farinae/D. pteronyssinus*, and an influence of the coat color on *Tabanus*. No significant differences were observed in gender and breed.

2. INTRODUCCIÓN

La dermatitis atópica (DA) se define como una hipersensibilidad o respuesta inmunológica anormal a alérgenos como el polen, ácaros y hongos (Smith, 2014). El término *hipersensibilidad* se emplea para indicar un proceso inflamatorio que ocurre como respuesta a un material generalmente inocuo (Tizard, 2009). Es necesario destacar que, en los equinos, la reacción de hipersensibilidad tipo I o alérgica es la más importante y es a la que comúnmente los veterinarios se deben enfrentar (Godoy *et al.*, 2014). En este tipo de alergia, los signos clínicos se presentan de manera inmediata tras la exposición al alérgeno (aproximadamente 30 minutos más tarde). Se caracteriza por una respuesta inmune mediada por IgE y degranulación de mastocitos y basófilos. Dichas células contienen en su membrana IgE específica gracias a que su región Fc se encuentra unida a receptores de membrana. Tras la primera exposición al alérgeno, llamada *fase de sensibilización*, estas células al encontrarse de nuevo con el alérgeno (que es reconocido por la IgE) liberan mediadores de la inflamación provocando una reacción inflamatoria tisular. La mayoría de los conocimientos existentes acerca de la dermatitis atópica proviene de estudios en seres humanos y de experimentación con ratones, pero existen evidencias cada vez más sólidas de que mecanismos similares a los descritos en dichas especies hacen de mediadores en la especie equina (Noli *et al.*, 2014).

La atopía es genéticamente heredable en todas las especies, y es el resultado de complejas interacciones entre factores genéticos y ambientales (Santoro y Marsella, 2014). Se trata de una enfermedad crónica y recurrente en la naturaleza con exacerbaciones agudas frecuentemente asociadas a la exposición al alérgeno. En ambas especies, se asocia frecuentemente (pero no siempre) a una sensibilización alérgica.

La función de barrera de la piel juega un papel vital en la DA humana (De Benedetto *et al.*, 2011) y canina (Inman *et al.*, 2001), pero poco se sabe aún con respecto a su importancia en los équidos. En un que realizaron Marsella *et al.* (2014) para evaluar la disfunción de la barrera de la piel en caballos con DA, encontraron anomalías en la piel de los caballos similares a las halladas en la DA humana y canina, sugiriendo así la existencia de un defecto equiparable en la barrera de la piel.

Los signos clínicos de la DA equina aparecen generalmente en caballos jóvenes, de entre 1'5 a 6 años de edad (Noli *et al.*, 2014). No se ha publicado predisposición a la atopía por un sexo (Scott y Miller, 2003; White, 2005; Stepnik *et al.*, 2011). Algunos autores sugieren una predisposición racial, pero no se han realizado comparaciones con una población de referencia para validar la observación. Stepnik *et al.* (2011) observaron en su investigación un aumento de la prevalencia en caballos de raza Pura Sangre y Caballo Cuarto de Milla (y, en menor medida, de las razas Caballo Holandés de Media Sangre, Morgan, Caballo Sueco de Media Sangre, Oldenburgo, Hackney, Pasos finos, Angloárabe polaco y Árabe); sin embargo, hay que subrayar que eran las dos razas más comunes de entre todos los caballos de estudio.

La DA puede ser estacional o permanente en función de los alérgenos implicados (por ej.: estacional en la alergia al polen, y no estacional en la alergia a hongos), e incluso inicialmente ser estacional y progresar hasta ser permanente o anual. Las principales manifestaciones cutáneas incluyen prurito y/o urticaria (Scott y Miller, 2003; White, 2005; Noli *et al.*, 2014).

El diagnóstico se basa en los signos clínicos, la exclusión de otros diagnósticos (como por ejemplo, parásitos, alergias alimentarias, y especialmente la hipersensibilidad a *Culicoides*), la serología con IgE alérgeno-específica y los test intradérmicos (Jensen-Jarolim *et al.*, 2015). La prueba serológica con un ELISA que utiliza el receptor de IgE de alta afinidad (FceR1a) no es en la actualidad apropiada como herramienta para establecer un diagnóstico, sino que se trata simplemente de una guía para determinar qué alérgenos están involucrados en la enfermedad (Morgan *et al.*, 2007; Frey *et al.*, 2008). Los test intradérmicos son útiles para determinar los alérgenos específicos para la formulación de la inmunoterapia, además de proporcionar la identificación de los alérgenos que pueden ser útiles a fin de elaborar estrategias para evitarlos (Lorch *et al.*, 2001). El tratamiento puede ser sintomático, utilizando fármacos antipruriginosos, y/o inmunoterapia alérgeno-específica; actualmente, la tasa de éxito de este último se acerca al 70% (White, 2005).

2.1) Hipersensibilidad a alérgenos ambientales

Los caballos están expuestos a una amplia variedad de potenciales alérgenos en su entorno, y por lo tanto, a menudo puede ser difícil determinar qué alérgeno es el responsable de haber causado un cuadro de hipersensibilidad. El polen de gramíneas, árboles y malezas, los ácaros y los hongos se han identificado en la especie equina como factores ambientales desencadenantes de la alergia (Scott y Miller, 2003). Las diferencias geográficas entre las especies de plantas y animales pueden influir en la importancia de los diferentes potenciales alérgenos, y por lo tanto, la información relativa a las regiones es clínicamente relevante. Lamentablemente, la variación geográfica

también complica las comparaciones con los estudios anteriores (Rendle *et al.*, 2010). Los alérgenos ambientales son la segunda causa más común de alergia en caballos, sólo detrás de la hipersensibilidad a la picadura de insecto (Marsella, 2013). Es muy frecuente que la hipersensibilidad a alérgenos ambientales y la hipersensibilidad a la picadura de insecto coexistan en équidos que presentan prurito (Yu y Rosychuk, 2013).

2.1.1) Hipersensibilidad al polen

Europa es un continente geográficamente complejo, con un clima y una vegetación muy diversos; en consecuencia, los calendarios polínicos difieren de un lugar a otro. Sin embargo, en general, la polinización se inicia en primavera y termina en otoño (D'Amato *et al.*, 2007). En España, los pólenes más importantes causantes de polinosis en personas son los procedentes de los cipreses (*Cupressus*) en enero-marzo, el abedul (*Betula*) en abril, el plátano de sombra (*Platanus hispánica*) en marzo-abril, las gramíneas y olivo (*Olea*) en abril-junio, la Parietaria (una maleza perteneciente a la Familia *Urticaceae*) de abril-julio y el *Chenopodium* (otra maleza) de julio a septiembre. Por áreas geográficas, la primera causa de polinosis son las gramíneas en el centro y norte de la península, el olivo en el sur (Jaén, Sevilla, Granada, Córdoba), la Parietaria en las regiones costeras mediterráneas (Barcelona, Murcia, Valencia) y el *Chenopodium* y la *Salsola* destaca sobre todos los demás en Elche (Alicante) (Subiza, 2004). En resumen, se podría decir que los pólenes de los árboles son los predominantes durante el invierno y principios de primavera, los pólenes de las gramíneas durante la primavera y los de las malezas durante el verano y otoño (Subiza, 2003).

Hipersensibilidad a extractos de gramíneas. El polen de las diferentes especies de la familia de las gramíneas (Familia *Poaceae* o *Gramineae*) es un alérgeno de gran importancia en toda Europa debido a la gran alergenicidad de sus pólenes y a su extensa distribución vegetal, aunque su relativa contribución a la polinosis varía en relación con el tipo de vegetación local, los cultivos agrícolas y el clima (Galán *et al.*, 1995). La familia de las gramíneas comprende más de 600 géneros y más de 10.000 especies, de las cuales más de 400 plantas que son polinizadas por el viento se encuentran en Europa. En los prados de altura es donde crecen con mayor abundancia, como la hierba timotea (*Phleum pratense*) y el dáctilo (*Dactylis glomerata*). El centeno (*Secale cereale*), que tiene una producción de polen notablemente alta, es otra potente fuente de alérgenos. Con muy pocas excepciones, la mayoría de los tipos de polen de gramíneas presentan una amplia reactividad cruzada (D'Amato, 2007). En España, donde un 22% de las personas padece alergia al polen, se ha estimado que un promedio de un 80% de los enfermos se ven afectado por el polen de gramíneas (Subiza, 2003).

Hipersensibilidad a extractos de malezas. En cuanto a las malezas, las plantas de la familia *Urticaceae* de los géneros *Urtica* (*U. dioica*, *U. membranacea*, *U. urens* y *U. pilulifera*) y *Parietaria* (*P. judaica*, *P. officinalis*, *P. cretica*, *P. mauritania* y *P. lusitanica*) están ampliamente distribuidas, y su polen es responsable de muchos casos de polinosis en las regiones mediterráneas (D'Amato *et al.*, 2007). Los granos de polen de hierbas como la artemisa (*Artemisia*), llantén (*Plantago*) y acedera (*Rumex*) son de limitada pero vital importancia (Spieksma *et al.*, 1980).

Hipersensibilidad a extractos de árboles. El polen del olivo (*Olea*) es una de las causas más comunes de polinosis en España, ya que posee un polen muy alergénico. En España es la segunda causa de la fiebre del heno, sólo precedido por el polen de las gramíneas y seguido de cerca por las malezas de las familias *Chenopodiaceae* y *Urticaceae*; no obstante, en las regiones del sur de España, el polen del olivo es la principal causa de sensibilización alérgica (Subiza *et al.*, 2007). Se ha demostrado la existencia de una amplia reactividad cruzada entre los extractos de polen de la especie *Oleaceae*, como el del olivo, fresno, ligustro y lila (Bousquet *et al.*, 1985), así como con el polen de especies no relacionadas (González *et al.*, 2000). El ciprés (*Cupressus*) también se ha señalado como altamente alergénico en la región mediterránea, y según diversos estudios realizados hasta la fecha, su prevalencia en España es mayor en la región de Córdoba (Subiza *et al.*, 1995; Guerra *et al.*, 1996; Díaz de la Guardia *et al.*, 2006). La prevalencia de la sensibilización al polen del plátano (*Platanus*) se ha visto aumentada los últimos años en España debido a su creciente uso como planta ornamental (Alcázar *et al.*, 2004). Otros árboles de gran alergenicidad son algunos que pertenecen al orden *Fagales*, que está compuesto de tres familias: *Betulaceae*, que incluye los géneros *Betula* (abedul) y *Alnus* (aliso); *Corylaceae*, incluyendo los géneros *Corylus* (avellano), *Carpinus* (carpes) y *Ostrya* (carpes lupulinos); y *Fagaceae*, incluyendo los géneros *Quercus* (roble), *Fagus* (haya) y *Castanea* (castaño). El abedul, seguido del avellano y del aliso, es quien tiene una mayor potencia alergénica en este grupo (D'Amato *et al.*, 2007).

2.1.2) Hipersensibilidad a hongos

Las esporas fúngicas son de gran interés en las enfermedades alérgicas debido a su alta incidencia, tanto en ambientes interiores como en exteriores, y su reconocida capacidad para causar enfermedades respiratorias y otras patologías (Docampo *et al.*, 2010). A pesar de su importancia clínica, la alergia a los hongos no está tan bien definida como otras alergias estacionales. Se sabe que el tipo y la cantidad de esporas presentes en el aire varían a lo largo del día y con el tiempo, la estación y la localización geográfica (Horner *et al.*, 1995). Los géneros de hongos de los principales tipos de esporas alergénicas son *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y

Penicillium. *Cladosporium* es el más importante en el norte de Europa y *Alternaria* en el área mediterránea (D'Amato *et al.* 1997).

En España se han llevado a cabo numerosos estudios para determinar la prevalencia de diferentes especies de hongos. Infante *et al.* (1999) midieron la presencia de *Cladosporium* y *Alternaria* en cinco ciudades españolas (Barcelona, Córdoba, Granada, León y Orense): los resultados concluyeron que los conidios de *Cladosporium* y *Alternaria* están presentes en la atmósfera prácticamente durante todo el año, aunque en invierno los valores pueden ser bajos. Asimismo, se comprobó que las mayores concentraciones se alcanzaron para ambos géneros en la ciudad de Córdoba, especialmente en los años lluviosos. Sabariego *et al.* (2007) realizaron su estudio en Madrid e identificaron las esporas más abundantes, las cuales fueron: *Cladosporium cladosporioides* (30,2%), *Ustilago* (18%), *Cladosporium herbarum* (14,5%), *Coprinus* (6,9%), *Aspergillaceae* (2,1%), *Leptosphaeria* (1,7%), *Pleospora* (1,5%) y *Bovista* (1,4%).

Un estudio realizado en caballos Lipizzan por Eder *et al.* (2001) sobre niveles de IgE frente a *Aspergillus* y *Alternaria* en distintos países centroeuropeos, demostraron un efecto de factores medioambientales, pues los títulos de IgE eran distintos dependiendo del país analizado. Conforme aumentaba la edad, eran más altos los niveles de IgE pero no se encontraba ninguna diferencia respecto al sexo.

2.1.3) Hipersensibilidad a ácaros

Los alérgenos de los ácaros son considerados un grupo importante que causan DA en seres humanos, perros y gatos. Los ácaros del polvo doméstico son los alérgenos inhalados predominantes en muchas partes del mundo, pero hay grandes diferencias geográficas en cuanto a su presencia y la prevalencia de sensibilización a estos (Crowther *et al.*, 2000). Las especies más comunes de ácaros del polvo doméstico que producen alergias en personas son *Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae*. *D. pteronyssinus* se considera la especie predominante en Europa, aunque en ciertas zonas *D. farinae* es cada vez más común (Moscato *et al.*, 2000; Sidenius *et al.*, 2002; Macan *et al.*, 2003; Boquete *et al.*, 2006). En cuanto a los ácaros de los productos almacenados, *Tyrophagus putrescentiae* es una verdadera peste en todo el mundo y es bien conocido por causar asma alérgico y rinitis.

2.2) Hipersensibilidad a la picadura o mordedura de insecto

La hipersensibilidad a la picadura de insecto en caballos es una dermatosis estacional, recurrente y pruriginosa mediada por IgE que es causada principalmente por la picadura de la hembra del *Culicoides spp.*, a veces *Simulium spp.* y en menor medida otros insectos (Anderson *et al.*, 1988;

Hellberg *et al.*, 2006; Van Grevenhof *et al.*, 2007; Van den Boom *et al.*, 2008) y puede manifestarse como una sola condición o como parte de un espectro de condiciones alérgicas, incluyendo atopía, alergia a los alimentos e hipersensibilidad de contacto (White y Yu, 2006). En su desarrollo influyen tanto factores genéticos como medioambientales (Van Grevenhof *et al.*, 2007; Schurink *et al.*, 2011). Es la causa más común de prurito en la especie equina (White y Yu, 2006); otros síntomas frecuentes son alopecia, descamaciones y excoriación, que se producen principalmente en la base de la cola y a lo largo de la crin (Van den Boom *et al.*, 2008; Peeters *et al.*, 2014). La mayoría de las veces la sintomatología se manifiesta de forma estacional, debido a que una gran cantidad de especies de insectos aumentan en número durante los meses más húmedos y cálidos del año; es decir, generalmente, desde la primavera hasta el otoño y cuando el viento sopla a una velocidad mínima (Hallamaa, 2009; Schaffartzik *et al.*, 2012).

La alergia equina más común y la mejor estudiada hasta la fecha es la hipersensibilidad a *Culicoides* (Schaffartzik *et al.*, 2012). Otros insectos como los pertenecientes a las especies *Simulium* (mosca negra), *Stomoxys calcitrans* (mosca de los establos) y *Haematobia* (mosca de los cuernos) también están implicados en el desarrollo de la enfermedad (Fadok y Greiner, 1990).

2.2.1) Hipersensibilidad a *Culicoides*

La enfermedad clínicamente más parecida a la DA es la hipersensibilidad a la picadura de *Culicoides*. Se trata de una dermatitis crónica, recurrente y estacional (Anderson *et al.*, 1988) y es la patología cutánea más habitual que afecta a la especie equina (Noli *et al.*, 2014), con una prevalencia del 3% al 60% dependiendo del país y de la región (Schaffartzik *et al.*, 2012).

No hay unanimidad entre los distintos autores respecto a los posibles factores predisponentes a la picadura de *Culicoides*. Diversos estudios no han hallado diferencias estadísticamente significativas en cuanto al sexo, capa y raza de los caballos afectados (Anderson *et al.*, 1988; Scott y Miller, 2003; Hallamaa, 2009). No obstante, según ciertas investigaciones la prevalencia de la enfermedad en ponis es notablemente superior (Scott y Miller, 2003; Steinman *et al.*, 2003; Rendle *et al.*, 2010), en los cuales además la herencia parece tener un papel fundamental (Schurink *et al.*, 2008) y por lo tanto su prevalencia se podría reducir mediante selección genética. También se ha encontrado una asociación significativa entre la enfermedad y la genética en caballos (Raskova, 2013), estableciendo así que potros procedentes de progenitores con hipersensibilidad tienen una mayor predisposición a padecer la enfermedad. En cuanto a la edad, mientras que algunos autores afirman que la prevalencia es mayor en caballos jóvenes (Van den Boom *et al.*, 2008; Peeters *et al.*, 2014) otros sostienen que se da habitualmente más en adultos (Anderson *et al.*, 1988; Steinman *et al.*, 2003; Langner *et al.*, 2008; Wagner *et al.*, 2009; Oliveira-

Filho *et al.*, 2012). Se ha descrito además el efecto que ejerce el medio ambiente, principalmente el clima y el hábitat: las regiones que contienen suelos de arcilla con brezo y vegetación leñosa, bajas precipitaciones, pocos días fríos y muchos días de calor anuales se asocian con una mayor prevalencia (Van Grevenhof *et al.*, 2007).

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La prevalencia de los procesos alérgicos está aumentando exponencialmente a nivel global en la especie humana y en los animales de compañía, y es en dichas especies en quienes se han centrado la mayoría de los estudios sobre atopía realizados hasta la fecha. Sin embargo, los conocimientos sobre los alérgenos que son causa de alergias en caballos son todavía muy escasos. Existen estudios realizados en otros países que han tratado de encontrar una correlación entre los niveles de IgE en suero específicos frente a determinados alérgenos y los diversos factores que pudieran tener una influencia sobre ellos, como la genética, la edad, el género, la raza, la capa, el hábitat y el clima (Anderson *et al.*, 1988; Eder *et al.*, 2001; Rendle *et al.*, 2010; Stepnik *et al.*, 2011; Wilkolek *et al.*, 2014). El planteamiento de este trabajo es similar. En este estudio se analiza la importancia alergológica de seis grupos de alérgenos (gramíneas, malezas, árboles, ácaros, hongos e insectos) en un grupo de caballos diagnosticados de dermatitis atópica en España.

Por consiguiente, los objetivos que se pretenden alcanzar con el presente trabajo son los siguientes:

- Conocer los distintos tipos de alérgenos que afectan a caballos con dermatitis alérgica.
- Precisar qué alérgeno o grupos de alérgenos son más frecuentes en la clínica equina en España.
- Determinar si existe algún tipo de predisposición a padecer la enfermedad en función de la estación anual, la edad, el sexo, la raza, la esterilización y la capa.

4. METODOLOGÍA

4.1) Selección de los animales

Este trabajo se ha realizado en colaboración con veterinarios de toda España, que tomaron muestras de sangre de caballos que presentaban signos clínicos compatibles con dermatitis alérgica, es decir, prurito y/o urticaria, mal aspecto del pelaje, lesiones derivadas de rascado en la

región de la cara y cara interna de las extremidades, crinera o maslo de la cola. Se descartaron otro tipo de enfermedades dermatológicas de signos similares como dermatitis bacterianas o dermatofitosis.

El grupo está compuesto de un total de 50 caballos. Pertenecen a las razas Pura Raza Español (n=13), Caballo de Deporte Español (n=3), cruzados (n=22) y otras razas que por hallarse en un bajo número se ha decidido agruparlas todas juntas (n=12) y son: Hispanobretona, Hispanoárabe, Frisón, Silla Francés, Poni, Lusitano, Mula castellana, Silla Belga y cruzado PRE. La capa es castaña (n=17), alazán (n=6), torda (n=20) y otras que por su escasez numérica se han agrupado juntas (n=7) (palomino, pio y negro). Un 70% son machos (n=35) y un 30% hembras (n=15). Los animales tienen un rango de edad comprendido entre los 2 y los 17 años, con un promedio de edad de 6'67 años, habiéndose clasificado como jóvenes (entre los 2 y 6 años) y adultos (entre 7 y 17 años); un 44% de los caballos son jóvenes (n=21), y un 56% se encuentra en la edad adulta (n=29). De los 50 caballos, un 40% son enteros (n=20) y un 60% (n=30) están esterilizados.

En cuanto a la clínica, 4 de los caballos tienen alergia anual o permanente (8%); los 46 restantes (92%) manifiestan alergia de forma estacional. El signo clínico más frecuente es el prurito (98%), y uno de ellos (2%) presenta urticaria.

Proceden de Cáceres (n=21), Córdoba (n=11), Málaga (n=5), Madrid (n=5), Cádiz (n=1), Zaragoza (n=1) y Asturias (n=1).

4.2) Toma de muestras

La recogida de muestras de sangre tuvo lugar durante los meses de primavera (32%), verano (32%) y otoño (36%) del año 2014. Las muestras se obtuvieron de la vena yugular mediante tubos de vacío, en condiciones de absoluta esterilidad, sin anticoagulante para la obtención de suero. Una vez obtenido el suero se procedió inmediatamente al envío de las muestras a los laboratorios de Diavet, situado en Leganés (Madrid).

4.3) Detección y cuantificación de IgE en suero por ELISA

Los test de Diavet (*Screening* y panel) son test serológicos que sirven para detectar IgE específicas frente a los alérgenos ambientales y de insectos más frecuentes, y se basan en la técnica de laboratorio ELISA, una técnica bioquímica que se utiliza para detectar la presencia de anticuerpos en una muestra. En términos sencillos, en un ELISA, una cantidad desconocida de antígeno (el alérgeno) es fijada a una superficie, tras lo cual un reactivo revelador específico (el receptor-Fc) se aplica sobre la superficie para que pueda unirse con el antígeno. Este reactivo revelador se une a

un enzima directa o indirectamente, y por último una sustancia es añadida para que el enzima pueda convertirse en una señal detectable (generalmente, un cambio de color en una sustancia química). La técnica que emplean en los laboratorios de Diavet es un ELISA indirecto que utiliza la tecnología del receptor-Fc.

En las muestras de suero se analizó la existencia de IgE frente a un total de 30 alérgenos, 24 ambientales y 6 de insectos, los cuales se han agrupado en seis grupos (**ANEXO**). Se considera que un caballo es positivo a un alérgeno si obtiene en el test > 150 UE (Unidades ELISA). Un resultado negativo permite, con un alto porcentaje de seguridad, descartar problemas de hipersensibilidad, aunque se debe tener presente que en un reducido número de animales el nivel de anticuerpos puede no estar lo suficientemente desarrollado como para que el test dé positivo (por causas como, por ejemplo, una edad avanzada, enfermedades inmunológicas, etc.).

4.4) Análisis estadísticos

Los resultados de los análisis se han introducido y ordenado en tablas Excel, separando los alérgenos ambientales de los de insectos y considerando solo aquellos que presentaban > 150 UE. Desde aquí se han trasvasado al programa StatView 5.0.1 para el análisis estadístico de los datos. Se ha realizado una estadística descriptiva básica para cada uno de los alérgenos calculando el porcentaje de positividad de cada uno de los alérgenos estudiados. Los datos se han agrupado en función de las siguientes variables: estación del año del diagnóstico (otoño, primavera, verano), edad (jóvenes de 2-6 años y adultos de 7 a 17 años), raza (CDE, cruzado, PRE, otras), sexo (macho y hembra), esterilización (castrado, entero), capa (alazán, castaño, tordo, otras).

Con estas variables se hizo un test de Chi cuadrado de independencia de las variables para buscar si existían diferencias significativas para cada uno de los alérgenos estudiados y para cada variable. Un valor de $p < 0,05$ se consideraba estadísticamente significativo. Un valor entre 0'05-0'10 se consideró una tendencia estadísticamente significativa.

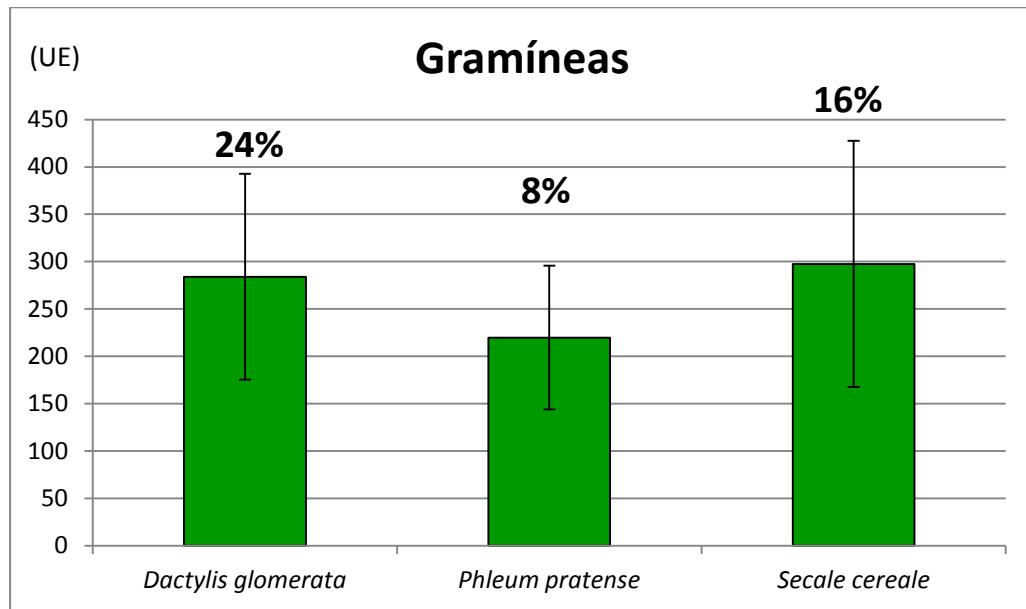
5. RESULTADOS

1. GRAMÍNEAS

Valores de la concentración sérica de IgE alérgeno-específicas (UE) frente a gramíneas

Los niveles de IgE más altos en suero se deben a *Secale cereale* (297 UE), los más bajos a *Phleum pratense* (219 UE). El mayor porcentaje de positividad, sin embargo, lo tiene *Dactylis glomerata*

con un 24% de positivos, frente a un 8 y 16% de *P. pratense* y *S. cereale*, respectivamente. En la gráfica 1 se muestran los resultados obtenidos..



Gráfica 1: media, desviación estándar y porcentaje de positividad de las concentraciones de IgE alérgeno-específicas (UE) en suero frente a las tres especies de gramíneas.

Efecto de la estación, sexo, edad, raza y esterilización sobre los alérgenos de gramíneas

Tabla 1: Valor de Chi cuadrado de los alérgenos de gramíneas frente a las variables de estudio.

| | <i>Dactylis glomerata</i> | <i>Phleum pratense</i> | <i>Secale cereale</i> |
|----------------|---------------------------|------------------------|-----------------------|
| Estación | 0'82 | 0'19 | 0'20 |
| Sexo | 0'47 | 0'57 | 0'68 |
| Edad | 0'31 | 0'02 | 0'70 |
| Raza | 0'24 | 0'50 | 0'57 |
| Esterilización | 0'50 | >0'99 | >0'99 |

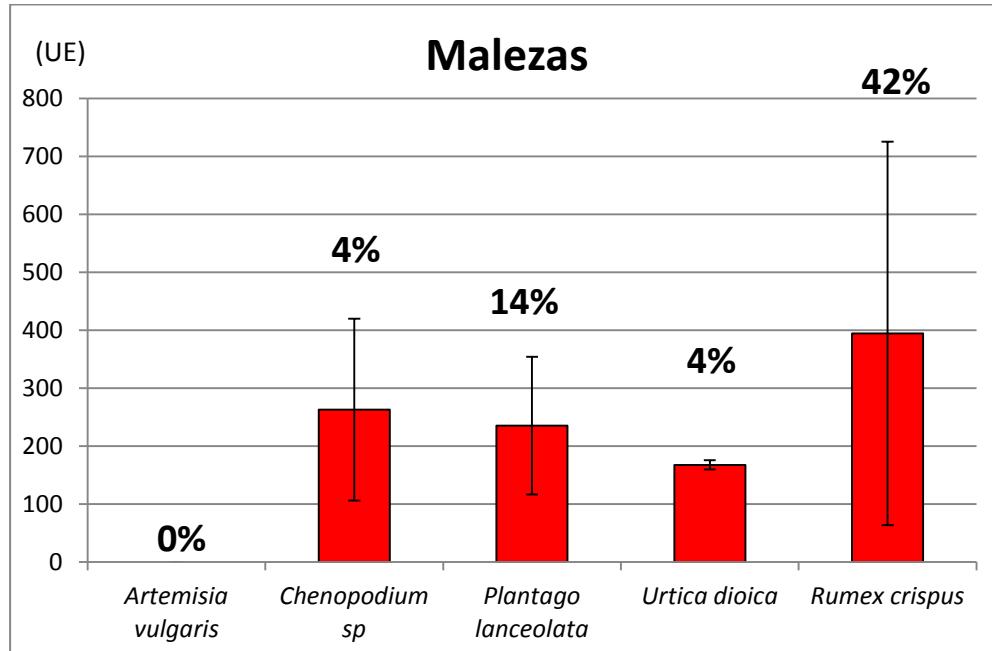
Un análisis de Chi cuadrado indica una diferencia estadísticamente significativa de la edad sobre *Phleum pratense*: de los 21 caballos jóvenes que participan en el estudio, 4 (19%) resultaron positivos; todos los adultos dieron negativo en el test.

Se rechaza la hipótesis de que exista una predisposición a padecer hipersensibilidad por gramíneas en función de la estación, sexo, raza o esterilización.

2. MALEZAS

Valores de la concentración sérica de IgE alérgeno-específicas (UE) frente a malezas

Rumex crispus es, con una diferencia verdaderamente destacable, quien tiene el valor medio de los niveles de IgE más elevado de todos (394 UE), así como el porcentaje de positividad más alto (42%). En el otro extremo está *Artemisia vulgaris*, a la que ningún caballo dio positivo. La baja desviación estándar de *Urtica dioica* indica que todos los caballos tuvieron unos niveles de IgE muy similares en el test (gráfica 2).



Gráfica 2: media, desviación estándar y porcentaje de positividad de las concentraciones de IgE alérgeno-específicas (UE) en suero frente a las cinco especies de malezas.

Efecto de la estación, sexo, edad, raza y esterilización sobre los alérgenos de malezas

Tabla 2: Valor de Chi cuadrado de los alérgenos de malezas frente a las variables de estudio.

| | <i>Chenopodium</i> | <i>P. lanceolata</i> | <i>Urtica dioica</i> | <i>Rumex crispus</i> |
|-----------------------|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Estación | 0'60 | 0'14 | 0'15 | 0'04 |
| Sexo | 0'51 | 0'41 | >0'99 | 0'35 |
| Edad | 0'50 | 0'43 | >0'99 | 0'08 |
| Raza | 0'55 | 0'76 | 0'77 | 0'42 |
| Esterilización | >0'99 | 0'41 | 0'51 | 0'77 |

Un análisis de Chi cuadrado encontró estadísticamente significativo el efecto de la estación sobre *Rumex crispus*, dado que un 18% de caballos dio positivo en primavera, un 62% en verano y un 44% en otoño.

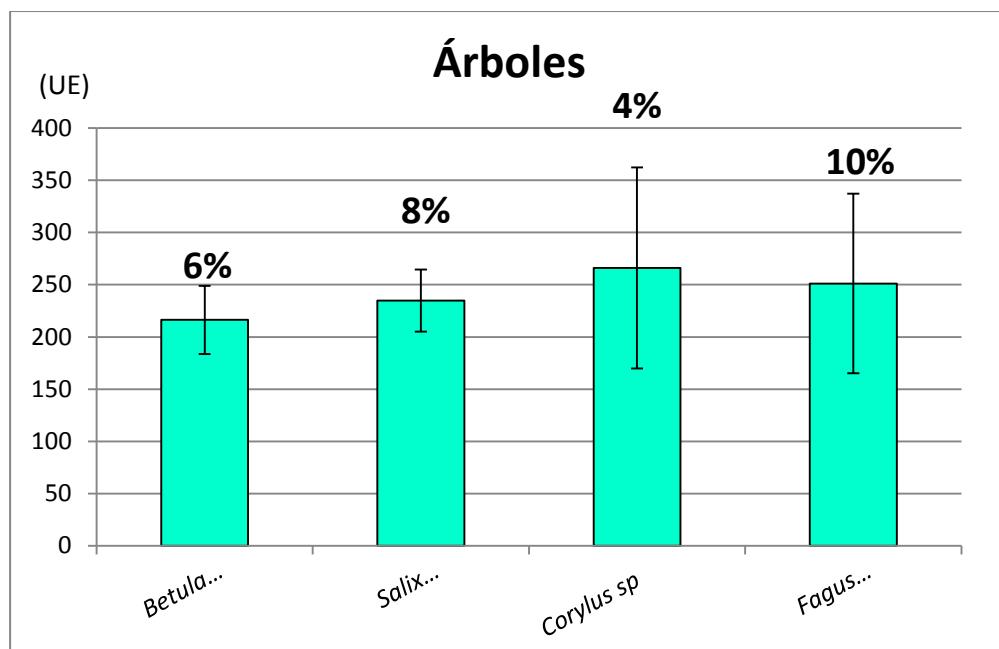
Efecto de la edad sobre *Rumex crispus*, se encuentra muy ligeramente por encima del valor umbral: de los 29 caballos adultos, 9 dieron positivo a él (31%), en tanto que de entre los 21 caballos jóvenes, lo hicieron 12 (57'14%). Esto es, hay casi más del doble de caballos jóvenes que de adultos afectados por esta maleza.

No se observó ninguna diferencia en cuanto a sexo, raza y esterilización.

3. ÁRBOLES

Valores de la concentración sérica de IgE alérgeno-específicas (UE) frente a árboles

Las medias de las concentraciones de IgE en suero son muy parecidas en todas las especies de árboles. El avellano (*Corylus*) es quien tiene la media más alta (266 UE), pero también la desviación estándar más elevada de modo que ello indica que hay muy poca precisión en los resultados de los niveles de IgE para dicho árbol; el abedul (*Betula alba-verrucosa-pendula*) tiene la media más baja, con 216 UE. El porcentaje de positividad más alto lo tiene el haya (*Fagus sylvatica*), con un 10%, y el más bajo el avellano con un 4% (gráfica 3).



Gráfica 3: media, desviación estándar y porcentaje de positividad de las concentraciones de IgE alérgeno-específicas (UE) en suero frente a las cuatro especies de árboles.

Efecto de la estación, sexo, edad, raza y esterilización sobre los alérgenos de árboles

Tabla 3: Valor de Chi cuadrado de los alérgenos de árboles frente a las variables de estudio.

| | <i>Betula alba</i> | <i>Salix caprea</i> | <i>Corylus</i> | <i>Fagus sylvatica</i> |
|-----------------------|--------------------|---------------------|----------------|------------------------|
| Estación | 0'05 | 0'02 | 0'60 | 0'08 |
| Sexo | >0'99 | >0'99 | 0'08 | >0'99 |
| Edad | 0'56 | >0'99 | 0'17 | >0'99 |
| Raza | 0'25 | 0'51 | 0'77 | 0'85 |
| Esterilización | >0'99 | 0'64 | 0'15 | 0'63 |

El efecto de la estacionalidad es bastante notable en al menos dos de las cuatro especies de árboles: si bien *Salix caprea* y *Betula alba* son los únicos que se encuentran estadísticamente significativos, no se puede ignorar que *Fagus sylvatica* está muy ligeramente por encima del valor umbral y por lo tanto existe un efecto de la estación sobre el haya.

También se podría decir que existe un efecto del sexo sobre *Corylus*, aunque no sea estadísticamente significativo por encontrarse muy ligeramente por encima del valor umbral: un 13% de hembras dio positivo en el test, mientras que todos los machos dieron negativo.

No se observó diferencia alguna en cuanto a edad, raza y esterilización.

4. HONGOS

Valores de la concentración sérica de IgE alérgeno-específicas (UE) frente a hongos

Sólo cuatro caballos dieron positivo en el test a alérgenos de esporas fúngicas, cada uno a un tipo de hongo distinto (*Alternaria alternata*, *Penicillium notatum*, *Ustilago tritici* y *Rhizopus nigricans*) (datos no mostrados). Los niveles de IgE que se alcanzaron en el test para cada alérgeno fueron similares entre ello, con un promedio de 197 UE.

Efecto de la estación, sexo, edad, raza y esterilización sobre los alérgenos de hongos

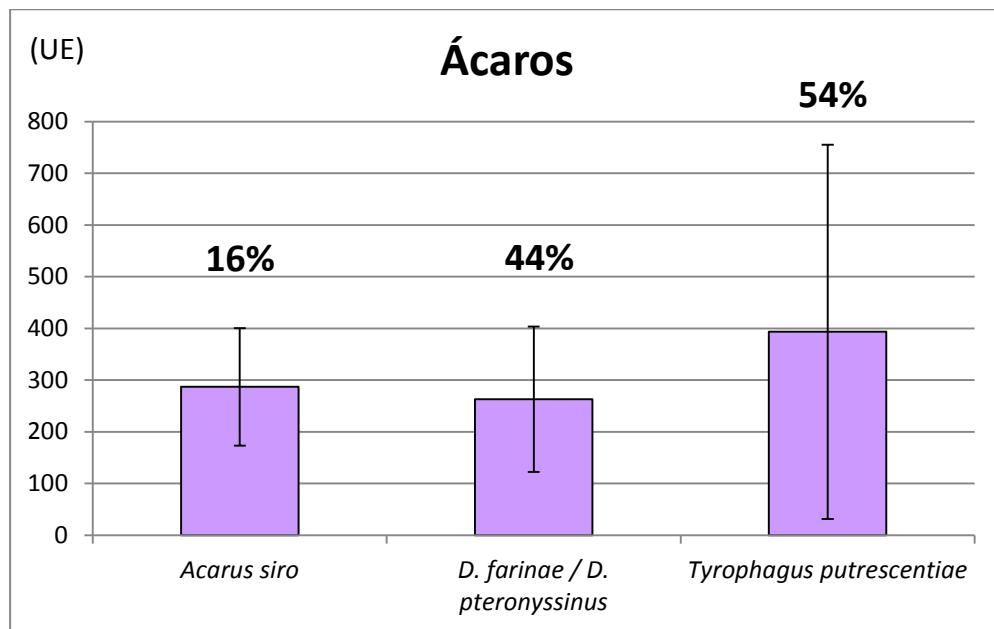
No se encontraron diferencias estadísticamente significativas sobre ninguna de las variables (datos no mostrados).

5. ÁCAROS

Valores de la concentración sérica de IgE alérgeno-específicas (UE) frente a ácaros

El ácaro de almacenamiento *Tyrophagus putrescentiae* es el que tiene la media de la concentración de IgE en suero más alta (393'41 UE) y el mayor porcentaje de positividad (54%). Por otro lado, *Dermatophagoides farinae* / *Dermatophagoides pteronyssinus* obtuvieron la media

de la concentración de IgE en suero más baja (262'86 UE) mientras que *Acarus siro* fue el que obtuvo menor número de casos positivos (16%) (gráfica 4).



Gráfica 4: media, desviación estándar y porcentaje de positividad de las concentraciones de IgE alérgeno-específicas (UE) en suero frente a las tres especies de ácaros.

Efecto de la estación, sexo, edad, raza y esterilización sobre los alérgenos de ácaros

Tabla 4: Valor de Chi cuadrado de los alérgenos de ácaros frente a las variables de estudio.

| | <i>Acarus siro</i> | <i>D. farinae / D. pteronyssinus</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> |
|-----------------------|--------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| Estación | 0'88 | 0'36 | 0'58 |
| Sexo | 0'40 | 0'21 | 0'35 |
| Edad | 0'44 | 0'39 | >0'99 |
| Raza | 0'45 | 0'45 | 0'88 |
| Esterilización | 0'12 | 0'02 | 0'56 |

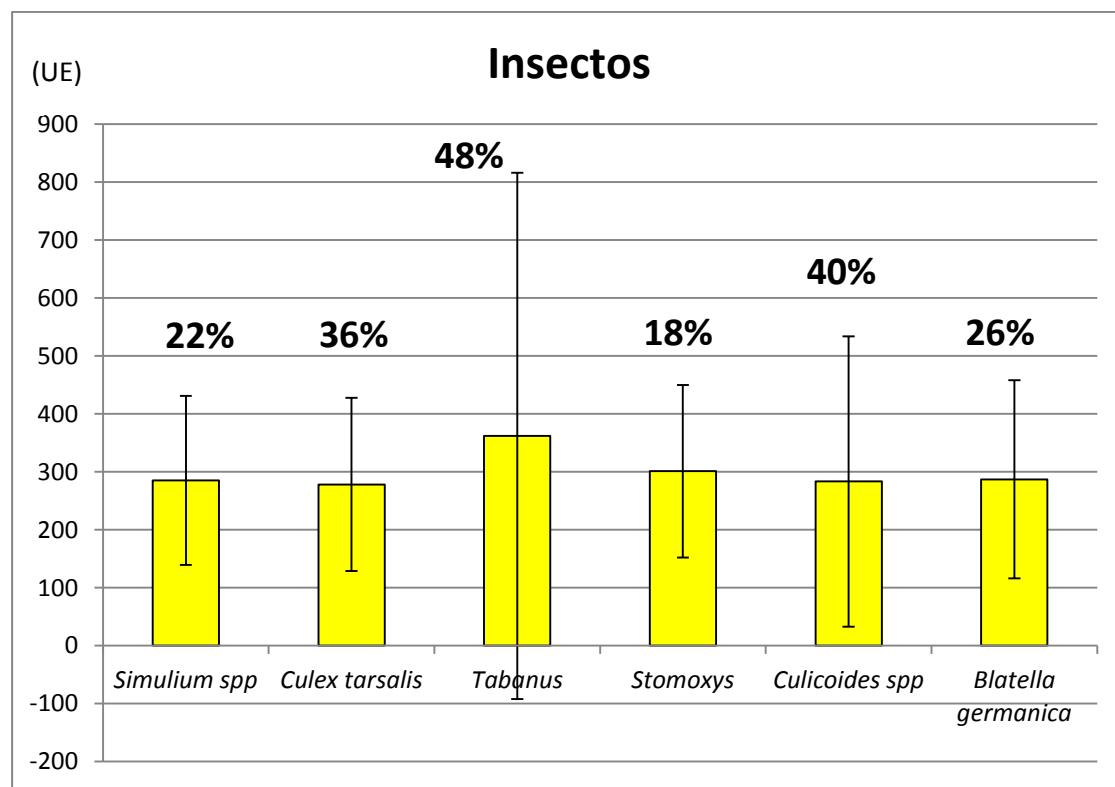
Un análisis de Chi cuadrado mostró una diferencia estadísticamente significativa entre los caballos enteros y esterilizados y los ácaros del polvo *D. farinae / D. pteronyssinus*. Un 30% de los caballos castrados dieron positivo a *D. farinae/ D. pteronyssinus*, frente a un 65% de los caballos enteros; es decir, la prevalencia entre los caballos que no habían sido esterilizados fue más del doble que la de los caballos esterilizados.

Se descartó un efecto de la estación, sexo, edad y raza sobre los alérgenos de los ácaros.

6. INSECTOS

Valores de la concentración sérica de IgE alérgeno-específicas (UE) frente a insectos

Los tábanos (*Tabanus*) son quienes obtuvieron la media de la concentración de IgE y el porcentaje de positividad más altos (48%). En general, exceptuando al tábano, las medias de las concentraciones de IgE en suero para los distintos insectos son parecidas entre sí. Las desviaciones estándar son también bastante similares, excepto las del tábano y el *Culicoides* que destacan por ser más amplias que la de los demás, muy especialmente la del primero; ello indica que hay una baja precisión, es decir, que hay caballos con unos niveles de IgE altísimos y otros bajísimos. Los porcentajes de positividad son más dispares, siendo menor en *Stomoxys* y *Simulium spp.* (18 y 22% respectivamente) y mayor en *Tabanus* y *Culicoides* (con un 40%) (gráfica 5).



Gráfica 5: media, desviación típica y porcentaje de positividad de las concentraciones de IgE alérgeno-específicas (UE) en suero frente a las seis especies de insectos.

Efecto de la estación, sexo, edad, raza y esterilización sobre los alérgenos de insectos

Tabla 5: Valor de Chi cuadrado de los alérgenos de insectos frente a las variables de estudio.

| | <i>Simulium spp.</i> | <i>Culex tarsalis</i> | <i>Tabanus</i> | <i>Stomoxys</i> | <i>Culicoides spp.</i> | <i>Blatella germanica</i> |
|-----------------------|--------------------------|---------------------------|----------------|-----------------|----------------------------|-------------------------------|
| Estación | 0'76 | 0'03 | 0'71 | 0'98 | 0'31 | 0'97 |
| Sexo | 0'71 | 0'34 | 0'54 | 0'70 | >0'99 | >0'99 |
| Edad | 0'31 | 0'38 | 0'39 | 0'0065 | >0'99 | 0'75 |
| Raza | 0'44 | 0'94 | 0'87 | 0'15 | 0'37 | 0'68 |
| Esterilización | >0'99 | 0'76 | >0'99 | 0'28 | 0'76 | >0'99 |
| Capa | 0'48 | 0'16 | 0'0005 | 0'24 | 0'75 | 0'26 |

Un análisis de Chi cuadrado reveló la existencia de diferencias en cuanto a la estación sobre *Culex tarsalis*, y se determinó que la prevalencia fue mayor en primavera (con un 55'55% de caballos positivos), seguida del otoño (37'5%) y verano (12'5%).

También destaca claramente un efecto de la capa sobre *Tabanus* ($p=0'0005$). De menor a mayor prevalencia, las capas más afectadas fueron las siguientes: alazán (0%), torda (30%), castaña (64'7%) y otras (100%); este último grupo está formado por siete caballos: dos de capa pio, cuatro negro y uno palomino.

Por último, se encontró un efecto de la edad sobre *Stomoxys* o mosca del establo: un 31% de los caballos adultos dio positivo a él, contrastando con un 0% de jóvenes.

Se rechazó la hipótesis de que el sexo, la raza y la esterilización tengan efecto sobre la hipersensibilidad a los insectos.

6. DISCUSIÓN

Las alergias en caballos a menudo se diagnostican basándose sólo en la historia clínica del animal y los signos clínicos. Los test serológicos son una opción tanto para confirmar la naturaleza alérgica de la enfermedad como para identificar el/los alérgeno(s) implicado(s), y son de gran ayuda a la hora de establecer un tratamiento de inmunoterapia específica (Morgan *et al.*, 2007). Sin embargo, están lejos de tener una fiabilidad absoluta. Un estudio realizado por Frey *et al.* (2008) determinó que la prueba Allercept a menudo produce reacciones positivas en individuos clínicamente sanos, y que la determinación de los alérgenos implicados en la atopía y/o la hipersensibilidad a insectos con un test serológico puede tener una baja especificidad cuando se buscan alérgenos específicos.

En el presente trabajo, se midió con un test ELISA los niveles séricos de IgE alérgeno-específicos frente a un total de 30 alérgenos en 50 caballos diagnosticados clínicamente de dermatitis alérgica. El panel de alergia consta de 24 alérgenos ambientales y 6 alérgenos de extractos de insectos. Los resultados concordaron con la sintomatología en un 92% de los casos, es decir, que en 46 de los 50 caballos se observó un aumento en los niveles de IgE alérgeno-específicos en suero frente a uno o más alérgenos.

Sin embargo, hubo cuatro caballos que no llegaron a sobrepasar el valor umbral (150 UE) para ningún alérgeno, a pesar de que manifestaban prurito de forma estacional. Aunque el test los considerara negativos, no debería descartarse la posibilidad de un error laboratorial por no haber incluido el/los alérgeno(s) indicado(s) en el test (por ejemplo, el polen del olivo es muy importante en España por su gran alergenicidad). Respecto a esos cuatro ejemplares, para confirmar el diagnóstico, sería conveniente volver a extraerles una muestra de sangre para enviarla a un laboratorio donde analicen otros alérgenos o bien hacer una prueba intradérmica.

Estos resultados son indicativos de que no siempre existe una correlación entre la gravedad de los síntomas y los niveles de IgE séricos. Es difícil definir los niveles normales de IgE, ya que fluctúan en suero como las demás inmunoglobulinas y el umbral de prurito es diferente para cada animal. De hecho, se sabe que aunque aproximadamente un 80% de personas con dermatitis atópica presenta niveles elevados de IgE en suero, un 20% tiene niveles normales (Provost y Flynn, 2001).

Por otra parte, Meulenbroek *et al.* (2013) observaron que niveles de IgE alérgeno-específicos detectables en sangre de caballos no indican alergia, sino que es tan sólo una reacción periódica estacional a alérgenos ambientales. Estos mismo autores sostienen también que los niveles circulantes de IgE alérgeno-específicos no reflejan qué cantidad de mastocitos o eosinófilos se encuentran unidos a IgE, que son las células que provocan la respuesta inflamatoria y los síntomas clínicos de la alergia. Por lo tanto, puede haber caballos con altos niveles de IgE frente a uno o más alérgenos y que no sean alérgicos.

En resumen, la sensibilización a un alérgeno en particular no significa necesariamente que un individuo sea alérgico o vaya a desarrollar en un futuro signos de alergia, pues diversos estudios evidenciaron que la sensibilización a alérgenos ocurre a veces en caballos clínicamente sanos (Lorch *et al.*, 2001a,b; Wagner *et al.*, 2009). Un resultado negativo tampoco permite descartar por completo la alergia, pero en caso de que manifiesten signos clínicos se les debe poner en tratamiento.

Alérgenos ambientales

Tener acceso a los datos de 50 caballos diagnosticados clínicamente de dermatitis atópica en España era una buena oportunidad para estudiar los efectos de la estación anual, edad, sexo, raza, esterilización y color de la capa sobre los niveles de IgE específicos. La influencia de la edad, raza y sexo en la dermatitis atópica equina no han sido estudiados en profundidad. Lamentablemente, no tenemos datos sobre la genealogía ni del entorno en el que viven dichos animales por lo que no pudimos incluir la genética ni el medioambiente en el estudio.

Gramíneas. Los porcentajes más altos de positividad a las gramíneas en este estudio fueron para: *Dactylis glomerata* (24%), mientras que para *Phleum pratense* y *Secale cereale* fueron un 16% y un 8% de los casos positivos respectivamente. Consultando la bibliografía, no hemos encontrado trabajos en los que se analice la prevalencia de personas o animales afectados por las diferentes plantas de la familia de las gramíneas, por lo que no tenemos datos con los cuales comparar nuestros resultados. De todas formas, el análisis individual del polen de las gramíneas es complicado por el hecho de que no se identifican a nivel de especie: con pocas excepciones, todos los granos de polen de las gramíneas son muy similares, así que desde el punto de vista alergénico su identificación a nivel de especie no es importante ya que existe un alto grado de reactividad cruzada entre ellos (Sánchez Mesa *et al.*, 2003).

Se encontró un efecto de la edad estadísticamente significativo sobre *P. pratense*, con un 19% de caballos jóvenes y ningún adulto positivo. En la bibliografía consultada no hay estudios que investiguen la sensibilización a *P. pratense* y su relación con la edad en equinos. Sin embargo, en una investigación de Warm *et al.* (2013) encontramos resultados similares en humana: estos autores compararon la prevalencia de sensibilización alérgica en un grupo de personas adultas durante 15 años y observaron una disminución en la prevalencia de la sensibilización a *P. pratense* con la edad. Un aumento de la edad (entre otros factores) se asoció fuertemente con un menor riesgo a padecer niveles altos de IgE. Una posible explicación a este suceso podría tener que ver con las modificaciones del sistema inmune que van asociados al envejecimiento, que se define como inmunosenescencia (Castelo-Branco y Soveral, 2013). Se sospecha que la inmunosenescencia podría estar relacionada con la reducción de la prevalencia de las enfermedades alérgicas en los individuos más ancianos de la población (Scichilone *et al.*, 2011).

Malezas. *Rumex crispus* fue la maleza con un porcentaje de positividad más alto (42%), seguido de *Plantago lanceolata* (14%) y hasta un 4% para *Chenopodium* y *Urtica dioica*. En la región mediterránea, las malezas causantes de polinosis en personas de mayor prevalencia son las del género *Parietaria* (D'Amato *et al.*, 2007) y sin embargo, *Parietaria* no está incluida en el panel por lo que desconocemos su efecto en los equinos. A día de hoy, apenas se conoce la capacidad

alergénica de las malezas en medicina veterinaria, y en medicina humana las investigaciones hasta ahora se han centrado sobre todo en las gramíneas. Esto podría ser una interesante línea de investigación en un futuro, especialmente en lo referente a *Rumex crispus* y su intensa reactividad en caballos.

Los valores más altos de *Rumex crispus* se alcanzaron en verano (62%), seguido del otoño (44%) y por último en primavera (18%). Esto se explica porque esta planta comienza a crecer a finales de invierno, florece en primavera hasta finales de verano y fructifica desde el comienzo de esta estación hasta mediados de otoño (Castillejos y Solano, 2008). Ese pico de sensibilización en verano coincide con el momento de máxima floración de esta planta.

Árboles. Los árboles fueron el segundo grupo de alérgenos con los porcentajes de positividad más bajos. *Fagus sylvatica* obtuvo el mayor número de casos positivos (10%) y *Corylus* el que menos (4%). En la región mediterránea, los árboles que más frecuentemente causan polinosis en personas son *Olea europaea* y *Cupressus*; *F. sylvatica* no parece ser una especie alergológicamente importante, y de hecho, su temporada polínica tiende a ser bastante breve (D'Amato *et al.*, 2007). Se desconoce qué especies arbóreas causan polinosis en caballos, pero al estar comprobada la reactividad cruzada entre estos árboles, la baja positividad a todos ellos nos lleva a pensar en un principio que en caballos los alérgenos de los árboles no son una fuente significativa de alergias.

Los resultados que obtuvimos en el grupo de los árboles nos dejaron con más preguntas que respuestas. Se encontró un efecto de la estacionalidad bastante notable sobre *Salix caprea* y *Betula alba*; si bien no fue estadísticamente significativo el efecto de la estacionalidad sobre *F. sylvatica*, estuvo muy próximo a serlo y por ende la influencia de la estación otoñal sobre éste es innegable. Los resultados sugieren que la polinización de este árbol alcanza su pico en otoño. Según una publicación del MAGRAMA realizada por Palá *et al.*, hemos comprobado que en abril y mayo tiene lugar la floración y posteriormente la polinización del haya; la maduración de los frutos se completa en septiembre-octubre. Por lo tanto, el período de máxima alergia coincidiría con la maduración de los frutos, no cuando la polinización está en auge lo que dificulta dar una explicación a los resultados obtenidos.

Para *Salix caprea* hubo un 28'57% de afectados en otoño, destacando claramente sobre primavera y verano en los cuales no hubo ninguno. La floración del sauce tiene lugar, dependiendo de la especie, entre los meses de enero y mayo (Publicación del MAGRAMA realizada por Prada *et al.*). Sin embargo, esta información no encaja en absoluto con nuestros resultados, aunque no hemos podido dar con una explicación para este suceso. Algo similar ocurre con el polen de *Betula*, que es el más alergénico de todos y que en España poliniza entre

marzo y abril (Subiza *et al.*, 2007). Sin embargo, este último dato no concuerda con los resultados que hemos obtenido para este árbol, ya que no hubo casos positivos a *Betula* en primavera y verano pero en otoño el número se incrementó hasta un 20%.

En conclusión, los caballos fueron positivos a pólenes de todos los árboles en épocas que no se correspondían con el momento en que las cantidades de polen en el aire son más altas. Son necesarios más estudios para esclarecer estos hechos que expliquen por qué es en otoño cuando se encuentra la mayor prevalencia. Otro asunto a resolver es el del panel de alérgenos de los tests de análisis, pues sería interesante incluir a alérgenos de *Quercus*, *Cupressus* y *Olea*, especies importantes en el área mediterránea. El actual panel recoge los pólenes de los árboles más frecuentes de Centroeuropa y de Norteamérica y faltan los del área mediterránea.

Ácaros. El ácaro de almacenamiento *Tyrophagus putrescentiae* obtuvo el mayor número de casos positivos (54%) y el mayor porcentaje de positividad de entre todos los tipos de alérgenos del estudio; en segundo lugar están *Dermatophagooides farinae* / *Dermatophagooides pteronyssinus* (44%) y por último, *Acarus siro* (16%).

Estos resultados coinciden con los resultados hallados en investigaciones anteriores. En un estudio realizado por Wilkołek *et al.* (2014) se demostró que las reacciones positivas a los ácaros eran las más frecuentes de entre todos los grupos de alérgenos; además, se vio que los caballos clínicamente sanos mostraban un alto porcentaje de reacciones positivas a *D. farinae* (80%), *D. pteronyssinus* (35,71%), *T. putrescentiae* (42,86%) y *A. siro* (40,48%). Mueller *et al.* (2000) realizaron en Australia un estudio muy similar al nuestro con 1000 perros y determinaron que los ácaros del polvo doméstico eran los más comunes en la clínica de pequeños animales, siendo *D. farinae* el más frecuente de todos. El alto porcentaje de reacciones positivas obtenidas en nuestro estudio no hace sino corroborar que los ácaros son también el principal grupo de alérgenos ambientales que afecta a los caballos.

Se halló un efecto estadísticamente significativo de la esterilización sobre *D. farinae/D. pteronyssinus*, pues estos afectaron a un 65% de caballos enteros y sólo a un 30% de castrados. No hemos encontrado datos con los cuales comparar este resultado en la especie equina, pero en perros con dermatitis atópica se vio que la castración iba generalmente asociada a bajos niveles de IgE (Lauber *et al.*, 2012) aunque se desconoce el por qué. Quizá haya alguna influencia de las hormonas sexuales, pero no sabemos en qué sentido.

Hongos. Los hongos obtuvieron los porcentajes de positividad más bajos de entre todos los grupos de alérgenos. Una explicación a este bajo número de caballos afectados es que las

condiciones medioambientales (humedad y temperatura principalmente) en el entorno en el que vivían, área sur peninsular, no eran favorables para su desarrollo. Sin embargo, es improbable que esta sea la causa ya que en el estudio llevado a cabo por Infante *et al.* (1999) se determinó que las esporas de *Alternaria* y *Cladosporium* se encontraban en mayor abundancia en las provincias del sur de España que en las del norte.

Un estudio realizado por Frey *et al.* (2008) en Suecia determinó que todos los caballos eran negativos a *Alternaria*, *Cladosporum*, *Epicoccum*, *Helminthosporum*, *Penicillium* y *Fusarium*, en tanto que se observaron unas pocas reacciones positivas hacia *Aspergillus*, *Rhizopus* y *Ustilago*. Según estos autores, parece que los hongos no son un alérgeno importante en caballos, aunque la reactividad a los hongos podría ser más importante en los caballos alojados en un ambiente con altos niveles de moho que en aquellos que están al aire libre.

Eder *et al.* (2001) ya habían observado la importancia del factor medioambiental sobre los niveles de IgE frente a los alérgenos de los hongos *Aspergillus* y *Alternaria*, puesto que los niveles de IgE frente a estos hongos dependían de las condiciones de los picaderos y yeguadas y del país donde se realizaba los análisis.

Alérgenos de insectos

En general, los porcentajes de positividad frente a los diferentes insectos fueron bastante elevados. *Tabanus* obtuvo el porcentaje de positividad más alto (48%; es el segundo tipo de alérgeno más frecuente del estudio), seguido de *Culicoides* (40%) y *Culex tarsalis* (36%). *Tabanus* fue también quien alcanzó el valor medio de la concentración de IgE más elevado de todos. Estos resultados son muy semejantes a los obtenidos por Wilkołek *et al.* (2014), en cuyo estudio los insectos que más reacciones positivas provocaron fueron *Tabanus* (35'71%), *Culicoides* spp. (28'57%) y *Simulium* (26'19%), y también los títulos más elevados de IgE fueron frente a *Tabanus*.

La región geográfica y el entorno, la genética, la raza, la edad, el género y el color de la capa han sido sugeridos en múltiples publicaciones como potenciales factores de riesgo en la hipersensibilidad a la picadura de insecto, y sin embargo los resultados en la literatura veterinaria muestran a menudo resultados contradictorios que pueden ser atribuidos a las diferentes diseños experimentales de cada investigación.

En nuestro estudio no se encontró estadísticamente significativo el efecto del sexo, la raza y la esterilización sobre la hipersensibilidad a la picadura de insecto, lo cual –respecto a los dos primeros factores- concuerda con los resultados de investigadores anteriores (Anderson *et al.*,

1988; Scott y Miller, 2003; Hallamaa, 2009; Raskova, 2013; Schurink *et al.*, 2014). Por lo que sabemos, el efecto de la esterilización no ha sido estudiado aún.

El efecto de la edad sigue siendo un tema controvertido a día de hoy, ya que existen grandes diferencias entre los resultados obtenidos por los diferentes investigadores. En nuestro estudio se encontró un efecto de la edad sobre *Stomoxys*, estableciendo que hay una mayor prevalencia en caballos adultos que en jóvenes (31% de adultos positivos frente al 0% de jóvenes). Halldórdsóttir y Larsen (1991) señalaron que es lógico que exista un aumento del riesgo con la edad, ya que ello se asocia con una mayor exposición a factores que favorecen el desarrollo de la enfermedad (y no necesariamente con una mayor susceptibilidad). Estos autores también observaron en su estudio un aumento de la prevalencia con la edad de los caballos.

Se halló también un efecto de la estación sobre *Culex tarsalis*, siendo el mayor número de casos positivos en primavera (55'55%), seguida del otoño (37'5%) y por último en verano (12'5%). Según Mitchell (1981), las hembras completan la diapausa después del solsticio de invierno y cuando las temperaturas aumentan salen de su letargo para comenzar a alimentarse de sangre cuanto antes ya que lo necesitan para su reproducción. El alto porcentaje de caballos sensibilizados a *Culex* en primavera podría coincidir con esa primera toma de sangre tras la hibernación.

Por último, se encontró un efecto muy marcado de la capa sobre *Tabanus*: las capas más afectadas en nuestro estudio fueron negro, pío y palomino; en segundo lugar la castaña, y en tercer lugar la torda. Los alazanes no fueron afectados.

Aunque la gran mayoría de los autores hasta la fecha han descartado el color de la capa como un factor importante en la prevalencia de la hipersensibilidad a la picadura de insecto (Anderson *et al.*, 1988; Steinman *et al.*, 2003; Hallamaa, 2009), dos autores destacan por haber obtenido diferentes resultados en sus investigaciones. Braverman *et al.* (1983) descubrieron que los caballos de colores más pálidos parecían ser menos sensibles que los de colores oscuros, aunque hay que subrayar que el tamaño de la muestra de este último grupo era mucho más pequeño. Schurink *et al.* (2013) encontraron que en las hembras de pony de las Shetland el color de la capa se asoció de forma significativa a la hipersensibilidad a la picadura de *Culicoides* spp. En su estudio, se vio que las yeguas de capa pío negro tenían una mayor probabilidad de manifestar signos clínicos, en comparación con las yeguas de capa alazán. Nuestros resultados son muy parecidos a los de estos dos autores, pero también nos encontramos con el mismo problema que Braverman *et al.* (1983) ya que el tamaño de la muestra con el que trabajamos es muy pequeño. Es evidente que son necesarios más estudios que trabajen con tamaño de muestras más grandes para determinar si las capas oscuras ejercen una atracción sobre los insectos.

7. CONCLUSIONES

Los alérgenos de los pólenes, ácaros, hongos e insectos son responsables de causar prurito y otros signos clínicos en caballos. Los resultados de este estudio demuestran que los ácaros son el principal grupo de alérgenos que afecta a los caballos, seguido de insectos y pólenes frente a malezas. El sexo y la raza no son factores predisponentes a padecer dermatitis alérgica. Se observó un efecto de la estación, edad, esterilización y color de la capa sobre distintos tipos de alérgenos. No obstante, la variabilidad entre el tamaño de las muestras utilizadas y las diferencias poblacionales en las distintas investigaciones dificultan las comparaciones con otros estudios. Se necesitan realizar más estudios para identificar y determinar la prevalencia de los alérgenos que afectan a los caballos con dermatitis alérgica en España.

CONCLUSIONS

Pollen allergens, mites, fungi and insects are responsible of pruritus and other clinical signs in horses. The results of this study show that mites are the main group of allergens that affect horses, followed by insects and weed pollens. Gender and breed are not influencing factors to develop allergic dermatitis. An influence of season, age, sterilization and coat color on different types of allergens was observed. However, the variability between the size of the samples and population differences in the investigations difficult comparisons with other studies. Further studies are needed to identify and establish the prevalence of allergens that affect horses with allergic dermatitis in Spain.

8. VALORACIÓN PERSONAL

En primer lugar, considero que realizar este trabajo de investigación me ha sido de gran utilidad para comprender cómo se redacta un texto científico, ya que es algo que nunca antes se nos había pedido hacer durante la carrera. Creo que es todo un acierto hacerlo por primera vez bajo la supervisión de un profesor y no cuando uno está ejerciendo la profesión, ya que de esta forma podemos preguntar todas las dudas que podamos albergar al respecto y corregir y perfeccionar todo lo que creemos que se puede mejorar, que seguramente no es poco. En mi opinión, puede ser muy beneficioso para nuestro oficio como veterinarios, pues nos aportará la confianza y las herramientas necesarias para desenvolvernos con mayor soltura y seguridad el día en que tengamos que enfrentarnos a un trabajo de este calibre por nuestra cuenta. Por último, ha sido una experiencia muy satisfactoria haber podido aportar alguna idea novedosa y completar un poco más de esta manera investigaciones anteriores hechas por profesionales

veteranos. Espero que en un futuro pueda volver a redactar un texto científico de algún estudio que yo misma haya llevado a cabo, bien en solitario o en colaboración con otros autores.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Alcázar P., Cariñanos P., De Castro C., et al. (2004) Airborne plane-tree (*Platanus hispanica*) pollen distribution in the city of Córdoba, South-western Spain, and possible implications on pollen allergy. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* 14: 238-243.
- Anderson G. S., Belton P., Kleider N. (1988) The Hypersensitivity of Horses to *Culicoides* Bites in British Columbia. *Can. Vet. J.*, 29: 718-723.
- Boquete M., Iraola V., Fernández-Caldas E. et al. (2006) House Dust Mite Species and Allergen Levels in Galicia, Spain: a Cross-Sectional, Multicenter, Comparative Study. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 16: 169-176.
- Bousquet J., Guerin B., Hewitt B. et al. (1985) Allergy in the Mediterranean area. III. Cross reactivity among *Oleaceae* pollens. *Clin. Allergy.*, 15: 439-440.
- Braverman Y., Ungar-Waron H., Frith K. (1983) Epidemiological and immunological studies of sweet itch in horses in Israel. *Vet. Rec.*, 112: 521-524.
- Castelo-Branco C., Soveral I. (2013) The immune system and aging: a review. *Gynecol. Endocrinol.*, Early Online: 1-7.
- Castillejos C., Solano E. (2008) Flora del bajío y de regiones adyacentes. Familia *Polygonaceae*. Fascículo 153. Insitituto de ecología, A. C. Veracruz, México.
- Crowther D., Horwood J., Baker N. et al. (2000) House Dust Mites and the Built Environment: A Literature Review. The Bartlett, UCL, London, September.
- D'Amato G., Cecchi L., Bonin S. et al. (2007) Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 62: 976-990.
- D'Amato G., Chatzigeorgiou G., Corsico R. (1997) Evaluation of the prevalence of skin prick test positivity to *Alternaria* and *Cladosporium* in patients with suspected respiratory allergy. *Allergy*, 52: 711-716.
- De Benedetto A., Kubo A., Beck L. A. (2011) Skin barrier disruption: a requirement for allergen sensitization? *J. Invest. Dermatol.*, 132: 949-63.
- Díaz de la Guardia C., Alba F. et al. (2006) Aerobiological and allergenic analysis of *Cupressaceae* pollen in Granada (Southern Spain). *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 16: 24-33.
- Docampo S., Trigo M. M., Recio M. (2010) High incidence of *Aspergillus* and *Penicillium* spores in the atmosphere of the cave of Nerja (Malaga, southern Spain). *Aerobiología*, 26: 89–98.

- Eder C., Curik I., Brem G., et al. (2001) Influence of environmental and genetic factors on allergen-specific immunoglobulin-E levels in sera from Lipizzan horses. *Equine Vet. J.*, 33: 714-720.
- Fadok V., Greiner E. C. (1990) Equine insect hypersensitivity: skin test and biopsy results correlated with clinical data. *Equine Vet. J.*, 22: 236-240.
- Frey R., Bergvall K., Egenvall A. (2008) Allergen-specific IgE in Icelandic horses with insect bite hypersensitivity and healthy controls, assessed by FcεR1a-based serology. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 126: 102-109.
- Galán C., Emberlin J., Domínguez E. et al. (1995) A comparative analysis of daily variations in the *Gramineae* pollen counts at Córdoba, Spain and London, UK. *Grana* 34: 189-198.
- Godoy A., Dörner C. (2014) Hipersensibilidad en equinos. Avances en Ciencias Veterinarias V29 N°1.
- González E. M., Villalba M., Rodríguez R. (2000) Allergenic cross reactivity of olive pollen. *Allergy*, 55: 658-63.
- Guerra F., Daza J. C., Miguel R. et al. (1996) Sensitivity to *Cupressus*: allergenic significance in Córdoba (Spain). *J. Investigig. Allergol. Clin. Immunol.*, 6: 117-120.
- Hallamaa R. (2009) Characteristics of equine summer eczema with emphasis on differences between Finnhorses and Icelandic horses in a 11-year study. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51: 29.
- Halldórdsóttir S., Larsen H. J. (1991) An epidemiological study of summer eczema in Icelandic horses in Norway. *Equine Vet. J.*, 23: 296-299.
- Hellberg W., Mellor P.S., Torsteinsdottir S., Marti E. (2009) Insect bite hypersensitivity in the horse: Comparison of IgE-binding proteins in salivary gland extracts from *Simulium vittatum* and *Culicoides nubeculosus*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 132: 62-67.
- Horner W. E., Helbling A., Salvaggio J. E., Lehrer S. B. (1995) Fungal Allergens. *Clinical Microbiology Reviews*, 8: 161-179.
- Infante F., Alba F., Caño M., et al. (1999) A Comparative Study of the Incidence of Alternaria Conidia in the Atmosphere of Five Spanish Cities. *Polen*, 10: 05-13.
- Inman A. O., Olivry T., Dunston S. M. et al. (2001) Electron microscopic observations of stratum corneum intercellular lipids in normal and atopic dogs. *Vet Pathol.*, 38: 720-723.
- Jensen-Jarolim E., Einhorn L., Herrmann I. et al. (2015) Pollen allergies in Humans and their Dogs, Cats and Horses: Differences and Similarities. *Clin. Transl. Allergy.*, 5: 15.
- Langner K., Darpel K., Drolet B. et al. (2008) Comparison of cellular and humoral immunoassays for the assessment of summer eczema in horses. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 122: 126-137.
- Lauber B., Molitor V., Meury S. (2012) Total IgE and allergen-specific IgE and IgG antibody levels in sera of atopic dermatitis affected and non-affected Labrador- and Golden retrievers. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 149: 112-118.

- Lorch G., Hillier A., Kwochka K. *et al.* (2001)a Comparison of immediate intradermal test reactivity with serum IgE quantitation by use of a radioallergosorbent test and two ELISA in horses with and without atopy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 218: 1314-1322.
- Lorch G., Hillier A., Kwochka K. *et al.* (2001)b Results of intradermal tests in horses without atopy and horses with atopic dermatitis or recurrent urticaria. *Am. J. Vet. Res.*, 62: 1051-1059.
- Macan J., Kanceljak B., Plavec D., Milkovic-Kraus S. (2003) Differences in mite fauna between the continental and Mediterranean climates of Croatia: microscopy and Dustscreen test findings. *Allergy*, 58: 780-783.
- Marsella R. (2013) Equine allergy therapy: Update on the Treatment of Environmental, Insect Bite Hypersensitivity, and Food Allergies. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 29: 551-557.
- Marsella R., Johnson C., Ahrens K. (2014) First case report of ultrastructural cutaneous abnormalities in equine atopic dermatitis. *Res. Vet. Sci.*, 97: 382-385.
- Meulenbroek C., van der Meide N., Zaiss D. *et al.* (2013) Seasonal differences in cytokine expression in the skin of Shetland ponies suffering from insect bite hypersensitivity. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 151: 147-56.
- Mitchell C. J. (1981) Diapause Termination, Gonoactivity, and Differentiation of Host-Seeking Behavior from Blood-Feeding Behavior in Hibernating *Culex Tarsalis* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 18: 386-394.
- Morgan E. E., Miller Jr. W. H., Wagner B. (2007) A comparison of intradermal testing and detection of allergen-specific immunoglobulin E in serum by enzyme-linked immunosorbent assay in horses affected with skin hypersensitivity. *Vet Immunol. Immunopathol.*, 120: 160-167.
- Moscato G., Perfetti L., Galdi E. *et al.* (2000) Levels of house-dust-mite allergen in homes of nonallergic people in Pavia, Italy. *Allergy*, 55: 873-878.
- Mueller R. S., Bettenay S. V., Tideman L. Aero-allergens in canine atopic dermatitis in southeastern Australia based on 1000 intradermal skin tests. *Aust. Vet. J.*, 78: 392-399.
- Mueller R., Bettenay S., Tideman L. (2000) Aero-allergens in canine atopic dermatitis in southeastern Australia based on 1000 intradermal skin tests. *Aust. Vet. J.*, 78: 392-399.
- Noli C., Foster A., Rosenkratz W. (2014) Veterinary Allergy. WILEY Blackwell. UK.
- Oliet J., Pardo F., Losing H. “*Fagus sylvatica* L.” en MAGRAMA. [en línea] Disponible en http://www.magrama.gob.es/es/parques-nacionales-oapn/publicaciones/Semillas_-_Fichas_de_especies_F-J_tcm7-320571.pdf [Accesado el día 19/11/2015]
- Oliveira-Filho J. P., Fabris V. E., Gonçalves R. C. *et al.* (2012) Clinical and histopathological aspects of the insect bite hypersensitivity in horses. *Ciências Agrárias, Londrina*, 33: 1113-1122.
- Peeters L., Janssens S., Coussé A., Buys N. (2014) Insect bite hypersensitivity in Belgian warmblood horses: prevalence and risk factors. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 83: 240-249.

- Portnoy J. M., Jara D. (2015) Mold allergy revisited. Ann. Allergy Asthma Immunol., 114: 83-89.
- Prada M. A., Rueda J., Magdaleno F., Martínez R. "Salix spp." en MAGRAMA. [en línea] Disponible en http://www.magrama.gob.es/es/parques-nacionales-oapn/publicaciones/Semillas_-_Fichas_de_especies_S-V_tcm7-320576.pdf [Accesado el día 19/11/2015]
- Provost T., Flynn J. (2001) Cutaneous Medicine: Cutaneous Manifestations of Systemic Disease. B.C. Decker. Canada.
- Raskova V. (2013) Incidence of Insect Bite Hypersensitivity in a Small Population of Warmblood Horse Breed in the Czech Republic. J. Equine Vet. Sci., 33: 427-432.
- Rendle D. I., Durham A. E., Wylie C. E., Newton J. R. (2010) Results of intradermal testing for the investigation of atopic dermatitis and recurrent urticarial in 50 horses in the south of England. Equine Vet. Educ., 22: 616-622.
- Sabariego S., Díez A., Gutiérrez M. (2007) Monitoring of airborne fungi in Madrid (Spain). Acta Bot. Croat., 66: 117-126.
- Sánchez Mesa J. A., Smith M., Emberlin J. et al. (2003) Characteristics of grass pollen seasons in areas of southern Spain and the United Kingdom. Aerobiologia, 19: 243-250.
- Santoro D., Marsella R. (2014) Animal Models of Allergic Diseases. Vet. Sci., 1: 192-212.
- Schaffartzik A., Hamza E., Janda J., et al. (2012) Equine insect bite hypersensitivity: what do we know? Vet. Immunol. Immunopathol., 147: 113-26.
- Schurink A., Podesta S. C., Ducro B. J. et al. (2013) Risk factors for insect bite hypersensitivity in Friesian horses and Shetland ponies in The Netherlands. Vet J., 195: 382-384.
- Schurink A., van Grevenhof E., Ducro B., van Arendonk J. (2008) Heritability and repeatability of insect bite hypersensitivity in dutch shetland breeding mares. J. Anim. Sci., 87: 484-90.
- Scichilone N., Callari A., Augugliaro G. et al. (2011) The impact of age on prevalence of positive skin prick tests and specific IgE tests. Respir. Med., 105: 651-658.
- Scott D., Miller B. (2003) Equine Dermatology. Elsevier Saunder. 2^a edición. Missouri, USA.
- Sidenius K., Hallas T., Poulsen L., Mosbech H. (2002) House dust mites and their allergens in Danish mattresses - results from a population based study. Ann. Agric. Environ. Med., 9: 33-39.
- Smith, B. (2014) Large Animal Internal Medicine. Elsevier. Quinta edition. Missouri, USA.
- Spieksma F., Charpin H., Nolard N., Stix E. (1980) City spore concentrations in the European Economic Community (EEC) IV. Summer weed pollen (*Rumex*, *Plantago*, *Chenopodiaceae*, *Artemisia*), 1976 and 1977. Clin. Allergy., 10: 319-329.
- Steinman A., Peer G., Klement E. (2003) Epidemiological study of Culicoides hypersensitivity in horses in Israel. Vet. Rec., 152: 748-751.

- Stepnik C. T., Outerbridge C. A., White S. D., Kass P. H. (2011) Equine atopic skin disease and response to allergen specific immunotherapy: a retrospective study at the University of California-Davis (1991–2008). *Vet. Dermatol.*, 23: 29-35.
- Subiza J. (2003) Gramíneas: Aerobiología y polinosis en España. *Allergol. Immunol. Clin.*, 18: 7-23.
- Subiza J. (2004) Pólenes alergénicos en España. *Allergol. et. Immunopathol.* 32: 121-124.
- Subiza J., Jerez M., Jiméneza J. A., et al. (1995) Allergenic pollen and pollinosis in Madrid. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 96: 15-23.
- Subiza J., Pola J., Feo F., Moral A. (2003) Estudio Multicéntrico 2003 - Comité de Aerobiología: Capítulo 24, Pólenes de interés en alergología en nuestro medio.
- Subiza J., Pola J., Feo F., Moral A. (2007) Pólenes de interés en alergología en nuestro medio. In: Peláez, A. Dávila, eds. I.J. Tratado de Alergología. Madrid: Ergon: 425-449.
- Tizard, I. R. (2009) Introducción a la inmunología veterinaria. Elsevier España. 8º edición, Barcelona, España.
- van den Boom R., Ducro B., van Oldruitenborgh-Oosterbaan M. M. S. (2008) Identification of factors associated with the development of insect bite hypersensitivity in horses in The Netherlands. *Tijdschr Diergeneeskdt.* 133: 554-9.
- van Grevenhof E. M., Ducro B., Heuven H. C. M., Bijma P. (2007) Identification of environmental factors affecting the prevalence of insect bite hypersensitivity in Shetland ponies and Friesian horses in the Netherlands. *Equine vet. J.* 39: 69-73.
- Wagner B., Miller Jr W., Erb H. (2009) Sensitization of skin mast cells with IgE antibodies to Culicoides allergens occurs frequently in clinically healthy horses. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 132: 53-61.
- Warm K., Lindberg A., Lundbäck B., Rönmark E. (2013) Increase in sensitization to common airborne allergens among adults – two population-based studies 15 years apart. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 9: 20.
- White S., Yu A. (2006) I. Diagnosis and Treatment of the Pruritic Horse. American Association of Equine Practitioners, Proceedings. Vol. 52, San Antonio Texas, Estados Unidos.
- White, S. (2005) Advances in Equine Atopic Dermatitis, Serologic and Intradermal Allergy Testing. Clinical Techniques in Equine Practice, 4: 311-313.
- Wilkołek P. M., Pomorski Z. J. H., Szczepanik M. P. et al. (2014) Assessment of serum levels of allergen-specific immunoglobulin E in different seasons and breeds in healthy horses. *Pol. J. Vet. Sci.*, 17: 331-337.
- Yu A. A., Rosychuk R. A. (2013) Equine Dermatology, an issue of Veterinary Clinics of North America: Equine Practice., 29: 541-716.

10. ANEXO

Alérgenos utilizados en las pruebas para determinar los niveles de IgE específicos.

| Alérgenos | |
|------------------|--|
| Gramíneas | 1. <i>Dactylis glomerata</i> (dáctilo) 2. <i>Phleum pratense</i> (herba timotea) 3. <i>Secale cereale</i> (centeno) |
| Malezas | 4. <i>Artemisia vulgaris</i> (artemisa) 5. <i>Chenopodium sp.</i> (ceñigo) 6. <i>Plantago lanceolata</i> (llantén) 7. <i>Urtica dioica</i> (ortiga) 8. <i>Rumex crispus</i> (acedera) |
| Árboles | 9. <i>Betula alba verrucosa</i> (abedul) 10. <i>Salix caprea</i> (sauce) 11. <i>Corylus</i> (avellano) 12. <i>Fagus sylvatica</i> (haya) |
| Hongos | 13. <i>Alternaria alternata</i> 14. <i>Aspergillus fumigatus</i> 15. <i>Cladosporium herbarium</i> 16. <i>Epicoccum nigum-purpurascens</i> 17. <i>Helminthosporium halodes</i> 18. <i>Penicillium notatum</i> 19. <i>Fusarium culmorum</i> 20. <i>Ustilago tritici</i> 21. <i>Rhizopus nigricans</i> |
| Ácaros | 22. <i>Acarus siro</i> 23. <i>Dermatophagoides farinae / Dermatophagoides pteronyssinus</i> 24. <i>Tyrophagus putrescentiae</i> |
| Insectos | 25. <i>Simulium spp.</i> (mosca negra) 26. <i>Culex tarsalis</i> (mosquito) 27. <i>Tabanus</i> (tábano) 28. <i>Stomoxys</i> (mosca del establo) 29. <i>Culicoides spp.</i> (mosquito) 30. <i>Blatella germanica</i> (cucaracha rubia o alemana) |

