Alergia al pimentón

Pablo Rodríguez del Río, Mª José Narganes,
José Ignacio Tudela García*, Javier Subiza Garrido-Lestache
Centro de Asma y Alergia Subiza
**Laboratorio Inmunotek*

CASO CLÍNICO

Mujer de 20 años de edad que acudía a nuestras consultas por haber presentado un cuadro de rinorrea, congestión nasal, disnea y habones pruriginosos en abdomen una hora después de haber comido rape, arroz, ajo, cebolla, tomate, pimentón y aceite. Precisó asistencia en urgencias y tratamiento con 60 mg de Metilprednisolona intramuscular y una nebulización de Salbutamol. Negaba la presencia de cofactores como ejercicio físico, toma de AINE o infecciones en relación con el episodio.

La paciente tenía antecedentes personales de síntomas de rinoconjuntivitis alérgica desde febrero a junio de 4 años de evolución y síntomas de rinoconjuntivitis y disnea sibilante con la exposición a perros y gatos. No tenía otros antecedentes personales de interés, no fumadora. Madre diagnosticada de rinoconjuntivitis polínica. En ese momento estaba en el paro, nunca había trabajado en la industria alimentaria.

Estudio alergológico

Realizamos *prick-test* con batería de inhalantes habituales, valorando la respuesta en mm^2 y comparándolo con el control negativo (glicerosalino al 50%) y el positivo (Histamina a 10 mg/ml), obteniendo valores positivos para epitelio de gato, perro, pólenes de *Trisetum, Dactilis, Cupressus, Quercus ilex* y negativos para *D. pteronyssinus, Blatta orientalis, Olea, Platanus, Chenopodium, Alternaria,* Profilina, *Anisakis simplex*, látex, *Artemisia* y *Alnus Glutinosa*. Realizamos una batería de *prick-prick* con los siguientes alimentos con resultados negativos para tomate, gamba y rape fresco y cocido, ajo, arroz, orégano, tomillo, cebolla, azafrán, eneldo, apio, albahaca, laurel, comino, berenjena, patata, romero, clavo y pimienta negra. Las pruebas de *prick-prick* para pimiento rojo y verde, pimentón dulce y picante y chili fueron positivas.

Se determinaron los valores de IgE específica en suero (CAP phadia, Upsala, Suecia) de la paciente para los alérgenos más relevantes: pimienta negra (*piper nigrum)* < 0,10kU/l; abedul 0,29 kU/l, pimentón (*Capsicum frutescens*) 0,12 kU/l, *Artemisia* 0,12 kU/l y pimienta verde 0,12 kU/l. IgE total 285 kU/l.

Para confirmar la sospecha de alergia a pimentón se le realizó una provocación oral a doble ciego controlada con placebo con pimentón dulce Carmencita® igual al que había ingerido la paciente el día de la reacción. Se empleó para el enmascaramiento una solución de pimentón y zumo de naranja mezclado con menta y colorante rojo que era indistinguible en aspecto, olor y sabor del placebo, de misma composición salvo el pimentón. La provocación se realizó en dosis escalonadas hasta que la paciente presentó el día del activo una reacción de edema labial, hiperemia conjuntival y prurito lingual con una dosis acumulada de 87 mg de pimentón. Por el contrario, la provocación con placebo fue negativa. Posteriormente se realizó una provocación abierta con pimiento rojo crudo que también fue positiva.

Se realizó una espirometría basal con resultados normales y un test de hiperreactividad bronquial inespecífica con Metacolina que fue positivo, obteniéndose una PC_{20} de 0,09 mg/ml, con ausencia de meseta, lo que apuntaba a una hiperreactividad bronquial dentro de rango asmático. Se le realizó una provocación inhalativa, siguiendo metodología previamente descrita[1], con el pimentón en cámara cerrada de 8,3 m^3 y técnica de "bandejeo" que fue negativa.

Estudio inmunológico

Realizamos un *immunoblot* con el suero de la paciente, cargando 10 µg de proteína por carril, para detectar la IgE específica para pimentón dulce Carmencita, pimentón dulce de la Vera y pimiento rojo fresco para poder determinar si el procesado del pimentón modificaba la alergenicidad[2] del pimiento fresco; se incluyeron también la patata y la cebolla para valorar una posible reactividad cruzada *in vitro* con otras solanáceas; se estudió también el polen de *Artemisia* por la reactividad cruzada con solanáceas; por último se incluyeron *Dactilis*, epitelio de gato y cupresáceas por haber presentado pruebas positivas para estos alérgenos.

Los resultados se recogen en la Figura 1, donde podemos observar que el extracto de pimiento rojo fresco (*Capsicum annuum)* es más alergénico que el procesado (pimentón), observando en todos ellos fijación de IgE específica en una banda de alrededor de 43 kDa de peso. En el extracto de pimiento rojo fresco existe además fijación en otras proteínas desde los 35 a los 23 kDa, que pueden corresponder con los distintos alérgenos descritos Cap a 1 (23 kDa, taumatina), Cap a 30 (30 kDa, peroxidasa) y Cap a 35 (35 kDa, gluconasa). Se produce una fijación en algunas bandas distintas en la patata y la cebolla, sin significación clínica, ya que la paciente las tolera. Es destacable la falta de fijación de IgE al extracto de *Artemisia*, lo que descarta la sensibilización a este polen y la posible reactividad cruzada. Por último, en el extracto de *Cupressus* se fija IgE en dos proteínas principalmente, la más interesante es la de peso alrededor de 43 kDa por haberse detectado IgE específica para proteínas de

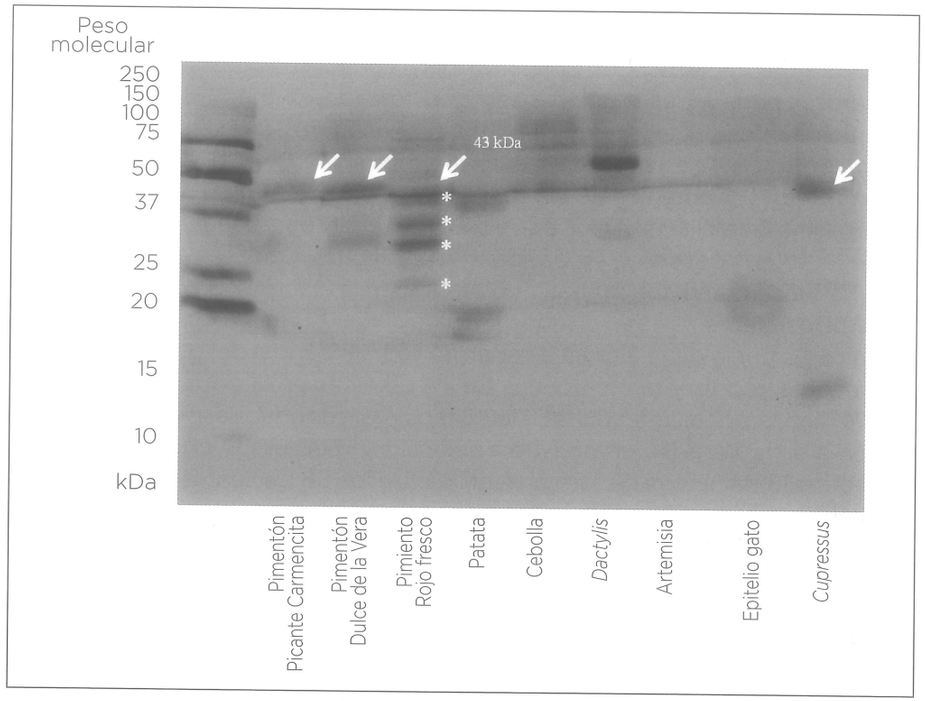


Fig. 1. Immunoblot *con suero de la paciente. Se marca con flecha el reconocimiento de una banda alrededor de 43 kDa detectada en los extractos de pimentón, pimiento fresco y cupresáceas. Se marca con * otras proteínas del pimiento rojo para los que la paciente presenta IgE específica.*

aproximadamente el mismo peso para los extractos de pimentón y pimiento fresco y que podría corresponderse con Cup s 1, el alérgeno mayor de las cupresáceas.

Juicio clínico y tratamiento

Tras valorar las pruebas, diagnosticamos a la paciente de alergia selectiva a pimiento (*Capsicum annuum* y *Capsicum frutescens*), rinoconjuntivitis por sensibilización a pólenes de gramíneas y cupresáceas y rinoconjuntivitis y asma por sensibilización a epitelios.

A la paciente se le recomendó evitar el pimiento de cualquier origen, en cualquier estado de maduración y presentación con lo que, tras 1 año de seguimiento, no ha vuelto a presentar nuevas reacciones por alimentos.

DISCUSIÓN

El pimentón es un condimento resultante de la molienda de pimientos rojos totalmente secos. Los pimientos no picantes o dulces se presentan en numerosas variedades y colores según su estado de maduración, formas o tamaños. Tanto el pimiento dulce (*Capsicum annuum*), como el picante (*Capsicum frutescens*) pertenecen a la familia de las solanáceas, al igual que las patatas, tomates y berenjenas. Sin embargo, la pimienta negra (*Piper nigrum*) pertenece a la familia piperáceas. Se trata de un producto muy extendido presente tanto en conservas, embutidos y escabeches, como en la cocina diaria empleándose como condimento, colorante, en la elaboración de salsas, arroces y otros platos.

La prevalencia de la alergia a especias es baja dentro del grupo de alergia a alimentos, representando apenas un 2% de éstas en la población general y un 6,4% en la población adulta[3]. Decidimos realizar un muestreo de sensibilización a este alérgeno en nuestra población y realizamos *prick-test* con pimentón a 36 pacientes de forma aleatoria. De los 36 pacientes a los que se lo hicimos, 3 (8%) fueron positivos. Todas fueron mujeres, de ellas, una toleraba su ingesta y las otras dos desconocían su tolerancia. Ambas están pendientes de realizar provocación controlada en el centro para valorar la relevancia clínica de esta sensibilización.

La alergia a pimentón se manifiesta con mayor frecuencia en el síndrome apio-abedul-artemisa-especias, en el que pacientes alérgicos a polen de *Betula* y/o *Artemisia* desarrollan de manera paulatina alergia alimentaria a vegetales pertenecientes a la familia de las apiáceas, anacardiáceas, solanáceas, liliáceas y piperáceas[4]. Los alérgenos descritos en este síndrome son múltiples, desde panalérgenos como las profilinas y las proteínas transportadoras de lípidos (LTP), hasta otras proteínas más características de estos alimentos como son las taumatinas o proteínas de alto peso molecular.

Respecto a los alérgenos descritos en el pimiento, Jensen-Jarolim y cols.[5] describen la presencia de profilina en el 100% de las muestras de pimiento estudiadas y homólogos de Bet v 1 (alérgeno mayor del polen de abedul) en la mitad de ellos. Asimismo, detectaron IgE específica para profilina en el 100% de 11 muestras de suero de pacientes alérgicos a pimentón mientras que solo uno de ellos presentaba IgE específica para el homólogo de Bev v 1. También se ha descrito[6] alergia a pimentón en una enfermera previamente sensibilizada a látex y alérgica a kiwi y a otras frutas, donde el alérgeno responsable era un homólogo de Hev b 6 (proheveína del látex) de 20 kDa.

Podemos encontrar una mayor frecuencia de alergia a pimentón, sin asociarse al síndrome apio-abedul-artemisa, entre los trabajadores de la industria alimentaria encargados de moler estos alimentos para la elaboración de los condimentos[7]. La exposición de estos pacientes es por vía inhalativa por las altas concentraciones en el ambiente en sus lugares de trabajo, y presentan

síntomas de rinoconjuntivitis y asma con su exposición. Sin embargo, estos pacientes suelen tolerar la ingestión de pimentón y otras especies. En estos casos, se ha descrito como alérgeno desencadenante proteínas de 40 y 50 kDa.

Hemos encontrado casos en la bibliografía de patrones mixtos de manifestaciones clínicas. Una mujer trabajadora en un puesto de especias que presentaba síntomas rinoconjuntivales con la inhalación del pimentón y que padeció una anafilaxia con su ingestión[8]. Asimismo, otro caso de una mujer trabajadora en una pastelería que padecía rinoconjuntivitis por inhalación de pimentón y urticaria de contacto mientras que la ingestión era bien tolerada[9].

CONCLUSIONES

Presentamos una paciente con alergia selectiva a pimentón que presenta síntomas con su ingestión pero tolera inhalación y contacto con el mismo. En nuestro caso no hemos encontrado factores de riesgo para presentar esta alergia dado que no está expuesta a altas concentraciones, no tiene alergia a otras solanáceas, no presenta síndrome apio-artemisa-abedul-especias ni síndrome látex-frutas. Debemos plantearnos, por lo tanto, si se trata de una alergia alimentaria tipo I o primaria o bien de una alergia alimentaria tipo II, en la que una sensibilización previa a algún polen la haya predispuesto a presentar síntomas con la ingestión de pimentón.

En nuestro caso, y debido a que en el estudio de *immunoblot* se ha objetivado reconocimiento de una banda de 23 kDa tanto en el pimiento como en el polen de *Cupressus*, nos preguntamos si podría tratarse de una sensibilización primaria al polen de *Cupressus* y secundaria al pimentón por reactividad cruzada. Sin embargo, el estudio realizado no permite asegurar esta posibilidad.

Debemos valorar las especias como posible alérgeno responsable de reacciones alérgicas a alimentos.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer su trabajo a José Ignacio Tudela García, Bárbara Cases Ortega y Enrique Fernández Caldas, pertenecientes al departamento de I+D de los Laboratorios Inmunotek, sin los cuales el respaldo del estudio inmunológico del estudio no hubiese sido posible.

BIBLIOGRAFÍA

1. Subiza J, Feliú A, Subiza JL, Uhlig J, Fernández-Caldas E. Cluster immunotherapy with a glutaraldehyde-modified mixture of grasses results in an improvement in spe-

cific nasal provocation tests in less than 2.5 months of treatment. *Clin Exp Allergy.* 2008;38(6):987-94.
2. Mills EN, Mackie AR. The impact of processing on allergenicity of food. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2008;8(3):249-53.
3. Moneret-Vautrin DA, Morisset M, Lemerdy P, Croizier A, Kanny G Food allergy and IgE sensitization caused by spices: CICBAA data (based on 589 cases of food allergy). *Allerg Immunol* (Paris). 2002;34(4):135-40.
4. Egger M, Mutschlechner S, Wopfner N, Gadermaier G, Briza P, Ferreira F. Pollen-food syndromes associated with weed pollinosis: an update from the molecular point of view. *Allergy.* 2006;61(4):461-76.
5. Jensen-Jarolim E, Santner B, Leitner A, Grimm R, Scheiner O, Ebner C, y cols. Bell peppers (Capsicum annuum) express allergens (profilin, pathogenesis-related protein P23 and Bet v 1) depending on the horticultural strain. *Int Arch Allergy Immunol.* 1998;116(2):103-9.
6. Gallo R, Roncarolo D, Mistrello G. Cross-reactivity between latex and sweet pepper due to prohevein. *Allergy.* 1998;53(10):1007-8.
7. Van der Walt A, Lopata AL, Nieuwenhuizen NE, Jeebhay MF. Work-related allergy and asthma in spice mill workers - The impact of processing dried spices on IgE reactivity patterns. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;152(3):271-8.
8. Vega de la Osada F, Esteve Krauel P, Alonso Lebrero E, Ibáñez Sandín MD, Muñoz Martínez MC, Laso Borrego MT. Sensitization to paprika: anaphylaxis after intake and rhinoconjunctivitis after contact through airways. *Med Clin* (Barc). 1998; 12;111(7):263-6.
9. Foti C, Carino M, Cassano N, Panebianco R, Veña GA, Ambrosi L. Occupational contact urticaria from paprika. *Contact Dermatitis.* 1997;37(3):135.

Coloquio

DR. PEDRO OJEDA / CLÍNICA OJEDA: Felicitaros por el caso porque está muy bien estudiado y la verdad es que es un caso curioso y sobre todo ver si podéis seguir ahondando en las relaciones entre Cup A 1 con la sensibilización a los alérgenos de pimentón y a lo mejor describís un nuevo síndrome de reactividad cruzada.

La pregunta que te quería hacer era en relación con los otros dos casos de pacientes sensibilizadas que les retirasteis el pimentón y pimientos de la dieta y cómo ha evolucionado la clínica, aunque todavía no hayáis hecho las pruebas de provocación, esas clínicas que presentaban de angioedema y molestias gástricas o vómitos, ¿Cómo han evolucionado?

DR. PABLO RODRÍGUEZ / CLÍNICA SUBIZA: Pues de momento no tengo datos para decirte, porque este caso es reciente y nos ha dado poco tiempo a hacer muchas cosas, pero entonces a partir de los descubrimientos que hemos ido realizando nos planteamos hacer los *prick* a los pacientes de la consulta y todavía no hemos podido ver en revisión a estos pacientes. De todas maneras, eran síntomas poco frecuentes, quiero decir ni la paciente de 47 años vomitaba a diario ni la chica de 15 tenía angioedemas recidivantes muy frecuentes, es decir, nosotros lo que nos planteamos es citarlas para ver qué tal están al haber quitado el pimentón y en caso de que no hayan tenido nuevos episodios realizar una provocación, porque es lo único que nos va a sacar de dudas.

DR. ROBERTO PELTA / HOSPITAL GREGORIO MARAÑÓN: Quería preguntarte qué calidad tienen los extractos comerciales que hay de especias y si en estos casos es mejor recurrir al *prick-prick* y sobre todo si realmente estamos ante un alérgeno tan ubicuo pues a lo mejor debemos de pensar en incorporarlo en la práctica diaria cuando nos cuentan problemas con alimentos.

DR. PABLO RODRÍGUEZ: Bueno, respecto a la calidad de los extractos, igual que casos de alergia a pimentón tampoco hay excesivos sí que hay algunas publicaciones un poco antiguas de 1995-98 que se cuestio-

nan eso, ¿cuál es la calidad de los diagnósticos? Yo realmente después de haberlo leído, tampoco he querido poner esas referencias, pero mi conclusión es que, primero, son extractos que no se utilizan muy a menudo de manera que como no están día a día hasta cierto punto se nos pueden ir de la mano y se caduquen, pero además me parece que son extractos que diagnostican menos de lo que deberían diagnosticar. Por lo general, lo que he podido leer es que son extractos que subestiman la prevalencia real de alergia a pimentón. Y con respecto a si deberíamos introducirlo en nuestra batería habitual, pues para esto sirven los casos, ¿no? A partir de ahora durante unos cuantos meses empezaré a probarlo y a partir de ahí podremos tener más cosas en cuenta porque es cierto que hay un montón de alergias, urticarias agudas en relación con alimentos que nunca se diagnostican y el pimentón dada su ubicuidad podría ser responsable en más casos de los que pensamos.

DRA. CONCEPCIÓN LÓPEZ SERRANO / HOSPITAL LA PAZ: Quería felicitarte también porque me parece me parece un caso muy bien estudiado y además que habéis abierto un camino que puede dar lugar, como ha dicho Pedro Ojeda, a una reactividad cruzada que no habíamos sospechado. Y un poco ahondando en lo que ha dicho el Dr. Pelta, quería preguntarte con qué extracto hicisteis las pruebas cutáneas.

DR. PABLO RODRÍGUEZ: Realizamos un extracto nosotros mismos, que fue el que usamos para estos pacientes.

Seguridad de la inmunoterapia usando extractos alergénicos modificados y no modificados

C. Barjau[1], J. Subiza J[1], M. Casanovas[2]
[1]Centro de Asma y Alergia Subiza. [2]Laboratorio Inmunotek SL

OBJETIVO

El Objetivo de este estudio fue evaluar la seguridad de la inmunoterapia subcutánea usando vacunas alergénicas modificadas (químicamente con glutaraldehído) y no modificadas, ambas físicamente adsorbidas en hidróxido de aluminio, de diferentes laboratorios, administradas en la Unidad de Inmunoterapia de nuestro Centro.

MATERIAL Y MÉTODO

El periodo de estudio se extendió desde el 1/1/2000 hasta el 31/12/2010 (10 años). Todas las inyecciones se administraron en la Unidad de Inmunoterapia de la Clínica Subiza por personal entrenado para ello y todos los datos sobre el tipo de preparación y composición alergénica de cada vacuna, laboratorio, pauta de administración, reacciones adversas tanto inmediatas como tardías siguiendo las recomendaciones de la EAACI[1], se recogieron en un *software* específico desarrollado en nuestro centro llamado Inmunowin. La pauta de administración de las vacunas no modificadas fue una *cluster* convencional, mientras que con las vacunas modificadas se usó una pauta ultrarrápida (Fig. 1). Todas las reacciones sistémicas inmediatas se clasificaron según las normas de la EAACI.

RESULTADOS

Durante los 10 años del estudio administramos un total de 156.893 dosis; de las cuales, 121.771 (77,6%) correspondieron a extractos no modificados y 35.122 (22,4%) a extractos modificados (Fig. 2). Los extractos modificados que incluimos en el estudio fueron de las marcas Clustoid y Depigoid ambos adsorbidos físicamente en hidróxido de aluminio y modificados químicamente con glutaraldehído. Para los extractos no modificados químicamente sino sólo adsorbidos físicamente en hidróxido de aluminio incluimos las marcas Alutek, Alustal y EH Retard; estas tres marcas fueron incluidas al tener en la base de

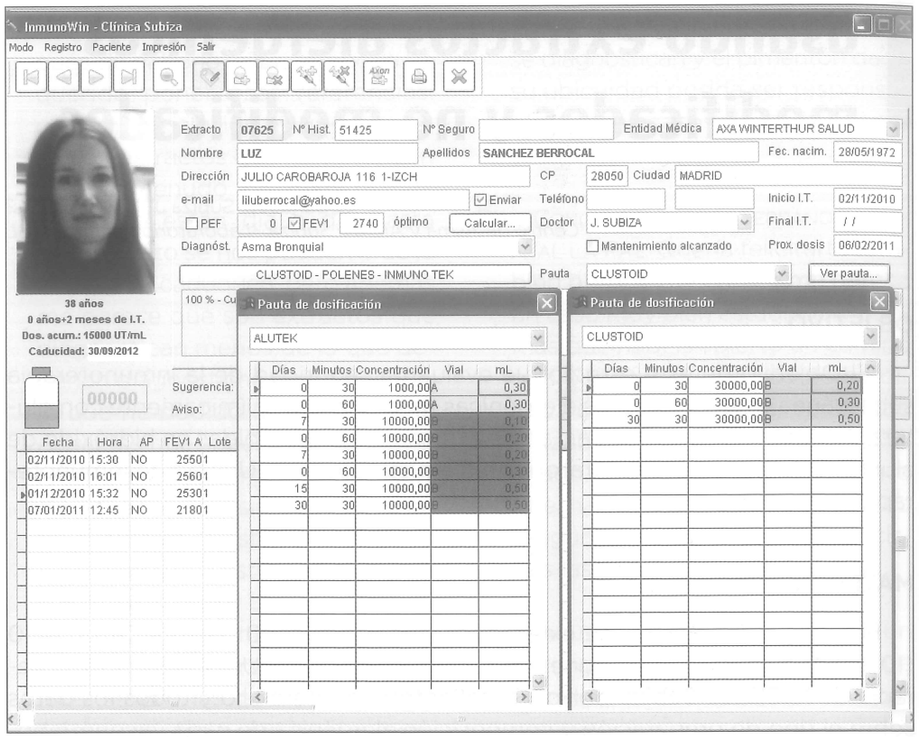


Fig. 1. Software *para la recogida de datos InmunoWin.*

datos mas de 7000 inyecciones de cada una, en el periodo del estudio, excluyendo por el contrario el resto de marcas que no llegaban a esa frecuencia de utilización (Fig. 3).

El 83% de las inyecciones fueron de extractos de pólenes, 8% epitelios, 7% ácaros y un 2% de otros alérgenos como Alternaria y venenos (Fig. 4).

De las 156.893 inyecciones administradas, se produjeron 219 reacciones sistémicas inmediatas (0,13%), coincidiendo así con otras grandes series publicadas en España y Francia[2-4]. La distribución fue según la clasificación de la EAACI: 34% de grado 1, 45% de grado 2, 20% de grado 3 y 0,91% de grado 4 (Fig. 5). De las 2 reacciones sistémicas inmediatas (RSI) grado 4 (shock anafiláctico) registradas, una fue con un extracto acuoso de veneno de avispa, durante la fase de mantenimiento, al iniciar un nuevo vial, y la otra se produjo durante la fase de inicio de un extracto no modificado de gramíneas.

El riesgo de presentar RSI para pólenes y ácaros no difirió del 0,1% global, por el contrario duplicándose para epitelios y triplicándose para hongos (Fig. 6).

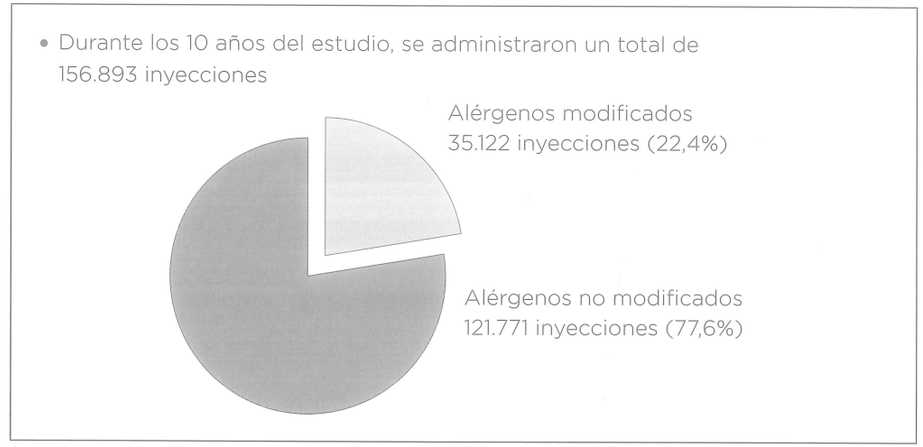


Fig. 2. Total de inyecciones administradas durante el estudio, de extractos modificados y no modificados.

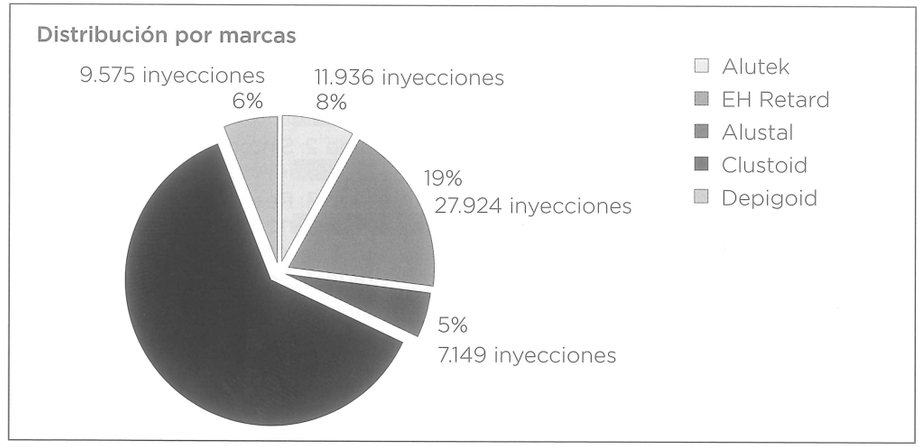


Fig. 3. Marcas de extractos modificados (Clustoid, Depigoid) y no modificados (Alutek, EH Retard y Alustal) incluidos en estudio.

No encontramos diferencias entre marcas, estando todas en el rango global de 0,1% de riesgo de RSI tanto para extractos modificados como para los no modificados (Fig. 7).

Para los extractos modificados usamos una pauta ultrarrápida en la cual en un solo día alcanzamos la fase de mantenimiento y para los no modificados

Correlación entre los síntomas diarios de polinosis, recuentos de pólenes y recuentos de Phl p 1 y 5 en la atmósfera de Madrid

Martha Cabrera Sierra[1,2], Javier Subiza[1], José Ignacio Tudela[3], Bárbara Cases[3], Enrique Fernández-Caldas[3], Stella Moreno-Grau[4], María Suárez Cervera[5], Eva Fernández[3], María José Narganes[1], José Luis Subiza[3]

[1]Clínica Subiza. [2]Hospital los Madroños, Brunete, Madrid. [3]Inmunotek SL, Madrid. [4]Departamento de Ingeniería Ambiental y Química. Universidad Politécnica de Cartagena. [5]Departamento de Botánica, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona

INTRODUCCIÓN

Se ha demostrado que los síntomas de los pacientes sensibilizados a pólenes se correlacionan con el respectivo recuento de granos. Sin embargo, diferentes estudios han confirmado la presencia de actividad alergénica aerovagante fuera del periodo de polinización.

Por ello, se ha sugerido que el recuento de pólenes no contempla el total de la exposición alergénica. Este hecho indica que existen otras fuentes de alérgenos además de los granos de polen, pudiendo constituir una carga alergénica relevante.

Los métodos inmunoquímicos para valorar la exposición alergénica tienen en cuenta la contribución de alérgenos con reactividad cruzada y otras fuentes de alérgenos en partículas micrónicas.

Las técnicas de muestreo cuantitativo de granos de polen nos han llevado a conocer mejor la distribución e importancia clínica de estos alérgenos naturales. En Madrid, atendiendo a los taxones de mayor relevancia clínica en esta área geográfica, para facilitar su comprensión se ha dividido el año en 4 periodos: noviembre-marzo, donde se detectan en la atmósfera fundamentalmente pólenes de la familia Cupressaceae; abril, prevalece el plátano de sombra, mayo y junio, fundamentalmente las familias Poaceae y Oleaceae y julio-octubre las Chenopodeáceas-Amarantáceas.

A pesar de que generalmente se relaciona el comienzo y la gravedad de las manifestaciones alérgicas respiratorias con la aparición y persistencia en el aire de los diferentes tipos de granos de polen o tipos polínicos, un parámetro mucho más relevante es conocer la cantidad real de alérgeno presente en la atmósfera en un momento determinado.

El significado clínico de pequeñas partículas portadoras de alérgenos de plantas ha generado un debate importante en los últimos años. La existencia de estas partículas alergénicas se ha demostrado para diversos grupos de plantas. Éstas pueden ser detectadas antes de la estación polínica y pueden persistir después de la polinización, contribuyendo a la carga total de alérgenos.

Estas partículas alergénicas se encuentran dentro de las dimensiones respirables, de tal manera que pueden penetrar profundamente en la vía aérea y provocar una crisis de asma. Sin embargo, poco se sabe sobre su prevalencia en la atmósfera, su variación geográfica y temporal y su composición química detallada.

De forma similar, el origen exacto de este aerosol atmosférico es desconocido pero se han propuesto varios mecanismos, interviniendo como variables la climatología, el hábitat y la contaminación:

- Reactividad cruzada entre pólenes relacionados o no taxonómicamente.
- Contribución de otras partes de la planta como hojas y tallos.
- Gránulos de almidón procedentes de granos de polen liberados en condiciones de humedad tras su ruptura.
- Orbículos procedentes del revestimiento de las anteras y del propio grano de polen.
- Alérgenos transportados en los mismos granos de polen.
- Alérgenos transportados por partículas formadas de forma natural en el ambiente (microgotas de agua).
- Alérgenos transportados por partículas de la contaminación.

Aunque el recuento de granos de polen es una herramienta de trabajo imprescindible para los alergólogos, ya que permite confirmar o identificar los tipos causantes de polinosis en cada una de las áreas geográficas, las evidencias señaladas llevaron, ya en el año 1994, a Rantio-Lehtimäki et al., a precisar que los hechos descritos anteriormente demandaban un esfuerzo a los aerobiólogos, encaminado al desarrollo de nuevos métodos para la cuantificación de los aeroalérgenos presentes en el aerosol atmosférico.

En los últimos años, uno de los campos más atractivos de investigación básica en alergología es el relacionado con la técnicas de muestreo y detección inmunoquímica de pequeñas partículas en la atmósfera para la cuantificación de su actividad alergénica, con el fin de conocer la carga total de alérgenos frente a la cual están expuestos los pacientes sensibilizados y para el desarrollo de un método rápido y asequible que pueda ser aplicado rutinariamente para complementar la información del recuento de polen. Esto es especialmente importante en los días húmedos cuando el recuento de polen no da una buena indicación del contenido alergénico del ambiente.

OBJETIVO

Analizar la correlación entre los granos de polen de gramíneas y las concentraciones de Phl p 1 y p Phl p 5 en la atmósfera de Madrid, desde el 23/3/2009 hasta el 27/7/2010 y establecer su asociación con los síntomas de rinoconjuntivitis y/o asma en pacientes con sensibilización clínica a pólenes de gramíneas.

MÉTODOS

Se utilizaron un Burkard 7 day spore trap y un Burkard Cyclone sampler para el recuento de pólenes y aeroalérgenos, respectivamente (Fig. 1). Las muestras de aerosol recogidas con el captador ciclónico en los tubos Eppendorf (Fig. 2) se sometieron a un proceso de extracción basado en el método propuesto por Takahashi et al. El extracto es separado por centrifugación.

La cuantificación de Phl p 1 y Phl p 5 se realizó mediante técnica ELISA doble fase. La población de estudio incluyó 181 pacientes con polinosis, cuyos síntomas y medicación se registraron diariamente durante todo este periodo con una cartilla electrónica (Alercon). Se consideró la influencia de las variables meteorológicas y de contaminación. Se utilizaron coeficientes de regresión lineal de Pearson, siendo significativo una $p < 0,05$.

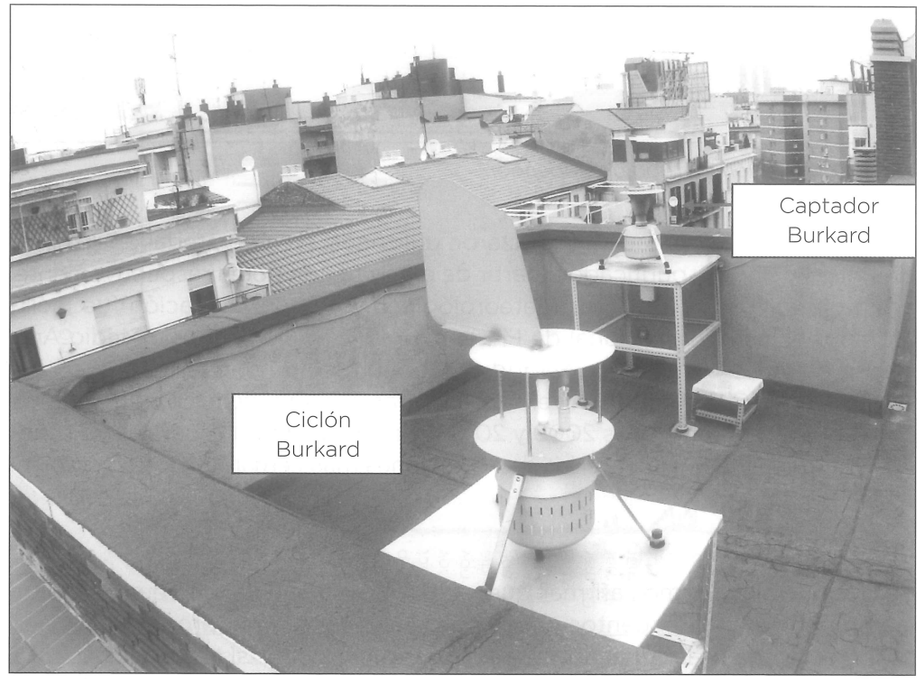


Fig. 1. Captador de pólenes tipo Burkard a la derecha y captador de alérgenos Burkard ciclón a la izquierda.

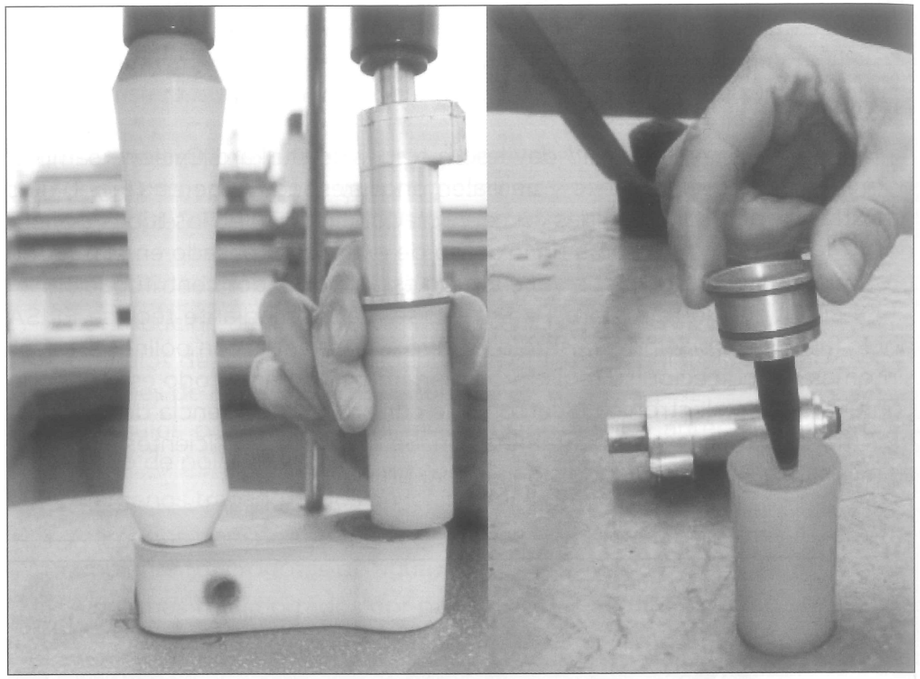


Fig. 2. Colocación de tubo de Eppendorf.

Las curvas de calibrado se realizaron utilizando como material de referencia Phl p 1 y Phl p 5, purificado a partir de extractos de polen respectivamente.

La obtención de los datos meteorológicos y de contaminación fue facilitada por el Instituto Nacional de Meteorología y la Secretaría de Medio Ambiente de la Comunidad de Madrid: lluvia, humedad relativa, velocidad del viento, dirección del viento, nivel de partículas, O3, O2, NO2, CO y Benceno), correspondiente a los años 2009 y 2010 de las estaciones de Barajas y Escuelas Aguirre, respectivamente, las dos estaciones más cercanas a los colectores.

RESULTADOS

En general, podemos afirmar que, en las muestras, cuando se produce un incremento en los recuentos de granos de *Poeaceae,* se produce también un incremento en las concentraciones de los alérgenos. Así, para 2009 y 2010, se han encontrado buenos paralelismos entre el comportamiento de los recuentos de los granos de polen de gramíneas y los de Phl p 1 y Phl p 5 en las 284 muestras obtenidas, con un coeficiente de correlación significativo (Fig. 4).

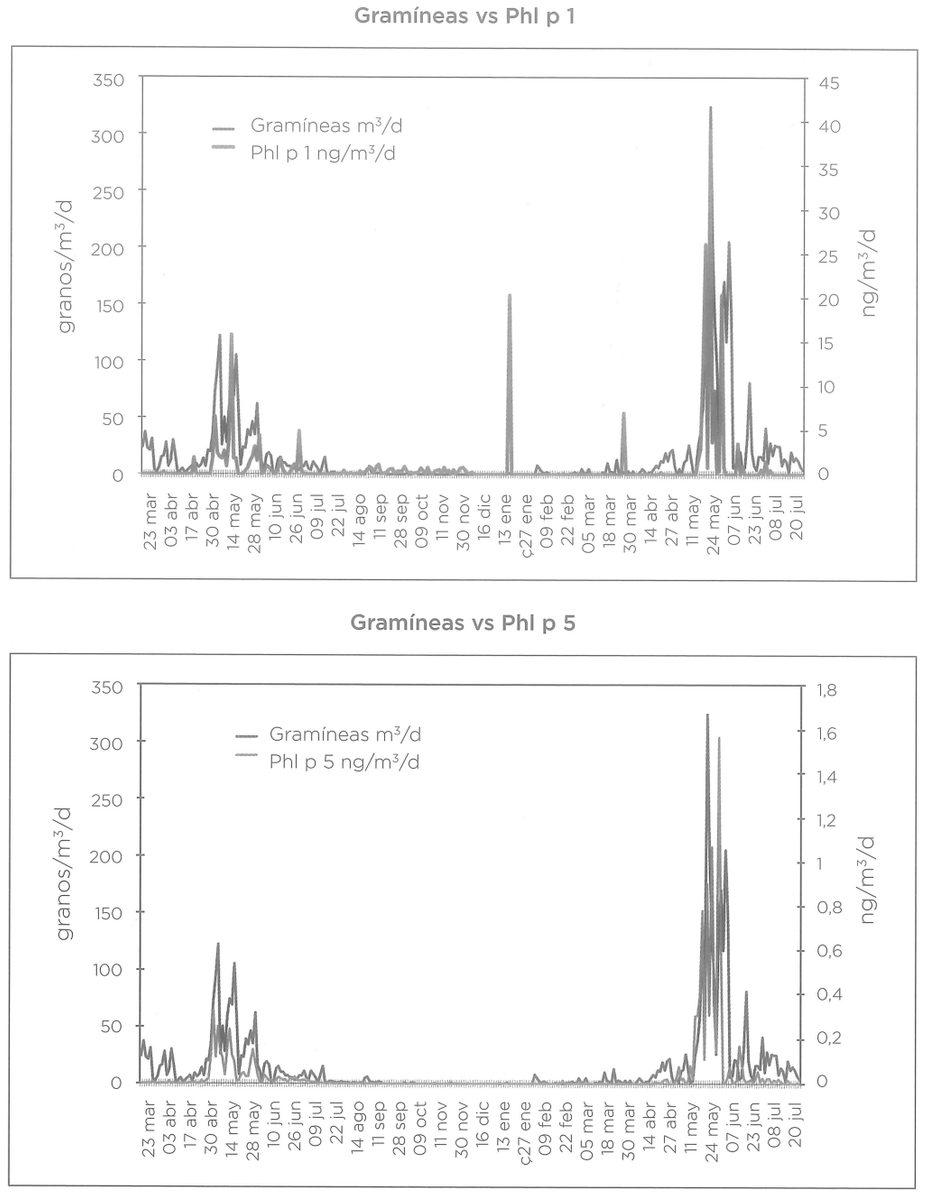
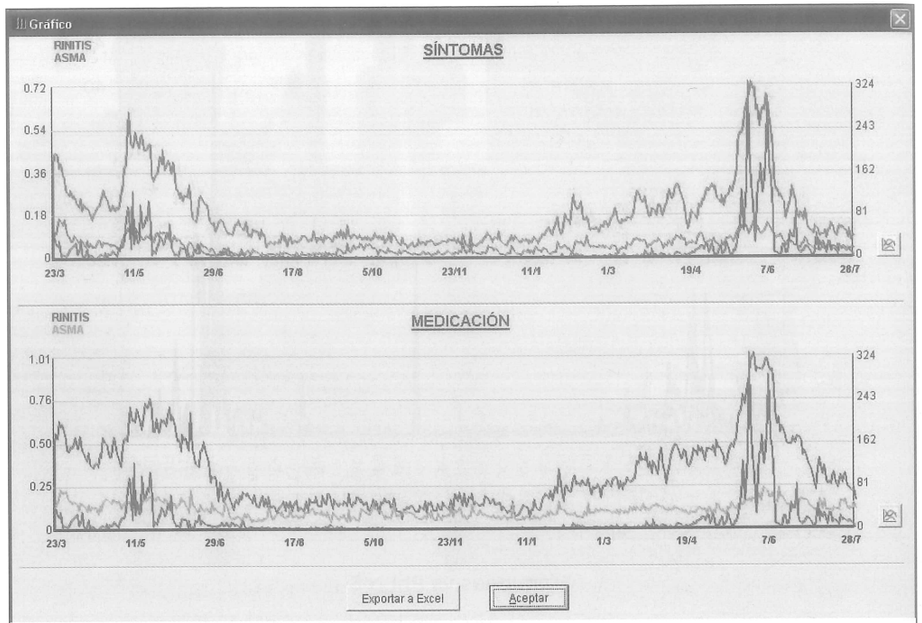


Fig. 3. Panel superior: Presencia del alérgeno Phl p 1 y pólenes de Poaceae. r: 0,630, p=0,00001. Panel inferior: Presencia del alérgeno Phl p 5 y pólenes de Poaceae. r: 0,70, p=0,00001.

Gramíneas vs Phl p 1



Abril-Julio 2009 r=	*Granos/m³*	*Phl p 5 (ng/m³)*	*Phl p 1 (ng/m³)*
Rinitis	*0,7***	*0,6***	*0,4***
Asma	*0,6***	*0,5***	*0,2***
Abril-julio 2010			
Rinitis	*0,7***	*0,5***	*0,4***
Asma	*0,3***	*0,3***	*0,2**

*(p < 0,05 ** p > 0,05*)*

Fig. 4. Gráfico capturado del programa Alercon y tabla con los coeficientes de correlación entre intensidad de síntomas y recuentos de pólenes (en granos/m³) y concentración de alérgenos (en ng/m³).

Para los pólenes de *Poaceae* y la presencia de Phl p 1 y Phl p 5 durante el año 2009, el día pico de alérgenos se detectó el 19 de mayo (73 granos/m³/d Phl p 1 15,79 ng/m³, Phl p 5: 0,24 ng/m³) y durante el año 2010 el 24 de mayo (324 granos/m³/d y Phl p 1 38,9 ng/m³, Phl p 5: 1,56 ng/m³). Se detectaron mayores concentraciones de polen durante el año 2010, de forma significativa (del 19 de abril al 27 de julio: media de polen de 40 granos/m³/d) frente a 2009

(desde 23 de marzo al 17 de julio, con una media de polen de 19 granos/m³/d), r: 0,33, p <0,001). Su correlación con los síntomas no fue mejor que con los recuentos de pólenes (Fig. 3).

Sólo la temperatura se correlacionó con los granos de polen de gramíneas y Phl p 5 (r = 0,2, p < 0,05 y r = 0,1, p = 0,05, respectivamente) y las PM10 con granos de polen de gramíneas (r = 0,1, p < 0,05).

CONCLUSIONES

La presencia atmosférica de Phl p 1 y p Phl 5 se limita principalmente al período de presencia de granos de polen de gramíneas, siendo relevante desde el punto de vista clínico pero sin ofrecer en nuestro estudio una información distinta a la que se obtiene con los granos de polen.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a la Fundación de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica y a Laboratorios Inmunotek por la financiación de este proyecto, así como a Clínica Subiza S.A. por el seguimiento clínico de los pacientes.

Este trabajo fue premiado como mejor comunicación oral en el Área de Aerobiología en el XXX Congreso de la Sociedad Europea de Alergia e Inmunología Clínica. Estambul, 10-15 de Junio de 2011.

Coloquio

Dr. Pedro Ojeda / Clínica Ojeda: Muchas gracias Martha porque la verdad es que son datos interesantes. Y entonces yo lo que te quería preguntar, desde un punto de vista práctico, dado que salvo con el problema que tenéis con *Cupressus*, pero el resto de los pólenes parece que hay una correlación bastante buena entre el recuento de granos por metro cúbico de aire y el recuento de alérgeno mayoritario, ¿no?

Dra. Martha Cabrera / Clínica Subiza: Sí.

Dr. Ojeda: Entonces digamos ¿qué aportaría el hacer el recuento de alérgenos mayoritarios con respecto al método tradicional del recuento de granos? Porque me imagino que esto es bastante más laborioso y costo que lo otro, ¿no?

Dra. Cabrera: Claro, consume tiempo y efectivamente nosotros hemos observado, que esa presencia es prácticamente restringida al periodo álgido de polinización y lo que queríamos ver al tener un periodo de muestreo y de seguimiento de pacientes de un año y medio de duración es si esa sintomatología fuera de la estación que los pacientes referían a lo mejor pudiese ser debida a la presencia de estas partículas. Pero como hemos visto, en el lapso interestacional pues prácticamente en lo que se refiere a los síntomas de rinitis no hemos visto ningún pico que se correspondiera con una actividad del grupo 5 en ese momento.

Nosotros seguimos pensando que el recuento de pólenes constituye una herramienta diagnóstica y de seguimiento clínico fundamental hoy en día para los alergólogos y posiblemente este tipo de estudios lo que nos enseña es que debemos continuar en seguir unificando las técnicas de muestreo, las técnicas de extracción y las técnicas de inmunodetección porque de momento no existe una metodología estándar para decir de forma fidedigna la cantidad de alérgeno 5. Por distintos métodos hemos observado que este método es el mejor y esto se ha reproducido en otros estudios. Pero hoy en día con esa veintena, treintena de estudios que hay todavía no se puede contestar.

Yo creo que en Madrid para nosotros ha sido esto muy interesante por la característica de nuestros pacientes, que son paciente polisensibilizados y el tema de la reactividad cruzada también está ahí y ha sido un poco como querer ir un poco más al fondo, al origen de todo esto.

Dr. Ojeda: ¿Y pensáis que puedan existir otras partículas relevantes? Porque esto también iba un poco encaminado a ver si es que los pacientes que presentaban síntomas fuera de la época típica, a lo mejor era debido a partículas micrónicas.

Dra. Cabrera: Sí.

Dr. Ojeda: Pero os habéis limitado a hacer dos alérgenos por ejemplo de gramíneas que era el Phl p 1 y el Phl p 5, ¿no?

Dra. Cabrera: Sí.

Dr. Ojeda: ¿Pensáis que a lo mejor pueda ser otro alérgeno el responsable y que no lo hayáis medido y que a lo mejor esos pacientes estén más sensibilizados a ese otro alérgeno?

Dra. Cabrera: Pues a ver, nosotros lo hemos hecho con base a que la gramínea endémica en Madrid es el *Trisetum paniceum*, ¿no?, y el contenido de alérgenos son mayoritariamente del grupo 1 y del grupo 5, según el estudio de Montoro y Subiza en sus años. Pensamos que el *quid* de la cuestión en la reactivación de los pacientes está en estos dos alérgenos.

Dr. Javier Subiza / Clínica Subiza: Con relación a la pregunta de Pedro, ha puesto el dedo en la llaga en los dos momentos, o sea que es que realmente son cuestiones muy importantes. Cuando decidimos hacer este estudio, el segundo de los objetivos era precisamente lo que acabas de decir, o sea clínicamente, ¿qué pasa con esos pacientes que se reactivan antes de que aparezcan los recuentos de pólenes? ¿Va a ser más sensible esta técnica y lo va a poder detectar? La respuesta es, desde luego para nosotros, no porque, al contrario, incluso ha sido más sensible el recuento morfológico de pólenes que la determinación del grupo 1 y 5. Por tanto, no sabemos si es un problema de sensibilidad de la técnica o realmente es que esos síntomas que presentan los pacientes es porque o bien pueden ser por otros pólenes o a lo mejor podrían ser por gramíneas pero sencillamente son por gramíneas o alérgenos de gramíneas que se encuentran a nivel del suelo que nosotros no estamos recogiendo en la azotea, que no olvidemos que está a 22 metros de altura. Pero desde luego la determinación de alérgenos no ha demostrado ser más sensible que los recuentos morfológicos de pólenes para detectar este tipo de pacientes.

Y luego otro de los objetivos también que nos planteábamos es qué

pasa con los pacientes alérgicos a gramíneas que muchas veces y sobre la base de la experiencia clínica, uno tiene la idea de que en octubre se reactivan o que viene en septiembre, que están muy mal. Nosotros teníamos esa impresión, luego nos hemos llevado la sorpresa que nada de nada, o sea en el grupo de pacientes que hemos seguido durante estos casi dos años los síntomas aparecen de los pacientes clínicamente sensibilizados a gramíneas y en otros pólenes realmente la sintomatología solamente la hemos observado en el periodo de primavera, desde finales de abril, mayo, junio; pero no fuera de esa época. O sea que realmente al final; bueno, pues encontramos un estudio donde los síntomas aparecen solamente estacionalmente, los alérgenos aparecen solamente estacionalmente de acuerdo con los pólenes de gramíneas que aparecen solamente estacionalmente, en los pacientes clínicamente sensibilizados solamente a gramíneas. Y en los pacientes con síntomas fuera de la primavera, ¿cuál? Pues eso es lo que nosotros pensamos, que eran gramíneas. O sea, cuando hicimos este estudio teníamos la esperanza de decir, vamos a encontrar partículas de gramíneas y esto va a coincidir. Pues no.

Dra. Lydia Zapatero / Hospital Materno Infantil Gregorio Marañón: Lo que quiero que me aclaréis, que me parece importante, es que decís que vuestros pacientes que llevan su cartilla de síntomas no se ha reactivado ningún en septiembre ni en enero-febrero si solo estaban sensibilizados a gramíneas.

Dr. Subiza: Bueno, lo primero, para hacer este estudio aunque esté todo informatizado, con el Alercón que les incentiva para que cumplimenten la cartilla, pues al final como de 500 cartillas, 128 hicieron todo el periodo, y de esos 128, dejando polisensibilizados pero con una sensibilización solamente clínica a gramíneas y que hubiera hecho la cartilla durante todo el periodo se quedó solamente en 23. Entonces, bueno, es un triunfo el conseguir buena cumplimentación durante un periodo tan grande, pero ésa es la información que tenemos. De los polisensibilizados se eliminaron los que tenían una sensibilización clínica a Plátano y a *Cupressus*. Entonces, bueno, pues eso fue una sorpresa porque también pensábamos que los pacientes con gramíneas se reactivaban en los veranillos locos estos de marzo y abril; parece que eso tiene más que ver con pólenes de árboles que propiamente con gramíneas, eso es lo que estamos viendo ahora

Nos hemos encontrado unos resultados que nos han sorprendido también porque pensábamos que íbamos a encontrar partículas fuera de la estación y que eso podría explicar esas reactivaciones de los veranillos locos de marzo, de esas reactivaciones de septiembre, octubre, pero lo cierto es que luego ha quedado como una cosa muy, muy aséptica, ¿no? Pero bueno, eso es lo que hay y está bien saberlo, habrá que seguir investigando pero en relación a esta técnica pues vamos, yo creo que de momento lo único que ha servido es para despejar dudas pero yo creo que hoy por hoy no aporta más a los recuentos convencionales de gramíneas. Y siendo mucho más costoso y aparte que es una técnica que nunca se puede hacer al día, tiene que hacerse de forma retroactiva, o sea al final se cogen todos los tubos y es cuando se hace el ensayo porque tiene que hacerse el ensayo simultáneamente. Entonces hoy por hoy yo creo que los recuentos de pólenes son insustituibles.

Dr. Ojeda: Yo quería hacer un último comentario y decir que en medicina no solamente cuenta lo que te sale bien sino que también cuenta lo que te sale mal, entonces esa experiencia aunque no haya salido lo que se esperaba pero también es una buena experiencia, ¿no?

Dra. Cabrera: Bueno, pues muchas gracias.