

Perfiles clínicos y de sensibilización en alergia a epitelios en población infantil

Francisco José Canals Candela; Ana Martínez Navarro; Jesús María Garde Garde.
Unidad de Alergia Infantil. Hospital General Universitario de Elche.
Elche, Alicante.

Autor para la correspondencia: Jesús M. Garde: jegarde@coma.es

Palabras clave: Alergia respiratoria, Diagnóstico molecular, Alergia epitelios de animales, Prueba de provocación nasal.

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN: La prevalencia de la alergia a epitelios de animales se ha incrementado en los últimos años, ganando con ello importancia el estudio del perfil de sensibilización detectado por diagnóstico molecular. Se pretende determinar el perfil de sensibilización de los pacientes sensibilizados frente a epitelios y comprobar si se correlaciona con la clínica. Además se compara la utilidad de las diferentes pruebas diagnósticas a la hora de establecer la relevancia clínica de la sensibilización en estos pacientes. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio observacional descriptivo que analiza el perfil de sensibilización mediante diagnóstico molecular en una selección de pacientes sensibilizados a epitelios de gato y perro. Se compara el diagnóstico molecular realizado mediante técnica ISAC® con la técnica ImmunoCAP®. Se analizan también los resultados de las diferentes pruebas diagnósticas: tamaño papular en prick test, valor de IgE sérica específica frente a extracto completo y frente a componentes alérgicos, y prueba de provocación nasal. **RESULTADOS:** Se observa en la muestra un predominio de la sensibilización frente a alérgenos mayoritarios (Fel d1, Can f1 y Can f5), con escasas positividad frente a seroalbúminas (Fel d2, Can f3). Entre las diferentes pruebas analizadas, la única que guarda una buena correlación con la tolerancia clínica es la prueba de provocación nasal. **CONCLUSIONES:** En la muestra analizada destaca la elevada sensibilización frente a alérgenos especie-específicos en los pacientes sensibilizados frente a epitelio de gato (>95%) pero considerablemente menor en el caso de los pacientes sensibilizados frente a epitelio de perro (70%). El 29% de los pacientes no presentó positividad a ninguno de los componentes analizados mediante diagnóstico molecular. Las técnicas para el diagnóstico molecular (ISAC® e ImmunoCAP®) en la sensibilización frente a epitelios de animales muestran resultados similares. La única prueba que muestra correlación con la clínica es la prueba de provocación nasal.

Introducción

La sensibilización frente a epitelios de animales es un problema habitual al que se enfrenta el alergólogo en la consulta. En las últimas décadas la sensibilización frente a epitelios de animales ha ido creciendo en los países occidentales (1, 2) y dicha sensibilización se ha asociado a un aumento de la hiperreactividad bronquial (3, 4).

La evitación del contacto con los animales a los que uno se encuentra sensibilizado no siempre es suficiente, pues se ha comprobado la presencia de alérgenos en cantidad suficiente para producir sintomatología en colegios y en domicilios en los que no se convive con animales (4), así como también se conoce que muchos de los pacientes sensibilizados frente a epitelios de animales nunca han convivido con ellos (5).

Se dispone de diferentes pruebas diagnósticas para abordar el enfoque diagnóstico en el paciente con sospecha de sensibilización frente a epitelios de animales. Entre las cuales se encuentran aquéllas que detectan sensibilización como los test cutáneos o la determinación de IgE sérica específica frente a extracto completo, el diagnóstico molecular de componentes alérgenos, que permite identificar perfiles de sensibilización y discriminar sensibilización real frente a sensibilización por reactividad cruzada, y pruebas que permiten establecer la relevancia clínica de la sensibilización como lo es la prueba de provocación nasal.

El diagnóstico molecular de los componentes alérgenos ha supuesto, una vez incorporada a la práctica clínica habitual del alergólogo, el mayor conocimiento de las fuentes alérgicas (6), diferenciando los alérgenos mayoritarios y asociados a mayor clínica de aquéllos alérgenos que son responsables de una clínica de menor intensidad. Este mayor conocimiento de los alérgenos permite también diferenciar una sensibilización real de aquella secundaria a una reactividad cruzada (7), permitiendo así mejorar la eficacia de las medidas de prevención y la elección de la inmunoterapia específica.

En el presente trabajo, realizado en la Unidad de Alergología Infantil del Hospital General Universitario de Elche (Alicante) se plantea como objetivo evaluar la utilidad de la detección de componentes alérgenos mediante diagnóstico molecular así como también de otras pruebas diagnósticas utilizadas en la práctica clínica habitual de la unidad.

Material y métodos

Se plantea estudio prospectivo observacional descriptivo en el que se analiza el perfil de sensibilización frente a epitelios de animales mediante diagnóstico molecular y se analiza el grado de concordancia con el diagnóstico de tolerante o de no tolerante al alérgeno. Los pacientes son seleccionados de forma aleatoria mediante muestreo de casos consecutivos entre los pacientes que cumplen los criterios de inclusión: diagnóstico de rinitis alérgica con o sin asma asociado; sensibilización de-

tectada mediante prueba cutánea de prick frente a extracto de gato y/o perro confirmada con detección de IgE sérica específica frente a extracto completo de gato y/o perro; disponibilidad para realización de prueba de exposición natural a gato y/o perro, una prueba de provocación nasal valorada mediante rinometría acústica y una analítica sanguínea para análisis de componentes alergénicos mediante diagnóstico molecular. Se excluyen pacientes que no tengan dicha disponibilidad, aquéllos que no colaboren para la realización de la provocación nasal; aquéllos que presenten contraindicaciones para la realización de la provocación nasal; y aquéllos que hayan recibido inmunoterapia específica frente a epitelio de animal en los últimos 5 años.

Para el diagnóstico de sensibilización alérgica se realizan pruebas cutáneas (Prick test) con batería estándar utilizada en la Unidad de Alergología Infantil y la determinación IgE sérica específica frente a extracto completo se realiza mediante método ImmunoCAP®.

A los pacientes seleccionados se les instruye en la realización de una prueba de exposición natural, debiendo permanecer durante un periodo no inferior a dos horas en el interior de un domicilio en el que de forma habitual vivan gatos o perros en el interior. La clínica que presenten será registrada en un documento por parte del tutor del paciente y permitirá clasificar la muestra en tres grupos:

- Grupo 1: pacientes sensibilizados frente a gato y/o perro con sintomatología alérgica tras exposición al animal al que se encuentran sensibilizados. Sensibilizados no tolerantes. (Prueba exposición natural positiva).
- Grupo 2: pacientes sensibilizados frente a gato y/o perro sin sintomatología alérgica tras la exposición al animal al que se encuentran sensibilizados. Sensibilizados tolerantes. (Prueba exposición natural negativa).
- Grupo 3: pacientes sensibilizados frente a gato y/o perro con sintomatología dudosa tras la exposición al animal al que se encuentran sensibilizados o pacientes que conviven con el animal al que se encuentran sensibilizados. (Prueba exposición natural dudosa).

Una vez clasificados en los diferentes grupos se realiza el diagnóstico molecular, mediante técnica ISAC®. Debido a un problema en el laboratorio del centro, en los últimos pacientes seleccionados se ha realizado la determinación de IgE sérica específica frente a componentes alergénicos (diagnóstico molecular) mediante técnica ImmunoCAP®. Ante dicha circunstancia, se utilizan los datos obtenidos mediante ambas técnicas para comparar los resultados obtenidos.

La última prueba que se realiza es la prueba de provocación nasal alérgeno específica frente extractos estandarizados en unidades biológicas (BU) de gato y/o perro del laboratorio ALK-Abelló® (8). La Unidad en la que se realiza el estudio cuenta con personal cualificado y experimentado en la prueba, estando incorporada a la práctica clínica habitual de la Unidad. La valoración de la prueba se realiza en dos partes:

una primera parte en la que se valoran los cambios en la sintomatología del paciente tras la inhalación del extracto alérgico estandarizado mediante un cuestionario de síntomas. En la segunda parte de la prueba se valora el cambio en el volumen nasal, medido en el área transversa mínima, tras la inhalación del alérgeno a concentraciones crecientes. Se ha establecido una puntuación para cada uno de los parámetros valorados y se establece que la prueba de provocación nasal es positiva cuando se supera la puntuación de 4 (9, 10, 11).

Para el análisis estadístico se recurre a la prueba T de Student o U de Mann Whitney para comparación de medias, test de Chi cuadrado para comparación de porcentajes, curvas ROC para establecer los mejores puntos de corte con cada prueba diagnóstica y test de Kappa para establecer la concordancia con la prueba de exposición natural. Los cálculos se realizan mediante el programa informático SPSS v22.0 de IBM®.

Resultados

Características de la muestra:

Se preseleccionaron un total de 136 pacientes mediante muestreo de casos consecutivos, siendo de los mismos el 55% varones y el 45% restante mujeres. La media de edad se situó en los 10.6 años. Los pacientes se clasificaron en tres grupos diferentes por cada alérgeno en el momento de la preselección en función de la anamnesis, modificándose posteriormente el grupo tras la realización de la prueba de exposición natural al animal. Algunos pacientes, si presentan sensibilización frente a ambos epitelios analizados, se engloban en varios grupos. La distribución entre grupos se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1

Grupo	Preselección (N=136)	Muestra final (N=114)
Grupo 1 Gato	44% (60)	53% (60)
Grupo 2 Gato	24% (33)	14% (16)
Grupo 3 Gato	33% (45)	33% (37)
Grupo 1 Perro	35% (47)	29% (33)
Grupo 2 Perro	34% (46)	35% (40)
Grupo 3 Perro	32% (44)	36% (41)

Una vez realizada la preselección no se pudieron evitar algunas pérdidas de pacientes, siendo éstas finalmente de 22 (30% de la muestra). El principal motivo para pérdida de seguimiento fue el no cumplir los criterios de inclusión (por no someterse a prueba de provocación nasal o a la analítica sanguínea).

Todos los pacientes seleccionados presentaban rinitis alérgica, siendo la mayoría de moderada intensidad (muy leve intensidad 13%, leve intensidad 34%, moderada intensidad 47%, severa intensidad 6%). Hasta el 49% asociaban asma en diferentes estadios de gravedad, siendo el más frecuente el episódico infrecuente y el persistente moderado (asma bronquial episódico infrecuente 35%, episódico frecuente 19%, persistente moderado 35%, persistente severo 12%).

Los pacientes seleccionados, en su mayor parte eran pacientes polisensibilizados, siendo la sensibilización más frecuente frente a ácaros del polvo doméstico (91 pacientes) y frente a polen de olivo (92 pacientes). 72 de los pacientes estaban sensibilizados tanto a epitelio de gato como epitelio de perro.

Diagnóstico molecular:

Se realizó diagnóstico de componentes alérgicos, obteniéndose 84 muestras por técnica ISAC® y 30 muestras por técnica ImmunoCAP®. Inicialmente en todos los pacientes se recurría a la técnica ISAC®, pero tras un problema a nivel de laboratorio, se produjo un cambio en la técnica y se empezó a utilizar ImmunoCAP®.

En pacientes sensibilizados frente a epitelio de gato, en las muestras analizadas por ISAC® se aprecia una elevada prevalencia de sensibilización especie específica, principalmente a Fel d1 (93% de los pacientes), con escasa sensibilización frente a Fel d4 (4% de los pacientes). El 93% de los pacientes estaban sensibilizados frente a Fel d1 o Fel d4. Se detectó presencia de sensibilización frente a seroalbúminas (Fel d2, Can f3, Equ c3) en el 9% de los pacientes, aunque sólo en un paciente (2%) se dio la circunstancia de positividad frente a seroalbúminas sin sensibilización especie-específica. En tres pacientes, a pesar de cumplir criterios de inclusión (IgE sérica específica y prueba cutánea positiva frente a epitelio de gato), no se detectó sensibilización frente a alérgenos especie-específicos ni frente a alérgenos de reactividad cruzada (Tabla 2).

Tabla 2. Componentes alérgicos en pacientes sensibilizados frente a epitelio de gato

	ISAC (KU/l)	ImmunoCAP (KU/l)	Valor p
Fel d1	93%	96%	0.537
Fel d4	7%	19%	0.014
Fel d2	9%	0%	0.003
Can f3	9%	0%	0.003

En los pacientes sensibilizados a epitelio de gato en los que se realizó el diagnóstico molecular por ImmunoCAP®, destaca que el 96% presentaban sensibilización frente a Fel d1 y el 19% frente a Fel d4. Todos los pacientes presentaban sensibilización especie-específica (Fel d1 o Fel d4). No se detectó ningún paciente con sensibilización frente a seroalbúminas en la muestra analizada, pero en el 4%, a pesar de presentar

IgE sérica específica frente a extracto completo positiva, y pruebas cutáneas frente a epitelios de gato positivas, no se detectó ninguna sensibilización frente a alérgenos especie-específicos ni frente a alérgenos de reactividad cruzada (Tabla 2).

Los pacientes sensibilizados frente a epitelio de perro en los que se realizó el diagnóstico molecular por ISAC®, se observa un 73% de positividad frente a alérgenos especie-específicos (Can f1, Can f2 y Can f5), siendo mayoritaria la sensibilización frente a Can f1 (55%), seguido de Can f5 (35%) y de Can f2 (12%). Se detectó en el 8% de los pacientes sensibilizaciones frente a marcadores de reactividad cruzada: seroalbúminas como Fel d2 (6%), Can f3 (6%) y Equ c3 (2%). Sólo en un paciente (2%) se detectó positividad frente a alérgenos de reactividad cruzada sin detectarse sensibilización frente a alérgenos especie-específicos. En el 20% de los pacientes no se detectó sensibilización frente a alérgenos especie-específicos ni frente a alérgenos de reactividad cruzada (Tabla 3).

Tabla 3. Componentes alérgicos en pacientes sensibilizados frente a epitelio de perro

	ISAC (KU/l)	ImmunoCAP (KU/l)	Valor p
Can f1	55%	35%	0.560
Can f5	35%	53%	0.2
Fel d2	6%	0%	0.136
Can f3	6%	0%	0.136

Los diagnósticos moleculares obtenidos por técnica ImmunoCAP® en pacientes sensibilizados frente a epitelio de perro presenta resultados similares, con predominio del alérgeno especie-específico Can f5 (53% de los pacientes), detectándose sensibilización frente a Can f1 (35% de los pacientes). El 71% de los pacientes presentaban sensibilización especie-específica. No se detectó sensibilización frente a alérgenos marcadores de reactividad cruzada (Fel d2, Can f3). Un 29% de los pacientes sensibilizados frente a epitelio de perro no presentaron sensibilización frente a ninguno de los alérgenos testados en el diagnóstico molecular (Tabla 3).

Cuando se comparan los resultados obtenidos por diagnóstico molecular por ambas técnicas se observan patrones similares, aunque puntualizando que en los pacientes sensibilizados frente a gato en los que se realizó la técnica mediante ImmunoCAP® se detectaron más sensibilizaciones frente a Fel d4 (7% en los pacientes estudiados con ISAC frente a 19% en pacientes estudiados con ImmunoCAP®). No se detectaron sensibilizaciones frente a alérgenos de reactividad cruzada mediante técnica ImmunoCAP®.

Cuantitativamente, no se observan diferencias estadísticamente significativas en los valores obtenidos mediante diagnóstico molecular entre las muestras analizadas con ISAC® y las muestras analizadas con ImmunoCAP® (Tabla 4).

Tabla 4. ISAC VS ImmunoCAP

	ISU (KU/l)	ImmunoCAP (KU/l)	P
IgE extracto completo frente a gato	13.56	20.22	0.273
Fel d1	19.60	19.11	0.94
Fel d4	0.8198	0.247	0.53
Fel d2	0.159	0.02	0.3
IgE extracto completo frente a perro	13.12	5.48	0.2
Can f3	0.274	0.014	0.493
Can f1	7.37	2.77	0.218
Can f5	3.11	3.10	0.997

Otras pruebas:

Asumiendo que la prueba de exposición natural a perro y a gato permite diferenciar al paciente no tolerante del tolerante, se realiza un análisis estadístico mediante test de correlación de kappa para comprobar la concordancia de la positividad de las diferentes pruebas diagnósticas disponibles en la consulta con el resultado de la prueba de exposición natural.

Para ello, inicialmente se establecen los mejores puntos de corte mediante curvas ROC para cada prueba diagnóstica realizada en los pacientes: Tamaño de pápula en Prick, valores de IgE sérica específica frente a extracto completo, valores de IgE sérica específica frente a alérgenos especie-específicos obtenida mediante diagnóstico molecular, provocación nasal valorada mediante rinometría acústica y puntuación de síntomas según protocolo de la unidad, estableciéndose como positiva la prueba de provocación nasal con puntuación total superior a 4 (9, 10, 11). Para el análisis estadístico se descartan los pacientes pertenecientes al grupo 3 (pacientes con tolerancia dudosa) en ambos epitelios (Tablas 5 y 6).

Tabla 5. Mejores puntos de corte para sensibilizados frente a epitelio de gato

	Valor	Sensibilidad y Especificidad	Correlación con tolerancia clínica (Kappa)
Tamaño papular en prueba cutánea (Prick test)	≥ 4.75	S= 63.2% E= 62.5%	0.19 (correlación débil)
IgE sérica específica frente a extracto completo	≥ 2	S= 93.3% E=62.5%	0.385 (correlación débil)
IgE sérica específica frente a Fel d1 (Diagnóstico molecular)	≥ 8.44	S= 73.3% E=75.2%	0.379 (correlación débil)
Prueba de provocación nasal (puntuación total)	≥ 4	S= 93.3% E= 87.5%	0.773 (correlación buena)

Tabla 6. Mejores puntos de corte para sensibilizados frente a epitelio de perro

	Valor	Sensibilidad y Especificidad	Correlación con tolerancia clínica (Kappa)
Tamaño papular en prueba cutánea (Prick test)	≥ 4.5	S= 63.2% E= 65.2%	0.28 (correlación débil)
IgE sérica específica frente a extracto completo	≥ 5.25	S= 73.7% E= 65.2%	0.384 (correlación débil)
IgE sérica específica frente a Can f1 (Diagnóstico molecular)	≥ 1.215	S= 72.2% E=65.2%	0.384 (correlación débil)
Prueba de provocación nasal (puntuación total)	≥ 4	S= 100% E= 80.9%	0.965 (correlación muy buena)

La prueba diagnóstica que presenta buena correlación con la prueba exposición natural es la provocación nasal. El resto de pruebas diagnósticas realizadas no presentan buena correlación.

Conclusiones

El perfil de sensibilización detectado mediante técnica ISAC® no difiere del detectado mediante la técnica ImmunoCAP®, por lo que ambas técnicas parecen mostrar buena concordancia a la hora de determinar el perfil alergológico del paciente con sensibilización frente a epitelios de animales. Los valores de Fel d1 en torno al 95% son similares a los publicados en otros trabajos (12). En el caso de la sensibilización frente a epitelio de perro, los resultados muestran sensibilizaciones frente a alérgenos mayoritarios Can f1 y Can f5 algo menores de lo publicado por otros autores (13). En el caso del epitelio de perro llama la atención que en el 29% de los pacientes, a pesar de presentar pruebas cutáneas e IgE frente a extracto completo, no se detectó sensibilización IgE mediada tras el análisis por diagnóstico molecular, lo que sugiere que para mejorar la técnica, se debería ampliar los componentes alergénicos testados.

La sensibilización frente a proteínas de reactividad cruzada en la muestra analizada fue muy baja, pues sólo cinco de los pacientes en los que se realizó determinación de componentes alergénicos mediante técnica ISAC® presentó positividad frente a seroalbúminas. En los pacientes en los que se realizó el diagnóstico molecular mediante técnica ImmunoCAP® no se detectó sensibilización frente a seroalbúminas en ningún caso. Estos resultados deben ser interpretados con prudencia, pues el reducido tamaño muestral, y la menor prevalencia de sensibilización frente a proteínas de reactividad cruzada que frente a alérgenos mayoritarios especie-específicos publicada en otros trabajos (14), puede ser la causa de que no se detecten en la muestra analizada.

Comparando las diferencias entre los niveles de IgE sérica específica frente a extracto completo y frente a componentes alergénicos obtenidos mediante técnica ISAC® o técnica ImmunoCAP®, se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas, por lo que ambos métodos parecen ser comparables en la muestra estudiada.

El diagnóstico molecular, al igual que la detección de sensibilización mediante test de Prick o mediante detección de IgE sérica específica frente a extracto completo, no guarda una buena correlación la prueba de exposición natural, sirviendo pues como mero marcador de sensibilización. Por otra parte, la prueba de provocación nasal, valorada según el protocolo de la unidad, mediante rinometría acústica y puntuación de sintomatología, sí que permite diferenciar el paciente tolerante del no tolerante.

Bibliografía

1. Rönmark E, Bjerg A, Perzanowski M, Platts-Mills T, Lundback B. Major increase in allergic sensitization in schoolchildren from 1996 to 2006 in northern Sweden. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124:357-63.
2. Schmitz R, Ellert U, Kaleklosch M, Dahm S, Thamm M. Patterns of sensitization to inhalant and food allergens. Findings from the German Health Interview and Examination Survey from Children and Adolescents. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;162:263-70.
3. Bergstrom SE, Sundell K, Hedlin G. Adolescents with asthma: consequences of transition from paediatric to adult healthcare. *Respir Med*. 2010;104:775-85.
4. Almqvist C, Wichman M, Perfetti L, Bergling N, Renstrom A, Hedren M, et al. Worsening of asthma in children allergic to cats, after indirect exposure to cat at school. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:694-8.
5. Perzanowski MS, Ronmark E, Platts-Mills TA, Lundback B. Effect on cat and dog ownership on sensitization and development of asthma among preteenage children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 166:696-702.
6. Borres MP, Ebisawa M, Eigenmann PA. Use of allergen components begins a new era in pediatric allergology. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011; 22:454-61.
7. Canonica GW, Ansotegui IJ, Pawankar R, Schmid-Grendelmeier P, van Hage M et al. A WAO - ARIA - GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World Allergy Organ J*. 2013 Oct 3;6(1):17. doi: 10.1186/1939-4551-6-17.
8. Ana Martínez Navarro A (2016). Prueba de provocación nasal con alérgeno, valorada mediante rinometría acústica, en el diagnóstico de rinitis alérgica en niños sensibilizados a gato y perro. Universidad de Murcia. Murcia.
9. Fornies M, García B, Peña M, Sempere M, Garde JM. Prueba de provocación nasal con alérgeno, valorada mediante rinometría acústica, en niños monosensibilizados con rinitis alérgica. Criterios de positividad. XXXIX Congreso SEICAP 2015 . 21-5-2015. Ref Type: Abstract.
10. Peña M, Fornies M, Canals FJ, Sempere M, Garde JM. Comparación de los resultados de la provocación nasal específica medida mediante rinometría acústica con otros métodos diagnósticos en pacientes polisensibilizados. XXXIX Congreso SEICAP 2015 . 21-5-2015. Ref Type: Abstract.

11. Martínez A, Canals FJ, Mendoza MR, Cardona PR, Fernández E, Garde J. ¿Existe una prueba diagnóstica que permita valorar la relevancia clínica de la sensibilización a gato y perro en niños con rinitis alérgica? XXXIX Congreso SEICAP 2015 . 21-5-2015. Ref Type: Abstract.
12. Gronlund H, Adedoyin J, Reininfer R, Varga EM, Zach M, Fredriksson M, et al. Higher immunoglobulin E antibody levels to recombinant Fel d 1 in cat-allergic children with asthma compared with rhinoconjunctivitis. *Clin Exp Allergy*. 2008;38:1275-81.
13. Konradse J, Fujisawa T, Van Hage M, Hedlin G, Hilger C, et al. Allergy to furry animals: New insights, diagnostic approaches, and challenges. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(3):616-25.
14. Spitzauer S, Pandjaitan B, Soregi G, Muhl S, Ebner C, Kraft D, et al. IgE cross-reactivities against albumins in patients allergic to animals. *J Allergy Clin Immunol*. 1995;96:951-9.