



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Análisis de los Perfiles de Sensibilización Mediante Prueba Cutánea, Determinación de Ige Frente a Alérgenos Mayoritarios y Provocación Nasal en Pacientes con Enfermedad Alérgica Respiratoria por Sensibilización a Salsola, Olea Y Gramíneas en el Area VII Region de Murcia.

**D. Polec Ricardo Cardona Materna
2019**



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

ANÁLISIS DE LOS PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN MEDIANTE PRUEBA CUTÁNEA, DETERMINACIÓN DE IgE FRENTE A ALÉRGENOS MAYORITARIOS y PROVOCACIÓN NASAL EN PACIENTES CON ENFERMEDAD ALÉRGICA RESPIRATORIA POR SENSIBILIZACIÓN A SALSOLA, OLEA Y GRAMÍNEAS EN EL AREA VII REGION DE MURCIA.

**POLEC RICARDO CARDONA MATERNA
2019**



UNIVERSIDAD DE MURCIA

Facultad de Medicina

ANÁLISIS DE LOS PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN MEDIANTE PRUEBA CUTÁNEA, DETERMINACIÓN DE IgE FRENTE A ALÉRGENOS MAYORITARIOS y PROVOCACIÓN NASAL EN PACIENTES CON ENFERMEDAD ALÉRGICA RESPIRATORIA POR SENSIBILIZACIÓN A SALSOLA, OLEA Y GRAMÍNEAS EN EL AREA VII REGION DE MURCIA.

Tesis doctoral para optar al grado de Doctor presentada por:

Polec Ricardo Cardona Materna

Directores:

Dr. Antonio Carbonell Martínez

Dra. Ana Escudero Pastor

Murcia - 2019

**AUTORIZACIÓN DE LA DIRECCIÓN MÉDICA
DEL HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA
ÁREA DE SALUD VII DE MURCIA**

Con el dictamen favorable del Comité Ético de Investigación Clínica, examinada la solicitud y la documentación aportada, para llevar a cabo el proyecto titulado: '**Análisis de los perfiles de sensibilización mediante prueba cutánea, determinación de IgE frente a alérgenos mayoritarios y provocación nasal en pacientes con enfermedad alérgica respiratoria por sensibilización a salsola, olea y gramíneas determinada por prueba cutánea en el Área VII de la Región de Murcia**', en el que actúa como investigador principal el doctor Polec R. Cardona Materna de la Sección de Alergia.

El doctor Amancio Marín Sánchez, Director Médico del Hospital General Universitario Reina Sofía, Área de Salud VII de Murcia, AUTORIZA la realización del mismo.

En Murcia, a 16 de agosto de 2016

El Director Médico

Amancio Marín Sánchez

AGRADECIMIENTOS:

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento:

A los directores de la presente tesis, los doctores Antonio Carbonell y Ana Escudero, por confiar en mí para la realización de este proyecto, por su apoyo y animo durante todo este tiempo.

A todos mis compañeros, tanto facultativos como personal de enfermería del Hospital General Universitario Reina Sofía cuya ayuda ha sido inestimable para el desarrollo y fin de este trabajo.

A mi familia que aún lejos de aquí, ha estado presente en cada momento que he vivido en esta empresa sintiendo su cariño, su fuerza y su apoyo cada día.

A Carmen, por su tesón y entusiasmo cada día. Gracias por tus valiosos consejos y por creer en mí siempre.

A Fernando Torre y José Puig, sin cuya ayuda no hubiese sido posible la realización de este trabajo.

A mis pacientes porque a ellos nos debemos y porque de ellos aprendemos en esta profesión. Este trabajo es por y para ellos.

ABREVIATURAS:

ACT.....	Test de control de asma.
ARIA.....	Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma
AT.....	Área Transversa (cm ²)
ATM.....	Área Transversa Mínima (cm ²)
AUC/ROC.....	Área bajo la curva
BU.....	Unidades Biológicas
BOE.....	Boletín Oficial del Estado
E.....	Especificidad
ELISA.....	Enzyme-linked immunosorbent assay
FEV1.....	Volumen Espiratorio Forzado en el primer segundo
GEMA.....	Guía Española para el Manejo del Asma
IECAs.....	Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina
IY.....	Índice de Youden
K.....	Coefficiente Kappa
PC.....	Punto de Corte
PDVOL2.....	Porcentaje de Disminución de Volumen entre 1-4 cm desde las narinas
PNIF.....	Pico de Flujo Inspiratorio Nasal
PPN.....	Prueba de Provocación Nasal
S.....	Sensibilidad
SEAIC.....	Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica
SPRINT.....	Cuestionario para la Medición de la Calidad de Vida Relacionada con la Salud en Pacientes con Rinitis
VOL.....	Volumen de un determinado segmento de la cavidad nasal (cm ³)
VOL1.....	VOL comprendido entre las narinas y 2 cm
VOL2.....	VOL comprendido entre 2 y 5 cm desde las narinas
VOL3.....	VOL comprendido por los primeros 7 cm de la fosa nasal
VPN.....	Valor Predictivo Negativo
VPP.....	Valor Predictivo Positivo

INDICE

1. Introducción:	14
1.1 Rinitis y Asma alérgico.	17
1.2 Geografía y Botánica de Murcia (58).	19
1.3 Polinización en Murcia.....	19
1.4 Anatomía de la cavidad nasal (60).	22
1.5 Prueba De Provocación Nasal Alérgeno-Específica.	24
1.5.1 Fundamento y bases físicas de la Rinometría Acústica.	25
1.5.2 Registro e Interpretación de la rinometría acústica.	26
1.5.3 Concepto e Indicaciones de la Prueba de Provocación Nasal.....	27
1.5.4 Protocolo de provocación nasal.....	28
1.6 Pruebas cutáneas o intraepidérmicas (79):	34
1.7 Técnicas in vitro: IgE específica.....	35
2. Preguntas de investigación.....	35
3. Objetivos.....	36
3.1 Objetivo Principal.....	36
3.2 Objetivos Secundarios.	36
4. Metodología.	36
4.1 Población de estudio.....	36
4.2 Justificación y tamaño muestral.	36
4.3 Criterios de inclusión y exclusión.....	37
4.3.1 Criterios de inclusión.....	37
4.3.2 Criterios de exclusión.	37
4.4 Diseño.	38
4.5 Variables.....	38
4.6 Método.	40
4.7 Aspectos éticos y legales.....	42
4.8 Análisis Estadístico.	42
5. Resultados.	44
5.1 Datos Demográficos.....	44
5.2 Datos Clínicos.....	46
5.3 Pruebas Diagnósticas.	51

5.3.1 Pruebas Cutáneas.....	51
5.3.2 Inmunoglobulinas específicas.	53
5.3.3 Calendario Polínico y Estacionalidad.....	55
5.3.4 Prueba de Provocación Nasal.....	60
5.4 Análisis Estadístico.	65
5.4.2 Análisis de la provocación nasal con Olivo.....	70
5.4.3 Análisis de la provocación nasal con Salsola.....	73
5.5 Estimación de las Curvas ROC o AUC	77
5.5.1 Curva AUC IgE específicas/Bousquet para Gramíneas.....	78
5.5.2 Curva AUC IgE específicas/Bousquet para Olivo.....	83
5.5.3 Curva AUC IgE específicas/Bousquet para Salsola.....	86
6. Discusión.....	90
7. Conclusiones.....	100
Bibliografía.....	105

1. INTRODUCCIÓN.

Las enfermedades alérgicas constituyen un grupo de patologías de los de mayor prevalencia en los países desarrollados, lo que supone un alto impacto en los costes sanitarios. De entre ellas, las más frecuentes son la rinitis y el asma (1-4).

Por otro lado, es habitual que los pacientes alérgicos estén polisensibilizados, es decir, que reaccionen frente a 2 ó más antígenos. Este fenómeno no es exclusivo de un país o una determinada zona geográfica (2). Sin embargo, la presión alérgica existente en los países mediterráneos como España, hace que adquiera mayor relevancia, dado que pueden aparecer sensibilizaciones a alérgenos minoritarios, lo que sin duda dificulta el diagnóstico etiológico de estos enfermos (5-7).

La polinización de las 3 especies vegetales más relevantes en nuestro estudio (*Olea europaea*, *Salsola kali* y *Poaceae*) (6) ocurre en abril-mayo-junio (primavera). Además, las quenopodiáceas presentan un segundo pico característico en septiembre-octubre, pudiendo extenderse o acortarse dependiendo de factores ambientales como lluvia, temperatura, etc. Esta particularidad es importante, ya que el solapamiento de los periodos de polinización de las diferentes familias de plantas dificulta la precisión diagnóstica. Un reciente consenso realizado por alergólogos de toda España ha destacado la necesidad de diagnosticar la relevancia clínica de las sensibilizaciones encontradas en el paciente alérgico, antes de iniciar un tratamiento con inmunoterapia (4).

Hasta el momento actual, el diagnóstico etiológico de estas enfermedades se ha basado en la realización de las pruebas cutáneas y la determinación de IgE sérica específica mediante CAP. Ambos métodos detectan la presencia de anticuerpos IgE frente a un determinado extracto alérgico. En el caso de las primeras se demuestra la presencia de IgE específica unida a células, son fácilmente reproducibles y de un coste relativamente bajo, por lo que suelen utilizarse con mayor frecuencia. Por su parte, la determinación de IgE sérica es una prueba más específica, pero igualmente se realiza frente a extracto completo. Por tanto, aunque ambas técnicas permiten, generalmente, un adecuado diagnóstico etiológico de la enfermedad alérgica, es evidente que en zonas de alta presión alérgica o con un elevado índice de

neumoalérgenos en el ambiente, pueden no ser suficientes. Una primera consecuencia de este fenómeno es que el tratamiento etiológico de algunos de estos pacientes no se puede establecer de forma precisa (5,8).

Recientemente, ha empezado a utilizarse un nuevo procedimiento para esclarecer la etiología de la enfermedad alérgica conocido como diagnóstico molecular o por componentes. Se lleva a cabo mediante una técnica basada en la determinación de IgE sérica específica frente a un antígeno concreto, en lugar de frente al extracto completo. Así, estudios epidemiológicos recientes han permitido establecer el mapa de sensibilización alérgica en enfermedades, tales como la hipersensibilidad a veneno de himenópteros (8) o en la frecuencia de sensibilización a los principales neumoalérgenos en toda España (5, 9). En este sentido, es de destacar que los alérgenos estacionales más prevalentes en nuestro país son los correspondientes a los pólenes de Gramíneas, Olivo, Ciprés y Salsola. En diferentes trabajos, se ha comprobado la importancia de determinados antígenos tanto mayoritarios como minoritarios, así como el papel de confusión diagnóstica que podían representar los panalérgenos, especialmente profilina y, en menor medida, polcalcina. Además, también se han publicado datos acerca de la prevalencia de sensibilización a panalérgenos (10-19).

Pero además de lo anteriormente expuesto, la aplicación de estas nuevas técnicas diagnósticas tiene una clara implicación en lo referente a la indicación y posible composición de la inmunoterapia con alérgenos, tratamiento etiológico de la enfermedad alérgica respiratoria. De este modo, en dos publicaciones recientes se registra una discrepancia en la posible indicación / composición de la inmunoterapia que afecta al 54% de los pacientes (20) o al 56.8% (21). Algunos autores consideran este diagnóstico como requisito previo indispensable para la prescripción de este tipo de tratamiento (22). A este respecto, es importante señalar que, aunque el diagnóstico por componentes pueda suponer un gasto mayor del habitual para el estudio del paciente alérgico, resultaría superior el coste (para el paciente y la administración sanitaria) generado por la administración de un tratamiento etiológico bien indicado según los resultados de las pruebas diagnósticas comunes, pero incorrecto si nos basamos en el análisis por componentes (no estar indicado, el resultado implica una

composición diferente, etc.). Incluso se ha comprobado como determinados perfiles de sensibilización pueden asociarse a una mayor frecuencia y severidad de las reacciones alérgicas por la administración de inmunoterapia. Por todo ello, algunos autores han propuesto algoritmos diagnósticos que faciliten una mejor respuesta al tratamiento etiológico con inmunoterapia (23), pero siempre y cuando se exista una sensibilización a los marcadores genuinos y una concordancia con los síntomas del paciente.

En la actualidad, la inmunoterapia y la evitación de alérgenos son los únicos tratamientos que modifican el curso de una enfermedad alérgica por prevenir el desarrollo de nuevas sensibilidades (2), alterando la historia natural de la patología en sí misma o su progresión. La prevalencia de polinosis se ha multiplicado en las últimas décadas en Europa, EE.UU. y Japón. Los estudios epidemiológicos realizados en Suiza observan un aumento de la prevalencia del 0,8 al 11% en tan sólo 65 años (1926- 1991) (24). En Inglaterra, la prevalencia de polinosis supera al 30% entre los escolares de 13-14 años. Es decir, la polinosis ha pasado de ser una enfermedad muy rara que afectaba sólo a la clase aristocrática (Blackley, 1873) a lo que, sin duda, es el trastorno inmunológico que, en la actualidad, afecta con más frecuencia al ser humano (25). Existe evidencia científica de que la inmunoterapia con extractos alérgicos es un tratamiento eficaz frente a la rinitis y asma alérgicas. Numerosos estudios doble ciego controlados con placebo han demostrado que la inmunoterapia produce un considerable alivio de los síntomas de la rinitis y el asma alérgico debidos a la sensibilización por Gramíneas, hierbas, árboles y ácaros (5-23, 26-35). En general, se han publicado numerosos trabajos sobre la seguridad y eficacia de los tratamientos con vacunas terapéuticas antialérgicas (36-48).

Un porcentaje importante de sujetos alérgicos está polisensibilizado. Además, se ha demostrado que esta situación va en aumento (49-51). En Estados Unidos y Europa (incluyendo a España) la proporción de sujetos reactivos frente a diferentes grupos de pólenes es alta, alcanzado un porcentaje que oscila entre el 60 y el 80% (52).

Aunque en la Región de Murcia no hay datos recientes, se estima que la población alérgica sensibilizada a varios antígenos es superior al 70%, lo que obliga al uso de más

de dos componentes en una misma vacuna. En nuestro Servicio de Alergia concretamente, la sensibilización más frecuente es frente a los pólenes de *Olea*, Gramíneas y *Salsola* (6-7). El abordaje terapéutico de estos pacientes consiste en incluir estos 3 alérgenos, dada la casi imposibilidad de establecer cuál puede ser el más relevante o primario, de dos maneras diferentes. Con una mezcla al 33% de cada alérgeno para los pacientes con enfermedad alérgica respiratoria menos grave y la misma mezcla pero en proporciones del 100% para cada alérgeno en aquellos con patología más severa. Sin embargo, de acuerdo con los consensos (53-54) cuanto menor sea al número de alérgenos incluidos en una misma vacuna, mayor es el beneficio clínico a obtener.

Por todo ello, planteamos un estudio piloto con el fin de valorar si la realización del diagnóstico molecular para los alérgenos mayores de los extractos antes mencionados (*Sal k 1*, *Phl p 1*, *Phl p 5*, *Ole e 1*, *Ole e 7*) incluyendo los panalérgenos profilina (*Phl p 12*) y polcalcina (*Phl p 7*) y la posterior confirmación mediante provocación nasal, sería útil para establecer la relevancia clínica de cada uno de estos alérgenos y, en consecuencia, poder hacer un tratamiento específico mejor orientado.

1.1 Rinitis y Asma alérgico.

La rinoconjuntivitis alérgica se define como una enfermedad inflamatoria de la mucosa nasal causada por la exposición a una gran variedad de agentes, que se caracteriza principalmente por la presencia de estornudos, prurito, rinorrea y obstrucción nasal (Tabla1) (55).

La rinitis representa un problema a nivel mundial que va en aumento. De este modo, se calcula una prevalencia del 10 al 30%. En España, en un primer estudio realizado por Alergológica, la sintomatología nasal fue el principal motivo de consulta confirmándose el diagnóstico en el 91% de los casos (56).

Tabla1. Clasificación clínica Rinitis Alérgica. Guía ARIA (55, 84).

<p>Intermitente síntomas</p> <ul style="list-style-type: none"> • <4 días a la semana • \leq <4 semanas 	<p>Persistente síntomas</p> <ul style="list-style-type: none"> • >4 días a la semana • \geq >4 semanas
<p>Leve</p> <ul style="list-style-type: none"> • sueño normal • actividades diarias, deportes, y de ocio normales • trabajo y actividad escolar normales • no existen síntomas molestos 	<p>Moderada-grave uno o más puntos</p> <ul style="list-style-type: none"> • sueño anormal • interferencia en las actividades diarias, deportes, ocio • interferencia en el trabajo o la escuela • síntomas molestos

El asma bronquial es una enfermedad crónica caracterizada por una inflamación de las vías respiratorias asociada a hiperreactividad bronquial reversible, cuyos síntomas cardinales son sibilancias, disnea, opresión torácica y tos (Tabla 2).

Asimismo, el asma constituye una enfermedad altamente prevalente que afecta aproximadamente a 300 millones de personas en todo el mundo. Dado al aumento de urbanización y contaminación de las ciudades, se estima que para el 2025 la sufrirán unos cien millones de seres humanos (57).

Tabla2. Clasificación del Asma en adultos. Guía GEMA (83).

	Intermitente	Persistente leve	Persistente moderada	Persistente grave
Síntomas diurnos	No (2 veces o menos a la semana)	Más de 2 veces a la semana	Síntomas a diario	Síntomas continuos (varias veces al día)
Medicación de alivio (agonista β_2 -adrenérgico de acción corta)	No (2 veces o menos /semana)	Más de 2 veces a la semana pero no a diario	Todos los días	Varias veces al día
Síntomas nocturnos	No más de 2 veces al mes	Más de 2 veces al mes	Más de una vez a la semana	Frecuentes
Limitación de la actividad	Ninguna	Algo	Bastante	Mucha
Función pulmonar (FEV ₁ o PEF) % teórico	> 80 %	> 80 %	> 60 % - < 80 %	≤ 60 %
Exacerbaciones	Ninguna	Una o ninguna al año	Dos o más al año	Dos o más al año

FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; PEF: flujo espiratorio máximo.

1.2 Geografía y Botánica de Murcia (58).

El territorio murciano presenta características geográficas específicas, generando un ambiente donde algunos aeroalérgenos serán más prevalentes que otros. La región sigue una orientación de suroeste-noreste en las que se distinguen alineaciones montañosas, altiplanos, depresiones interiores y llanuras litorales. Su población es de aproximadamente 1.700.000 habitantes, con una distribución geográfica muy desigual siendo Alcantarilla el municipio con mayor densidad (2 520,5 hab/km²) y Moratalla el de menor, con 8,9 hab/km².

Por otra parte, tiene un clima mediterráneo al que se asocian rasgos áridos con veranos cálidos y secos e inviernos suaves. La temperatura promedio anual se encuentra en torno a los 18°C– 20°C. Las precipitaciones son escasas, de unos 300 a 350 mm por año.

En este sentido, la vegetación se adapta al clima característico de la región, estando formada por árboles de hoja perenne, como el pino, la encina y la sabina. Se aprecian zonas forradas por plantas aromáticas, como el tomillo, el romero y la retama. En las zonas más áridas se observan especies como el esparto y la boja. La zona boscosa se encuentra formada por álamos blancos, fresnos, sauces, además de plantas y arbustos, tales como rosales silvestres, zarzas, hiedras, cañaverales y espadañas.

Encontramos así varias especies con potencial neumoaérgico, entre las más frecuentes el Olivo (*Olea europaea*), Quenopodiáceas (*Chenopodium album* y *Salsola kali*), Gramíneas (*Poaceae*), seguido de los pólenes de Cupresáceas, Plátano de sombra (*Platanus acerifolia*), *Parietaria judaica* y *Artemisia vulgaris*.

1.3 Polinización en Murcia

Dada la importancia de los pólenes en la patología alérgica de nuestra región, se lleva un registro continuo de su cantidad en la atmósfera. Este recuento se realiza mediante captadores distribuidos por la región, siguiendo los criterios adoptados por la European Aeroallergen Network (EAN) y la Red Española de Aerobiología (REA) (59).

El captador utilizado para el presente trabajo se encuentra localizado en el Hospital Universitario Reina Sofía de nuestra región. Se trata de un captador volumétrico de

partículas aerovagantes sistema Hirst (1952), concretamente el modelo para muestreo semanal fabricado en Inglaterra por Burkard Manufacturing (Imagen1).

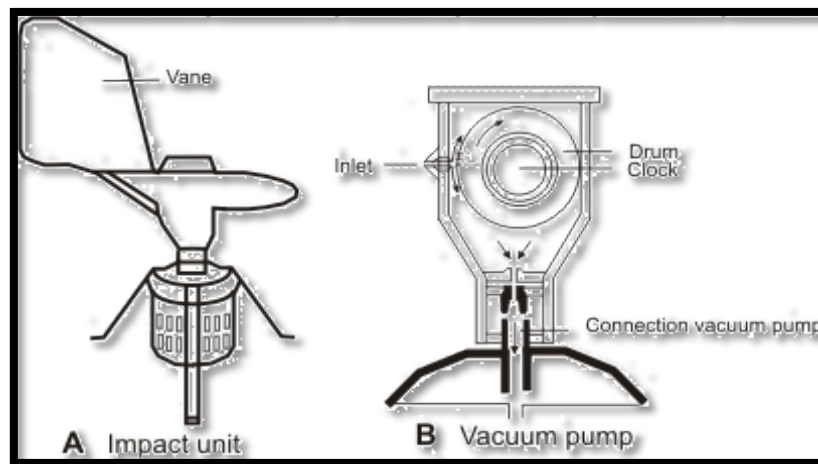


Imagen 1. Aparato volumétrico tipo Hirst (Hirst, 1952); B. Unidad de impacto

Se cuantificaron los niveles totales de granos polen/año en 2016 (Tabla 3). Los primeros en aparecer cronológicamente fueron Urticáceas y Cupresáceas

- Asimismo, los niveles de pólenes más representativos correspondieron a (Imagen 2-5):

1) Polen de oleáceas inicio leve a inicios de abril, máxima concentración en mayo y junio, día-pico el 25/05/2016, 115 granos/m³.

2) Poáceas desde finales de marzo, máxima concentración en mayo-junio, día pico 30/05/2016, 36 granos/m³. Se aprecia además un segundo pico en septiembre-octubre (<10 granos/m³).

3) Polen de Salsola/chenopodiáceas picos débiles a finales de enero (<5 granos/mm³) hasta principios de noviembre, máxima concentración en abril-mayo y agosto-septiembre, día pico 06/09/2016, 38 granos/m³.

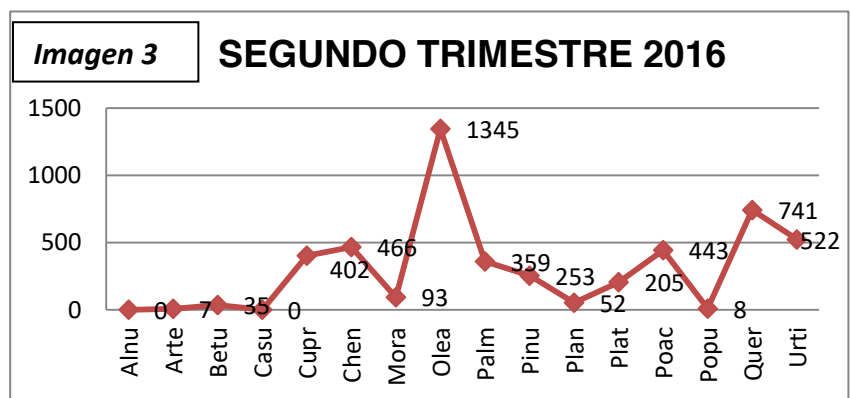
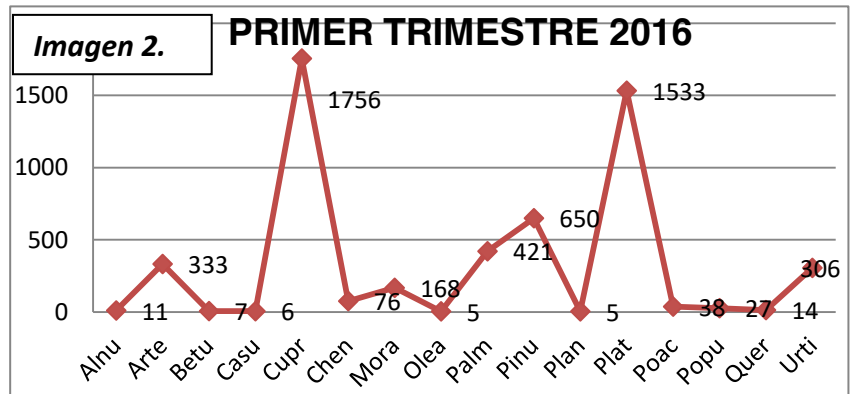
4) Polen de urticáceas presentes en enero, se alcanzó la máxima concentración en los meses de marzo-julio, día pico 29/03/2016, 26 granos/m³.

También observamos, entre otros:

- Cupresáceas desde finales de noviembre hasta mediados de abril, máxima concentración en noviembre y febrero, día pico 12/02/2016, 55 granos/m³. (Imagen 2 y 5).
- Plátano presente desde mediados de marzo a mediados de abril, día pico 16/03/2016, 198 granos/m³ (Imagen 2 y 3).

Polen	Total Año/Granos
Casu	2396
Cupr	2298
Plat	1738
Olea	1410
Chen	1317
Urti	1058
Pinu	938
Palm	844
Quer	816
Poac	646
Arte	410
Mora	261
Plan	57
Betu	42
Popu	35
Alnu	11

Tabla 3.



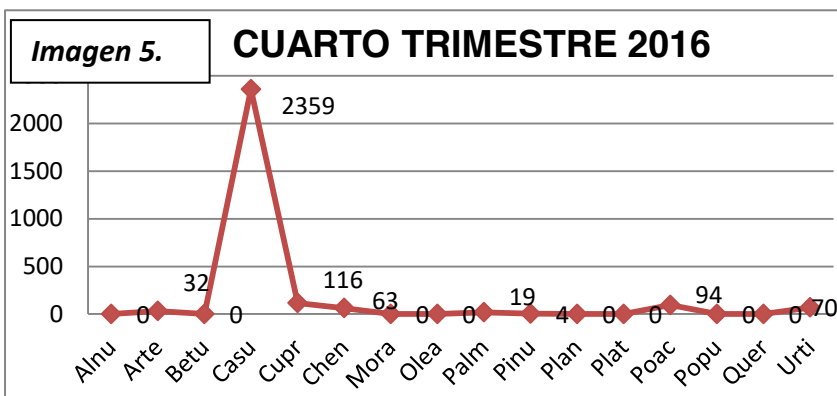
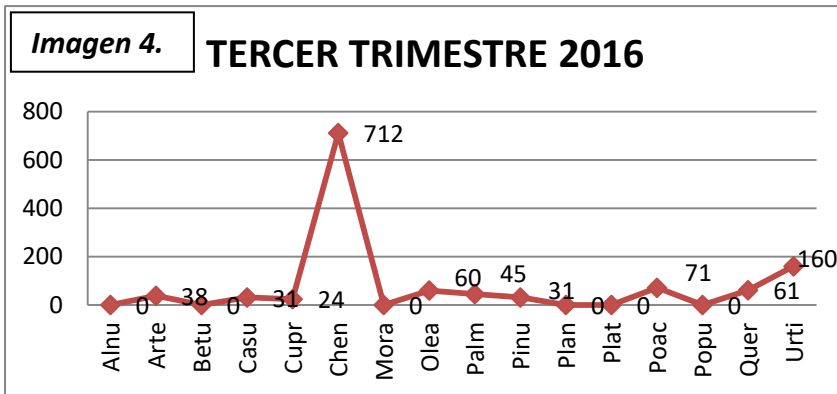


Tabla 3: Recuento de pólenes/anual por especie.

Imagen 2: Cantidad polen granos/mm3 1er Trimestre anual.

Imagen 3: Cantidad polen granos/mm3 2do Trimestre anual.

Imagen 4: Cantidad polen granos/mm3 3er Trimestre anual.

Imagen 5: Cantidad polen granos/mm3 4to Trimestre anual.

1.4 Anatomía de la cavidad nasal.

La anatomía nasosinusal puede describirse como un complejo sistema de cavidades situadas en el macizo facial formadas por estructuras óseas y cartilaginosas. Las fosas nasales se extienden desde las narinas, a través de las cuales comunican con el exterior, hasta las coanas, conectando así con la rinofaringe y el resto de la vía aérea superior.

Ambas fosas se encuentran divididas por el septum nasal, cuya parte anterior está formada por el cartílago septal, insertado en la premaxila y que se extiende desde la espina nasal anterior hasta su parte posterior ósea, formada por la lámina perpendicular del etmoides y el vómer.

La cara lateral o externa de la fosa nasal está conformada desde fuera hacia dentro por: la rama ascendente del maxilar superior, el unguis o hueso lacrimal, el etmoides con los cornetes medio y superior, la concha o cornete nasal inferior, apófisis ascendentes del palatino y lámina medial de la apófisis pterigoides del esfenoides.

Los 3 cornetes nasales delimitan tres espacios conocidos como meatos superior, medio e inferior, donde drenan los diferentes senos paranasales y conducto lacrimomucosonasal. Los senos maxilares lo harán a nivel de meato medio, al igual que los senos frontales y las celdillas etmoidales anteriores. El meato superior contendrá el orificio de drenaje de las celdillas etmoidales posteriores y del seno esfenoidal, y en el meato inferior contendrá el drenaje del conducto lacrimonasal.

El suelo de las fosas nasales está constituido por la lámina horizontal del hueso palatino y la apófisis horizontal del hueso maxilar; su techo por la espina frontal, la cara anterior del esfenoides, los huesos nasales y la lámina cribosa del hueso etmoides. Esta lámina presenta microperforaciones destinadas al paso de los filetes nerviosos del primer par craneal, que entran así en la nariz para reconocer sustancias odoríferas.

Finalmente la pirámide nasal es una estructura osteocartilaginosa formada fundamentalmente por los cartílagos alares, cartílagos triangulares, huesos propios nasales y ramas ascendentes de hueso maxilar, revestidos por piel en su parte dorsal.

Las fosas nasales se encuentran irrigadas por ambos sistemas carotídeos. El sistema carotídeo externo participa a través de la arteria esfenopalatina, rama terminal de la arteria maxilar interna. La arteria esfenopalatina nutre a través de sus ramificaciones la parte externa de la fosa, incluyendo la cola de los cornetes inferior y medio, así como el suelo de la fosa y el tabique, en cuya parte más externa formará un sistema anastomótico con ramas de la arteria etmoidal anterior, llamado plexo de Kisselbach o área K.

El sistema carotídeo interno queda representado por la arteria oftálmica que nutre la zona anterior de los cornetes nasales, seno frontal y parte anterior del tabique a través de su rama terminal, la arteria etmoidal anterior. La etmoidal posterior, igualmente rama de la oftálmica, nutre el área olfatoria.

La red venosa acompaña a la arterial, describiendo dos sistemas colectores, uno superficial y otro profundo que drenan finalmente en la vena facial, plexos maxilares y vena oftálmica.

La inervación sensitiva de la fosa nasal corre a cargo de las ramas oftálmica y maxilar del nervio trigémino o quinto par craneal, mientras que la inervación sensorial esta mediada por el primer par craneal o nervio olfatorio.

La inervación neurovegetativa juega un papel crucial en la fisiología de las fosas nasales, mediante la vasoconstricción e inhibición de la secreción glandular a través de sistema simpático que llega a la fosa por el plexo perivascular de la arteria esfenopalatina.

La vasodilatación y aumento de la secreción glandular corre a cargo del sistema parasimpático, que llega a las fosas nasales por el nervio vidiano y los nervios esfenopalatinos, fundamentalmente (60).

1.5 Prueba De Provocación Nasal Alérgeno-Específica.

La prueba de provocación nasal es una técnica realizada in vivo que consiste en la aplicación de un alérgeno sospechoso en la mucosa nasal. Los primeros datos descritos y publicados sobre este procedimiento se deben a Blackley (25) quien colocó granos de polen directamente en las fosas nasales, tratando de provocar síntomas que se correlacionasen con la clínica referida por sus pacientes. En las décadas posteriores se sumaron otras técnicas para cuantificar el grado de estas reacciones ya fuese de forma subjetiva (escala de síntomas Bousquet, Lebel, Linder) (61-62) u objetiva como la Rinomanometría Anterior Activa, Rinomanometría Anterior Pasiva, Rinometría Acústica o pico de flujo inspiratorio nasal (PNIF).

Actualmente esta técnica se utiliza para el estudio de la patología nasal en un ámbito controlado. Constituye una herramienta muy adecuada para la confirmación diagnóstica de la rinitis alérgica en pacientes polisensibilizados cuando los resultados de las otras pruebas (Prick-Test, IgE específica, etc.) no son concluyentes. En este sentido, la prueba de provocación nasal nos orienta acerca de la implicación y significación de cada alérgeno así como sobre el grado de sensibilidad del individuo a éstos, mediante la aplicación de diversas diluciones del extracto.

Los principales inconvenientes de este procedimiento a día de hoy son: amplia metodología, variabilidad al realizar la prueba, falta de estandarización de los extractos

utilizados, efectos adversos, tiempo y el consumo de recursos que conlleva su realización (63).

1.5.1 Fundamento y bases físicas de la Rinometría Acústica.

La Rinometría Acústica descrita por Hilberg *et al* en 1989 y Hilberg en 2002 (64-65), es una técnica mediante la cual se valora la geometría de las fosas nasales basándose en la reflexión de una onda acústica (66). Su principio físico se fundamenta en la propagación de una onda sonora en la cavidad nasal. Dicha onda acústica es parcialmente absorbida y reflejada por la mucosa, valorando las diferentes aéreas y volúmenes de la cavidad nasal.

El procedimiento clínico se basa en el hecho de que las ondas acústicas son en parte reflejadas y en parte refractadas cuando hay un cambio de impedancia del medio en el que se desplazan. La bujía del rinómetro genera un pulso acústico (frecuencias de 0.5 Hz) en el extremo externo del tubo, mientras en el área de sección del mismo se mantiene constante (10Hz). Las 2 ondas y la velocidad del sonido se utilizan para calcular la distancia desde la fosa nasal a la de un área transversal que se desee evaluar (64-66).

Cuando cambia el área de sección y con ello la impedancia, parte de la onda sonora es reflejada y parte refractada. Es decir, si no hay cambio de impedancia no hay ondas reflejadas. En caso de hacer cambio en la impedancia, la onda es captada por el ordenador y analizada en función del tiempo transcurrido entre la onda emitida y la reflejada, generando una señal gráfica de las estructuras de la cavidad nasal (65-66).

1.5.2 Registro e Interpretación de la rinometría acústica.

Al tener la imagen resultado, se pueden evaluar las siguientes estructuras y parámetros:

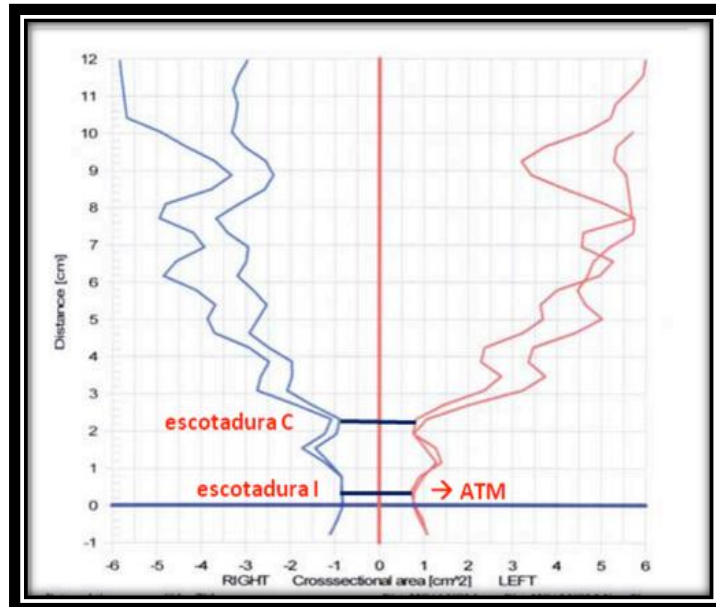


Imagen 6: Registro de una Rinometría Acústica basal en un adulto.

La imagen 6 nos muestra una curva cuya forma compara área/distancia. Áreas que aumentan de forma progresiva en dirección anteroposterior.

En el segmento anterior se distinguen 3 escotaduras:

- AT1, C1 o escotadura I (istmo) corresponde al ostium Interno (orificio interno del vestíbulo) y se encuentra a aproximadamente 1-3 cm de la nariz.
- AT2, C2 o escotadura C (muesca conchal), corresponde a la cabeza del cornete inferior y se encuentra a 2-4 cm de la fosa nasal.
- AT3, C3 o la tercera muesca, corresponde a la cabeza de la cornete medio y se encuentra a unos 4-6 cm de la fosa nasal.

Las medidas superiores a 6 cm se ven afectadas por las aberturas de los senos paranasales, principalmente el seno maxilar.

Los 2 parámetros principales evaluados son el área transversal mínima (ATM) y el volumen de los primeros 5-6 cm de la cavidad nasal. El área transversal mínima (ATM)

corresponde a la zona más estrecha de la cavidad, y en individuos sanos suele coincidir con la AT1 (42%) y con la AT2 (58%) (67-69).

Los volúmenes se obtienen por la integración del área en función a la distancia, estos pueden ser seleccionados en función a la necesidad del investigador (0-1), (0-2,2), (0-4), (1-4), (2,2 – 5,4) etc.:

- VOL1 (cm³): Volumen expresado entre el punto 0 y el punto donde se encuentra la segunda escotadura (2cm) (Parte inicial de la cabeza del cornete inferior).
- VOL2 (cm³): Volumen de los primeros 5 cm de la fosa. Representa el volumen del segmento anterior de la fosa.
- VOL3 (cm³): Volumen de los primeros 7 cm de la fosa nasal. Representa el volumen total de la fosa.

En adultos suele preferirse el intervalo entre 2,2 y 5,4 cm (VOL 2) dado que en esta zona se encuentra el cornete inferior y medio, los más representativos a la hora de realizar la provocación nasal, mientras que en niños se escoge el de 1 a 4 cm (70-71), ya que en este tramo se produce la inflamación de la mucosa y de los cornetes, dando como resultado la obstrucción nasal.

1.5.3 Concepto e Indicaciones de la Prueba de Provocación Nasal.

La Prueba de Provocación Nasal consiste en inducir la aparición de una respuesta alérgica en la mucosa nasal por exposición controlada a diversos antígenos que se quieran estudiar. La reacción se caracteriza por la presencia de prurito, estornudos, rinorrea y edema de la mucosa nasal. Durante el procedimiento se miden tanto las variables subjetivas (escala de síntomas) como las objetivas (edema de la mucosa nasal) (72).

Entre las principales indicaciones para la realización de esta prueba se encuentran:

- Evaluación de la eficacia y seguridad de los fármacos utilizados en el tratamiento de la rinitis.
- Evaluación de la eficacia tras la administración de inmunoterapia específica.

- Estudio etiológico de enfermedades alérgicas respiratorias.
- Estudio de alergias respiratorias de origen ocupacional (73-74).
- Confirmación diagnóstica de la rinitis alérgica.
- Evaluación de alérgenos individuales en pacientes polisensibilizados.
- Falta de correlación entre otras pruebas (Prueba cutánea y/o serológicas) (75).
- Evaluación de la sensibilidad del paciente al alérgeno (estudio de la respuesta nasal a la dosis de alérgeno).
- Investigación de los mecanismos fisiopatológicos de la inflamación de la mucosa nasal (p. ej., células involucradas, mediadores, etc.).

1.5.4 Protocolo de provocación nasal.

En los últimos años se intentó estandarizar el protocolo de provocación nasal. En la actualidad el *International Standardization Committee on Objective Assessment of Nasal Airway* y el Comité de Rinoconjuntivitis de la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica (63) establecen las recomendaciones que exponemos a continuación:

A) Condiciones relacionadas con el paciente:

- Se deberá firmar un consentimiento informado por escrito.
- El paciente debe estar asintomático (evitar temporada de polen, infecciones respiratorias etc.). Posponer por lo menos 2-4 semanas después de la exacerbación de la rinitis alérgica (75-77).
- Evitar mediación que influya en la respuesta nasal (descongestionantes, corticoides nasales, antihistamínicos etc.) (Tabla 4).
- El paciente no deberá fumar ni ingerir alcohol en las 24-48 horas previas a la prueba.
- En caso de cirugía nasal: posponer la prueba de 6-8 semanas (76).
- No se realizará esta prueba en caso de embarazo.
- No se realizará esta prueba en caso de asma no controlado, EPOC grave o paciente con cardiopatía grave en los cuales el uso de epinefrina conlleve un riesgo.

- Se evitará esta prueba en pacientes con alteración de la anatomía nasal (perforación de septo, desviaciones septales graves u obstrucciones nasales graves).

Tabla 4. Medicación a discontinuar previa realización de provocación nasal

SE DEBERÁ DESCONTINUAR LA MEDICACIÓN:
Antihistamínicos orales: de 48 horas a 1-2 semanas.
Antihistamínicos nasales: 4-5 días.
Corticoides nasales: 48-72 horas.
Corticoides orales: 2-3 semanas
Cromoglicato de sodio: 1-3 semanas
Descongestionantes nasales: 2-3 semanas
Antidepresivos tricíclicos: 2-3 semanas
Antiinflamatorios AINES: 1 semana
Antihipertensivos (reserpina/clonidina): 3 semanas

B) Condiciones relacionadas con el ambiente:

- La temperatura y humedad debe intentar encontrarse entre 20°C-22°C con 40% -60% respectivamente.
- El paciente debe aclimatarse esperando en la habitación durante 20-30 minutos previa a la provocación.
- Intentar evitar otras variables que puedan influir en el estudio (humo de tabaco, contaminación, comidas picantes, café, piercings, etc...).

C) El personal:

- El personal debe tener un conocimiento adecuado de la prueba y de la técnica
- El personal debe tener conocimiento y acceso a las medidas terapéuticas necesarias en caso de reacción local o sistémica.

D) Características de los alérgenos aplicados:

Es necesaria la estandarización de los extractos utilizados en las pruebas de provocación nasal para asegurar la precisión, seguridad y reproducibilidad del procedimiento.

En la actualidad se recomienda utilizar un alérgeno liofilizado evitando de esta forma los extractos glicerinados (comunes en pruebas cutáneas) que podrían causar hiperreactividad nasal.

La concentración de alérgeno inicial aplicada dependerá de la sensibilidad del paciente, el alérgeno involucrado y la potencia del extracto.

Se recomienda iniciar con la concentración necesaria para producir una pápula de 3 mm en la piel y diluciones posteriores de 1/100 de la concentración que provoca un resultado positivo (75). Se recomienda utilizar las diluciones 1 a 60 días tras su preparación (63), evitando de esta forma la caducidad de estos preparados.

En caso de que se necesite estudiar varios alérgenos, las pruebas deben hacerse con una semana de intervalo entre ellas. De este modo evitaremos el efecto "sensibilización, Cebado o priming".

El término "sensibilización/cebado" (Priming) fue introducido por J. Connell en 1968. Se define como fenómeno caracterizado por el aumento de la sensibilidad de la mucosa nasal con la exposición de un alérgeno, necesitando cada vez menos concentración del alérgeno para obtener una prueba positiva. Desaparece si se deja transcurrir un intervalo de una semana entre dos pruebas.

E) Técnicas de aplicación del alérgeno.

Existen en la actualidad bastantes formas de administración del extracto alérgico en la cavidad nasal.

A la hora de elegir el método de administración de debe prestar atención a la complejidad de la técnica, la homogeneidad de la dosis de administración, la posible aspiración laringotraqueal, la variabilidad de administración etc. (63).

A continuación en la tabla 5, resumimos las técnicas más utilizadas en la actualidad.

Tabla.5 Técnicas de aplicación nasal del extracto alérgico

MÉTODO		VENTAJAS	DESVENTAJAS.
JERINGA	0.1ml	Método fácil	Distribución no homogénea. Posible goteo posterior.
GOTERO NASAL	Gotas/dosis	Método fácil	Distribución no homogénea. Posible goteo posterior.
MICROPIPETA	0.1 ml (cornete inferior)	Mejor control de dosis	Técnica difícil
SPRAY NASAL	0.1ml/puff (cornete inferior y medio)	Mejor homogeneidad	Variabilidad del aparato
ALGODÓN IMPREGNADO	Aplicación en cornete inferior y medio	Menor alérgeno utilizado	Técnica difícil
DISCO IMPREGNADO	4mm:10uL (cornete inferior)	Menor alérgeno utilizado	Técnica difícil

F) Criterios de positividad de la prueba de provocación nasal.

La positividad de la prueba se establece utilizando criterios subjetivos y objetivos a los 20-30 minutos de haber aplicado el alérgeno en estudio.

Los parámetros subjetivos se miden utilizando una escala de síntomas. En la actualidad encontramos varias, utilizadas para objetivar la positividad del resultado. Los síntomas incluidos en la valoración son: estornudos, prurito nasal, rinorrea, prurito ocular y obstrucción nasal. A continuación presentamos las escalas más utilizadas en la actualidad (ver Tabla 6-8).

Tabla 6. Escala de Lebel (61): (Positiva >_5 puntos).

SÍNTOMAS	SEVERIDAD	PUNTOS
ESTORNUDOS	0-2	0
	3-4	1
	>_5	3
PRURITO NASAL	Nariz	1
	Oídos o paladar	1
RINORREA	Anterior	1
	Posterior	1
OBSTRUCCIÓN NASAL	Dificultad inspiratoria	1
	1 cavidad nasal	2
	2 cavidades nasales	3
SÍNTOMAS OCULARES		1

Tabla 7. Escala de Linder (62): (Positiva >_5 puntos).

SÍNTOMAS	SEVERIDAD	PUNTOS
ESTORNUDOS	0-2	0
	3-4	1
	>_5	3
PRURITO NASAL	Nariz o Oídos o paladar	1 punto por cada uno
	RINORREA	Leve
	Moderado	2
	Grave	3
OBSTRUCCIÓN NASAL	Leve	1
	Moderado	2
	Grave	3
SÍNTOMAS OCULARES		1

Tabla 8. Escala de Bousquet (modificada): (Positiva >_6 puntos).

SÍNTOMAS	PUNTUACIÓN POR SÍNTOMAS				PUNTOS
NÚMERO DE ESTORNUDOS	< 3 = 0	3-6 = 1	7-10 = 2	>10 = 3	0-3
RINORREA	Nada = 0	Poco =1	Bastante=2	Mucho=3	0-3
PRURITO NASAL	Nada = 0	Poco =1	Bastante=2	Mucho=3	0-3
OBSTRUCCIÓN NASAL	Nada = 0	Poco =1	Bastante=2	Mucho=3	0-3
PRURITO CONJUNTIVAL	No = 0	Si=1			0-1
PRURITO ÓTICO O PALATINO	No = 0	Si=1			0-1
TOTAL					14

Los parámetros objetivos se pueden medir mediante una amplia gama de procedimientos: rinomanometría anterior activa, rinomanometría anterior pasiva, rinometría acústica o pico de flujo inspiratorio nasal o PNIF.

- **PNIF o Pico de Flujo Inspiratorio Nasal:** Es una prueba sencilla y útil a la hora de evaluar la obstrucción nasal. El paciente debe realizar una inspiración forzada basal y en mediciones posteriores tras la aplicación del alérgeno a estudio, sujeto a una mascarilla y un medidor. La prueba se considera positiva al objetivar un descenso del 40% (78).
- **Rinometría Acústica:** Al valorar los resultados de la rinometría acústica nos guiaremos en los primeros 5-6 cm de la cavidad como citamos previamente. Consideramos una prueba positiva cuando el volumen de ATM y la cavidad nasal en los 2 cm a 6 cm de la fosa nasal varían en un 25% -30% (78).
- **La rinomanometría:** es una prueba que permite estudiar el flujo de aire a diferentes presiones que pasa a través de las fosas nasales durante la inspiración y la espiración, así como detectar posibles obstrucciones y/o resistencias a su paso. El estudio requiere del uso de un rinomanómetro (aparato que mide los flujos y las resistencias del aire) conectado a un

ordenador que recoge y analiza los resultados obtenidos. Esta prueba se considera positiva con un incremento del 100% en la resistencia del flujo de aire.

1.6 Pruebas cutáneas o intraepidérmicas.

Las pruebas cutáneas son la herramienta más utilizada hoy en día en la consulta de Alergología. Constituyen un método fácil y sensible que nos proporciona mucha información sobre la posible sensibilización de un paciente a diferentes alérgenos. Por otra parte, es importante recalcar que una sensibilización positiva no es sinónimo de relevancia clínica, ya que hasta un 10 % de la población podría tener sensibilización a diferentes alérgenos sin presentar síntoma alguno. Por todo esto es necesaria la obtención de una buena historia clínica o el empleo de otras pruebas (IgE específica, pruebas de provocación) para una buena y correcta correlación.

Las pruebas cutáneas fueron utilizadas por Blackley por primera vez en 1865, posteriormente Pepys introdujo las agujas hipodérmicas para su realización por lo que hoy en día se llama “prick” a la prueba.

Esta prueba nos permite determinar la existencia de una reacción de hipersensibilidad tipo I, en la que una reexposición a un alérgeno despierta una respuesta IgE y posterior activación mastocitaria.

La técnica consiste en la aplicación de un extracto antigénico sobre la piel, normalmente en el antebrazo 5 cm por debajo de la flexura del codo y 2 cm por encima de la línea de la muñeca, dejando un espacio de 2-5 cm entre las diferentes sustancias que se estudian. Posteriormente se realiza una punción con una lanceta en la epidermis con el fin de provocar una pápula; se debe evitar el sangrado que puede dar lugar a resultados falsos positivos. Se realiza la lectura a los 15-20 minutos, resaltando y pegando la imagen obtenida con esparadrapo para su posterior comparación y estudio. Se define una prueba como positiva cuando objetivamos una pápula con un diámetro igual o mayor de 3 mm respecto al control negativo.

Es una prueba fiable, fácil, reproducible, en la que se pueden estudiar varios alérgenos a la vez en relación con el área geográfica (pólenes, ácaros, epitelios, hongos etc.). El

valor predictivo de las pruebas intraepidérmicas relacionadas con la historia clínica alcanza una sensibilidad del 97-99% (79).

1.7 Técnicas in vitro: IgE específica.

La técnica de determinación de IgE específica fue desarrollada por Wide en 1967. Desde entonces, se inició el estudio del impacto de la IgE para el diagnóstico de reacciones de hipersensibilidad. En la actualidad existen una amplia gama de métodos para su detección, tales como ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), FAST (fluorescent-allergosorbent test), MAST (múltiple chemiluminescent-allergosorbent test), RAST (radioallergosorbent test). El alérgeno ligado a un soporte se enfrenta al suero del paciente captando la IgE específica del mismo para su posterior lectura y cuantificación según el método utilizado (80).

La sensibilidad y especificidad de este estudio varía dependiendo del alérgeno estudiado. Paganelli y cols. demostraron la consistencia de esta prueba con una sensibilidad y especificidad mayor del 95% (81).

Para el estudio de los alérgenos se pueden utilizar extractos completos (contienen varias familias de proteínas) o componentes (proteína específica normalmente recombinante), en los que se puede diferenciar la sensibilización genuina de los pacientes a un antígeno dado. De esta forma se mejora el diagnóstico clínico evitando la confusión generada por la sensibilización cruzada, que podría deberse a panalérgenos procedentes de varias fuentes antigénicas (82).

2. Preguntas de investigación.

- ¿Podemos identificar y clasificar a los pacientes en función de los resultados diagnósticos con el fin de establecer algoritmos que permitan una mejor selección de los pacientes candidatos a inmunoterapia?
- ¿Permite el diagnóstico por componentes y provocación nasal establecer la relevancia clínica de distintos alérgenos en pacientes sensibilizados/as a Olivo, Gramíneas y Salsola?

3. Objetivos.

3.1 Objetivo Principal.

- Establecer algoritmos que nos permitan determinar el papel de cada una de las 3 pruebas diagnósticas utilizadas en los pacientes alérgicos a Olivo, Gramíneas y Salsola (prueba cutánea, IgE a los alérgenos mayoritarios y provocación nasal) en función de los perfiles de sensibilización registrados así como establecer el impacto de dichas pruebas en la posible indicación y en su caso, composición de la inmunoterapia con alérgenos.

3.2 Objetivos Secundarios.

- Concordancia entre las diferentes pruebas diagnósticas.
- Papel de los panalérgenos (profilina principalmente y polcalcina) como factor de confusión diagnóstica en pacientes polisensibilizados.
- Relación entre los parámetros clínicos y demográficos de los pacientes con cada prueba.

4. Metodología.

4.1 Población de estudio.

El estudio se realizó en la Región de Murcia, en el Hospital Universitario Reina Sofía perteneciente al Área Sanitaria VII (Murcia Este), que tiene una cobertura asistencial de 198.400 habitantes.

Se reclutó a pacientes de 14 a 55 años de edad con enfermedad alérgica respiratoria estacional mediada por IgE, que cumplieran los requisitos para indicación de inmunoterapia con los pólenes indicados en puntos anteriores, según los criterios de la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica. El proceso se llevó a cabo en condiciones de práctica clínica habitual, durante el periodo comprendido entre diciembre de 2015 y diciembre del 2016 en el servicio de Alergología.

4.2 Justificación y tamaño muestral.

En nuestra zona sanitaria es prioritario un enfoque diagnóstico correcto y adecuado por dos motivos: 1) Aumento de la prevalencia e incidencia de personas afectas de

rinitis y asma alérgicas y 2) Alta proporción de polisensibilización presente en los pacientes de la Región de Murcia.

Por tanto, el objetivo de este estudio es conseguir determinar patrones o perfiles de polisensibilidad con el propósito de emplear un tratamiento optimizado y personalizado para el control de los síntomas.

Los datos se obtuvieron en condiciones clínicas normales, sin que mediase ninguna influencia de tipo subjetivo por el hecho de formar parte de un estudio, tanto para el paciente como para el médico.

El trabajo de investigación se ha planteado como un estudio piloto transversal. De este modo, considerando un error α del 5% y un nivel de confianza del 95%, el número de pacientes requeridos es de 48. Al ser un estudio transversal no se contempla la posibilidad de abandonos.

El método de muestreo fue aleatorio, mediante casos consecutivos que acudieron a la consulta de alergología, cumpliendo con los criterios de inclusión.

4.3 Criterios de inclusión y exclusión.

4.3.1 Criterios de inclusión.

- Edad: 14-55 años.
- Enfermedad alérgica respiratoria estacional (rinitis y/o asma) compatible con polinosis por los siguientes tres alérgenos: Gramíneas, *Salsola*, *Olea*.
- Prueba cutánea positiva (\varnothing medio > 3 mm) a tres alérgenos: Gramíneas, *Salsola*, *Olea*.

4.3.2 Criterios de exclusión.

- Pacientes que estén formando parte de cualquier proyecto de investigación o estudio clínico.
- Pacientes en los que esté contraindicado el uso de inmunoterapia.

- Que presente alguna contraindicación para la realización de pruebas diagnósticas (prueba cutánea, muestra sanguínea para IgE, provocación nasal, etc.).

4.4 Diseño.

Estudio de cohorte observacional en pacientes que presenten una clínica compatible con rinitis y asma alérgico, sensibilizados a los aeroalérgenos (pólenes: Olivo, Gramíneas y Salsola) que son más representativos del área VII de Murcia, y que se solapan en su periodo de polinización en la misma estación.

1. Salsola (*Salsola kali*)

2. Gramíneas (*Poaceae*)

3. Olivo (*Olea europaea*)

Sucesivamente se realizará confirmación diagnóstica por medio de pruebas cutáneas y determinación de IgE específica recombinante seguidas de una provocación nasal con la intención de observar los perfiles de sensibilización, establecer el impacto de dichas pruebas, analizar la concordancia entre las diferentes exploraciones y observar el papel y patrón de los panalérgenos. Todo ello se desarrollará como protocolo habitual. Las pruebas de provocación se llevarán a cabo fuera de la época de polinización de las especies vegetales mencionadas para evitar factores de confusión.

Posteriormente se compararán los datos con los niveles de polen recogidos por nuestro captador (método volumétrico), publicados en la página de SEAIC (Comité Aerobiología SEAIC). En esta fase es donde se relacionarán los niveles de polen con el inicio de los síntomas y las otras pruebas diagnósticas.

4.5 Variables

Se obtendrán los datos referentes a edad, sexo, sensibilizaciones, cuadro clínico (escala visual/encuesta de calidad de vida EPRINT-ACT), pruebas cutáneas, IgE específica/recombinante, aerobiología de la zona, provocación nasal.

Datos demográficos y clínicos de los pacientes

- Edad
- Sexo
- Profesión
- Tiempo de evolución de la enfermedad
- Diagnóstico clínico (Rinitis / Asma) según las guías GEMA (Guía Española para el Manejo del Asma) y ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma). (83-84).
- Encuesta de calidad de vida de la enfermedad alérgica respiratoria (ESRINT: Cuestionario para la Medición de la Calidad de Vida Relacionada con la Salud en Pacientes con Rinitis) y (ACT: Test de control de asma) (85-87).

Pruebas cutáneas (Batería Estándar): En este punto se incluye:

- Pólenes: Gramíneas (mezcla o bien 1 alérgeno como *Phleum pratense*), *Olea europaea*, *Salsola kali*.
- Panalérgenos: profilina, polcalcina, LTP.
- Controles: histamina 10 mg/mL, control salino

Determinación IgE específica frente a los alérgenos principales

Determinación de IgE frente a los alérgenos más relevantes en las zonas seleccionadas: Pólenes de Olivo (*Ole e 1*), Gramíneas (*Phl p 1*, *Phl p 5*, *Phl p 7* –polcalcina, *Phl p11*, *Phl p12* –profilina-), Salsola (*Sal k 1*).

Cuantificación de polen:

Se correlacionarán los niveles de pólenes obtenidos mediante nuestro captador (método volumétrico), ubicado en el Hospital Universitario Reina Sofía de Murcia, con las diferentes pruebas diagnósticas.

Prueba de provocación nasal:

Realizada según protocolo y resultados medidos por:

- Datos Subjetivos: Escala de síntomas Bousquet, Linder y Lebel.
- Datos Objetivos: Rinometría acústica y PNIF.

4.6 Método.

Pacientes que acuden por primera vez o para revisión a la consulta de alergia y a los que se realizan las pruebas que entran dentro de la rutina habitual.

- **Historia clínica:** Se realizó una historia detallada de la patología respiratoria del paciente en la que se recogieron datos demográficos, antecedentes personales patológicos y no patológicos, sintomatología, estacionalidad (que deben rellenar en un calendario anual). Posteriormente complementarían las encuestas de calidad de vida y control de la enfermedad alérgica respiratoria (ESRINT-ACT).

- **Prueba Intraepidérmicas o Prick test:** Se realizaron pruebas cutáneas con la batería de neumoalérgenos estándar. Se utilizaron extractos alérgicos estandarizados para pruebas intraepidérmicas suministrados por BIAL-ARÍSTEGUI, almacenados adecuadamente (2°C - 8°C) y siguiendo las normas de caducidad. Como control positivo se aplicó clorhidrato de histamina (10 mg/ml), y como control negativo solución salina al 0,9%.

- **Batería de Neumoalérgenos Utilizados:**

Tabla 9. Extractos alérgicos utilizados.

PÓLENES:	PANALÉRGENOS:
Olivo	LTP
Gramíneas mezcla	Polcalcina
<i>Phleum</i>	Profilina
<i>Salsola</i>	

- **IgE Específica frente a los alérgenos principales:** Se toma una muestra de sangre del paciente que será procesada y analizada mediante el método ELISA. Se solicitaron las siguientes determinaciones (Tabla 10).

Tabla 10. IgE Específica. Determinantes específicos pólenes y panalérgenos solicitados.

PÓLENES:	DETERMINANTES ESPECIFICOS IGE (KU/L):
OLIVO	<i>Ole e 1</i>
GRAMÍNEAS	<i>Phl p 1</i> <i>Phl p 5</i> <i>Phl p 7: Polcalcina</i> <i>Phl p 11</i> <i>Phl p 12: Profilina</i>
SALSOLA	<i>Sal k 1</i> Salsola spp.

● **Cuantificación de polen y calendario de síntomas:** El paciente rellenó un calendario de síntomas, en el cual se detallaba la aparición de sintomatología respiratoria (nasal, ocular y/o bronquial) y la fecha. Posteriormente se compararon y correlacionaron estos datos con los picos de polinización encontrados en nuestro captador (*ver: 1.3 polinización Murcia*), durante el año 2016.

● **Test de provocación nasal:**

- Se realizó test de provocación nasal una vez terminada la época de polinización.
- Para ello, se utilizó el Sistema de Rinometría Acústica A1 de (*GM Instrumets*) y los extractos proporcionados por BIAL-ARÍSTEGUI para provocación nasal (Olivo, Gramíneas, Salsola).
- Se dejó un intervalo mínimo de 1 semana para llevar a cabo las pruebas con cada uno de los antígenos.
- La prueba se ejecutó siguiendo las recomendaciones del *International Standarization Committee on Objective Assessment of nasal Airway* y el Comité de Rinoconjuntivitis de la Sociedad de Alergia e Inmunología Clínica (63), citados previamente. El procedimiento que seguimos aparece a continuación:
 - Se aplica suero salino fisiológico, se recogen los síntomas y se realiza 10 minutos después una nueva medición en la cual no deberá haber una disminución de más de 15% (hiperreactividad inespecífica) para poder continuar la prueba.

- Se aplica el alérgeno en cada fosa nasal mediante el método de Spray Nasal (tabla 5) a una concentración de 1/100 del extracto inicial, recogiendo a los 15 minutos los síntomas producidos (Escala de Bousquet, Linder, Lebel) y realizando una nueva medición VOL2. La prueba se interrumpe si existe positividad en la escala de síntomas, caso contrario se continuará y se aplicarán las concentraciones 1/10 y 1/100 respectivamente siguiendo los mismos pasos.

4.7 Aspectos éticos y legales.

El estudio fue aprobado por la Comisión de Investigación del Hospital General Universitario Reina Sofía de Murcia.

Se siguieron los principios éticos de la investigación en seres humanos que se recogen en la declaración de Helsinki (88) y en el informe Belmont (89) y que se concretan en los principios básicos de respeto por las personas, beneficencia y justicia.

Se asignó un código a cada participante para mantener la confidencialidad y secreto de los datos de carácter personal, siguiendo la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal y todo lo reflejado en el último Real Decreto 223/2004, BOE nº 33 (90-91).

Se realizaron pruebas diagnósticas que se engloban en la práctica clínica habitual, se redactó y entregó una hoja de información donde se detallaba el estudio, así como un documento de consentimiento informado para participación en el trabajo de investigación y para la realización de la prueba de provocación nasal. Estos últimos debían ser firmados por el paciente y por el médico.

4.8 Análisis Estadístico.

Se preseleccionó a un total de 48 pacientes, de los que 6 fueron eliminados por no querer participar en el estudio ni dar su autorización.

- Se han realizado análisis descriptivos de las variables recogidas. Dependiendo del carácter de la variable se han presentado de la forma que se expone:

- Las variables categóricas se han resumido mediante frecuencias y porcentajes.
- Las variables continuas se han resumido mediante las medidas de tendencia central y dispersión: media, desviación estándar, mediana, los percentiles del 25% y el 75% (Q1 y Q3) y valores extremos (mínimo y máximo).

- El objetivo consiste en evaluar la capacidad predictiva de las pruebas cutáneas y las IgE específicas positivas con respecto a los resultados obtenidos de la provocación nasal (Gramíneas, Olivo y Salsola).

- Cada una de las pruebas de provocación nasal se ha comparado con cada una de las pruebas cutáneas y las IgE específicas. De este modo, se presenta la tabla 2x2 con los recuentos cruzados de las pruebas (Positivo/Negativo). Además, aparecen los estadísticos para evaluar la capacidad predictiva: Sensibilidad, Especificidad, Valores predictivos positivo y negativo y el índice de Youden. Por último se presenta el índice Kappa para evaluar la concordancia entre las pruebas de provocación nasal, las pruebas cutáneas y las IgE específicas.

- Índice de Youden (IY) = Sensibilidad + Especificidad -1
- Prueba cutánea positiva: > 3 mm.
- IgE positiva: >= 0.35 KU/L

- Además del análisis anterior, para cada una de las pruebas de provocación nasal se ha calculado una curva ROC referida a la escala de síntomas de BOUSQUET, utilizando como "gold standard" cada uno de los resultados de las determinaciones de IgE específica (se considera positiva IgE superior o igual a 0.35 kU/L). Una vez calculada la curva ROC, se ha estimado el punto de corte óptimo que maximiza la sensibilidad y la especificidad, utilizando este punto de corte para definir los positivos y negativos. Los resultados de este análisis se presentan en una tabla de mismo modo que los del anterior.

5. Resultados.

5.1 Datos Demográficos.

A continuación presentamos las características demográficas de la población incluida en el estudio (Total: 42 pacientes). En la tabla 11 se describen edad, sexo, vivienda y profesión.

La descripción del paciente promedio es una persona joven de 35 años de edad, de sexo femenino con vivienda urbana.

Observamos una distribución casi similar entre sexo y vivienda, con una inclinación mayor a mayoría de mujeres en consulta y con vivienda urbana. Con respecto a la profesión, tenemos una amplia gama de profesiones, siendo los estudiantes, amas de casa y los encargados de limpieza los más frecuentes, pero no observamos ningún dato estadísticamente significativo.

DATOS DEMOGRÁFICOS		Total (n=42)
EDAD (AÑOS)	n	42
	Media (Desv. estándar)	34.9 (11.3)
	Mediana (Q1, Q3)	33.5 (26.0, 41.0)
	Min, Max	16, 62
	Missing	0
SEXO		
Total no-missing	n	42
Hombre	n (%)	18 (42.9%)
Mujer	n (%)	24 (57.1%)
Missing	n	0
VIVIENDA		
Total no-missing	n	42
Campo	n (%)	4 (9.5%)

Huerta	n (%)	18 (42.9%)
Urbana	n (%)	20 (47.6%)
Missing	n	0
PROFESIÓN		
Total no-missing	n	42
Agricultor	n (%)	1 (2.4%)
Ama de casa	n (%)	5 (11.9%)
Construcción	n (%)	1 (2.4%)
Cosedora	n (%)	1 (2.4%)
Cuidadora	n (%)	1 (2.4%)
Estudiante	n (%)	9 (21.4%)
Ingeniero	n (%)	2 (4.8%)
Limpieza	n (%)	5 (11.9%)
Matrona	n (%)	1 (2.4%)
Mesero	n (%)	1 (2.4%)
Músico	n (%)	1 (2.4%)
Oficinista	n (%)	1 (2.4%)
Paro	n (%)	2 (4.8%)
Profesora	n (%)	1 (2.4%)
Psicóloga	n (%)	1 (2.4%)
Recolector	n (%)	3 (7.1%)
Secretario	n (%)	2 (4.8%)
Técnico Audiovisual	n (%)	1 (2.4%)
Técnico Sanitario	n (%)	1 (2.4%)
Vendedor	n (%)	2 (4.8%)
Missing	n	0

Tabla 11. Datos demográficos (Edad, Vivienda y Profesión).

5.2 Datos Clínicos.

Detallamos el tiempo de evolución desde el inicio de los síntomas hasta el estudio en la consulta de alergología. Clasificamos la rinitis y el asma según las guías GEMA (Guía Española para el Manejo del Asma) y ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma) (83-84).

Casi un 50% de los pacientes acudió en los primeros 2-5 años tras el inicio de los síntomas, así como un 19% después de 10 años. El diagnóstico tardío, más los factores intrínsecos del paciente y los extrínsecos del ambiente en el que se encuentra, podrían predisponer a una evolución de su patología alérgica hacia asma y polisensibilización (Tabla 12).

El asma se asociaba a rinoconjuntivitis en un 40.5% de los pacientes estudiados, siendo la rinitis de mayor gravedad en lo referente a su intensidad; un 69% de los pacientes presentaba síntomas de rinitis moderados/graves en comparación con un 82.4% de los pacientes con asma en los que esta alteración se manifestaba de forma intermitente.

Dichos datos se correlacionaron con la Encuesta de calidad de vida de la enfermedad alérgica respiratoria (ESRINT: Cuestionario para la Medición de la Calidad de Vida Relacionada con la Salud en Pacientes con Rinitis) y (ACT: Test de control de asma) (85-87) (Tabla 13, Imágenes 7 y 8).

TABLA 12. TIEMPO DE EVOLUCIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LA RINITIS Y ASMA.		Total (n=42)
TIEMPO DE EVOLUCIÓN		
Total no-missing	n	42
De 2 a 5 años*	n (%)	20 (47.6%)
De 6 a 10 años	n (%)	11 (26.2%)
Más de 10 años	n (%)	8 (19.0%)
Desde la infancia	n (%)	3 (7.1%)
Missing	n	0
ARIA		
Intermitente/Persistente		
Total no-missing	n	42
Intermitente	n (%)	16 (38.1%)
Persistente	n (%)	26 (61.9%)
Missing	n	0
Gravedad		
Total no-missing	n	42
Leve	n (%)	13 (31.0%)
Moderada-Grave	n (%)	29 (69.0%)
Missing	n	0
Gravedad e Intermitente/Persistente		
Total no-missing	n	42
Leve intermitente	n (%)	4 (9.5%)
Moderada-Grave intermitente	n (%)	12 (28.6%)
Leve persistente	n (%)	9 (21.4%)

Moderada-Grave persistente	n (%)	17 (40.5%)
Missing	n	0
Asma		
Total no-missing	n	42
Sí	n (%)	17 (40.5%)
No	n (%)	25 (59.5%)
Missing	n	0
GEMA		
Intermitente/Persistente		
Total no-missing	n	17
Intermitente	n (%)	14 (82.4%)
Persistente	n (%)	3 (17.6%)
Missing	n	0
Total no-missing	n	17
Intermitente	n (%)	14 (82.4%)
Persistente Leve	n (%)	0 (0%)
Persistente Moderada	n (%)	3 (17.6%)
Persistente Grave	n (%)	0 (0%)

Tabla 13. Cuestionarios de Calidad.

	n	MEDIA (DESV. ESTÁNDAR)	MEDIANA (Q1, Q3)	MIN, MAX	MISSING
CUESTIONARIO ESPRINT	42	42.8 (17.1)	43.0 (30.0, 55.0)	6, 78	0
CUESTIONARIO ACT	17	18.0 (5.5)	19.0 (15.0, 22.0)	8, 27	0

Imagen 7. ESPRINT: Cuestionario para la Medición de la Calidad de Vida Relacionada con la Salud en Pacientes con Rinitis (15 preguntas):

Durante las <u>últimas 2 semanas</u> , ¿cuánto le ha molestado cada uno de los siguientes síntomas?							
Síntomas	No me ha molestado nada	No me ha molestado casi nada	Me ha molestado poco	Me ha molestado moderadamente	Me ha molestado bastante	Me ha molestado mucho	Me ha molestado muchísimo
1. La sensación de tener la nariz tapada o la sensación de obstrucción	0	1	2	3	4	5	6
2. La mucosidad nasal líquida o como agua	0	1	2	3	4	5	6
3. El picor en la nariz o estornudos repetidos	0	1	2	3	4	5	6
4. El picor de ojos o tener que rascarse los ojos	0	1	2	3	4	5	6
5. La dificultad para respirar, la sensación de asfixia o ahogo	0	1	2	3	4	5	6
Durante las <u>últimas 2 semanas</u> , ¿cuánto le ha molestado cada una de las siguientes situaciones?							
Actividades de la vida diaria	No me ha molestado nada	No me ha molestado casi nada	Me ha molestado poco	Me ha molestado moderadamente	Me ha molestado bastante	Me ha molestado mucho	Me ha molestado muchísimo
6. La incomodidad o dificultad para trabajar, a causa de la rinitis	0	1	2	3	4	5	6
7. Los síntomas de la rinitis cenando o tomando algo fuera de casa	0	1	2	3	4	5	6
8. Interrumpir constantemente lo que estaba haciendo, a causa de la rinitis	0	1	2	3	4	5	6
Sueño	No me ha molestado nada	No me ha molestado casi nada	Me ha molestado poco	Me ha molestado moderadamente	Me ha molestado bastante	Me ha molestado mucho	Me ha molestado muchísimo
9. Los problemas para dormir o las dificultades para conciliar el sueño, a causa de la rinitis	0	1	2	3	4	5	6
10. Levantarse con sequedad en la boca o despertarse por esto, a causa de la rinitis	0	1	2	3	4	5	6
11. Dormir mal, a causa de la rinitis	0	1	2	3	4	5	6
Afectación psicológica	No me ha molestado nada	No me ha molestado casi nada	Me ha molestado poco	Me ha molestado moderadamente	Me ha molestado bastante	Me ha molestado mucho	Me ha molestado muchísimo
12. Tener que estar pendiente de la rinitis	0	1	2	3	4	5	6
13. Estar más irritable o de mal humor, a causa de la rinitis	0	1	2	3	4	5	6
14. Pasar mal o sentirse mal, a causa de la rinitis	0	1	2	3	4	5	6
15. En general, teniendo en cuenta su rinitis y ningún otro trastorno, ¿cómo diría que es su salud?							
<input type="checkbox"/> Excelente	<input type="checkbox"/> Muy Buena	<input type="checkbox"/> Buena	<input type="checkbox"/> Regular	<input type="checkbox"/> Mala			

Como límite superior tenemos 84 puntos (me ha molestado muchísimo), como límite inferior 0 puntos (no me ha molestado nada) y como límite medio 42 puntos (me ha molestado moderadamente).

Nuestros pacientes presentaron una media de 42.8 puntos, con desviación estándar de 17.1 puntos, un valor máximo de 78 puntos y mínimo de 6 puntos. La traducción de estos valores equivaldría a una afectación moderada de la calidad de vida debida a los síntomas de su rinoconjuntivitis.

Imagen 8. ACT: Test de control de asma.

Asthma Control Test™ –ACT (La prueba de Control del Asma) es:

- ▶ Una prueba rápida que produce un resultado numérico para evaluar el control del asma.
- ▶ Reconocida por los Institutos Nacionales de la Salud (National Institutes of Health - NIH) en sus directrices sobre el asma de 2007.¹
- ▶ Convalidada clínicamente por espirometría y evaluaciones de especialistas.²

PACIENTES:


1. Contesten cada pregunta y escriban el número de la respuesta en el cuadro que aparece a la derecha de la pregunta.
2. Sumen sus respuestas y escriban el puntaje total en el cuadro del TOTAL que se muestra abajo.
3. Hablen con su doctor sobre sus resultados.

<p>1. En las últimas 4 semanas, ¿cuánto tiempo le ha impedido su asma hacer todo lo que quería en el trabajo, en la escuela o en la casa?</p> <table style="width: 100%; text-align: center; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Siempre 1</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">La mayoría del tiempo 2</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Algo del tiempo 3</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Un poco del tiempo 4</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Nunca 5</td> </tr> </table>	Siempre 1	La mayoría del tiempo 2	Algo del tiempo 3	Un poco del tiempo 4	Nunca 5	PUNTAJE <input style="width: 40px; height: 25px; border: 1px solid #ccc;" type="text"/>
Siempre 1	La mayoría del tiempo 2	Algo del tiempo 3	Un poco del tiempo 4	Nunca 5		
<p>2. Durante las últimas 4 semanas, ¿con qué frecuencia le ha faltado el aire?</p> <table style="width: 100%; text-align: center; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Más de una vez al día 1</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Una vez al día 2</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">De 3 a 6 veces por semana 3</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Una o dos veces por semana 4</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Nunca 5</td> </tr> </table>	Más de una vez al día 1	Una vez al día 2	De 3 a 6 veces por semana 3	Una o dos veces por semana 4	Nunca 5	<input style="width: 40px; height: 25px; border: 1px solid #ccc;" type="text"/>
Más de una vez al día 1	Una vez al día 2	De 3 a 6 veces por semana 3	Una o dos veces por semana 4	Nunca 5		
<p>3. Durante las últimas 4 semanas, ¿con qué frecuencia sus síntomas del asma (respiración sibilante o un silbido en el pecho, tos, falta de aire, opresión en el pecho o dolor) lo/la despertaron durante la noche o más temprano de lo usual en la mañana?</p> <table style="width: 100%; text-align: center; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">4 o más noches por semana 1</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">De 2 a 3 noches por semana 2</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Una vez por semana 3</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Una o dos veces 4</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Nunca 5</td> </tr> </table>	4 o más noches por semana 1	De 2 a 3 noches por semana 2	Una vez por semana 3	Una o dos veces 4	Nunca 5	<input style="width: 40px; height: 25px; border: 1px solid #ccc;" type="text"/>
4 o más noches por semana 1	De 2 a 3 noches por semana 2	Una vez por semana 3	Una o dos veces 4	Nunca 5		
<p>4. Durante las últimas 4 semanas, ¿con qué frecuencia ha usado su inhalador de rescate o medicamento en nebulizador (como albuterol)?</p> <table style="width: 100%; text-align: center; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">3 o más veces al día 1</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">1 o 2 veces al día 2</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">2 o 3 veces por semana 3</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Una vez por semana o menos 4</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Nunca 5</td> </tr> </table>	3 o más veces al día 1	1 o 2 veces al día 2	2 o 3 veces por semana 3	Una vez por semana o menos 4	Nunca 5	<input style="width: 40px; height: 25px; border: 1px solid #ccc;" type="text"/>
3 o más veces al día 1	1 o 2 veces al día 2	2 o 3 veces por semana 3	Una vez por semana o menos 4	Nunca 5		
<p>5. ¿Cómo evaluaría el control de su asma durante las últimas 4 semanas?</p> <table style="width: 100%; text-align: center; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">No controlada en absoluto 1</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Mal controlada 2</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Algo controlada 3</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Bien controlada 4</td> <td style="background-color: #0070C0; color: white; padding: 5px;">Completamente controlada 5</td> </tr> </table>	No controlada en absoluto 1	Mal controlada 2	Algo controlada 3	Bien controlada 4	Completamente controlada 5	<input style="width: 40px; height: 25px; border: 1px solid #ccc;" type="text"/>
No controlada en absoluto 1	Mal controlada 2	Algo controlada 3	Bien controlada 4	Completamente controlada 5		
	TOTAL <input style="width: 40px; height: 25px; border: 1px solid #ccc;" type="text"/>					

Si obtuvo 19 puntos o menos, es probable que su asma no esté bajo control. Asegúrese de hablar con su doctor sobre sus resultados.

Derechos de autor 2002, por QualityMetric Incorporated.
 La Prueba de Control del Asma es una marca comercial de QualityMetric Incorporated.
 La Prueba de Control del Asma es para las personas asmáticas de 12 años de edad en adelante.

Referencias: 1. Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE.UU. Institutos Nacionales de la Salud, Instituto Nacional del Corazón, los Pulmones y la Sangre. *Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma (EPR-3 2007)*. Item de NIH No. 08-4051. <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthgdln.htm>. Consultado el 10 de septiembre de 2007. 2. Nathan RA y otros. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:59-65.



ASTHMA ACTION AMERICA®

Un 40.5% de pacientes presentaba asma asociado, clasificado en su mayoría como intermitente (82.4%). Al acudir a la visita con alergología todos habían iniciado tratamiento (broncodilatadores de acción corta), prescrito por su médico de atención primaria o por su propia cuenta. En algunos casos asociaron broncodilatadores de acción prolongada + corticoides inhalados, pero estos solo fueron utilizados de forma puntual y sin un control posterior.

Se obtuvo una media de 18 puntos con una desviación estándar de 5.5 una mínima de 8 puntos y una máxima de 27 puntos. Lo que nos orienta a una falta de control del asma en estos pacientes.

5.3 Pruebas Diagnósticas.

5.3.1 Pruebas Cutáneas

Las pruebas cutáneas fueron positivas para pólenes de Olivo, mezcla de Gramíneas y Salsola en el 100% de los pacientes, ya que este es un criterio de inclusión. En cuanto a los diferentes panalérgenos, es decir, LTP, profilina y polcalcina observamos:

Tabla 14. Pruebas cutáneas (Positivo / Negativo)

	TOTAL NO-MISSING	POSITIVO	NEGATIVO	MISSING
HISTAMINA	42	42 (100.0%)	0 (0.0%)	0
OLIVO	42	42 (100.0%)	0 (0.0%)	0
SALSOLA	42	42 (100.0%)	0 (0.0%)	0
GRAMÍNEAS	42	42 (100.0%)	0 (0.0%)	0
PHLEUM	42	42 (100.0%)	0 (0.0%)	0
POLCALCINA	42	7 (16.7%)	35 (83.3%)	0
PROFILINA	42	6 (14.3%)	36 (85.7%)	0
LTP	42	4 (9.5%)	38 (90.5%)	0

Positividad para polcalcina en 16.7%. Este panalérgeno está involucrado en la polisensibilidad a pólenes pero menos del 20% presentó positividad para el mismo. La profilina y la LTP, panalérgenos involucrados en la sensibilización cruzada para polen y

alimentos, mostraron resultado positivo en un 14.3% y en 9.5% de los pacientes, respectivamente. Sin embargo este hallazgo no fue estadísticamente significativo.

En cuanto al tamaño de la pápula observamos:

Tabla 15. Pruebas cutáneas (Diámetro/mm)

	n	MEDIA (DESV. ESTÁNDAR)	MEDIANA (Q1, Q3)	MIN, MAX	MISSING
HISTAMINA	42	6.9 (2.2)	6.0 (6.0, 7.0)	4, 16	0
OLIVO	42	12.3 (4.1)	11.5 (9.0, 15.0)	7, 23	0
SALSOLA	42	9.7 (3.6)	9.0 (7.0, 11.0)	5, 20	0
GRAMÍNEAS	42	9.1 (3.2)	9.0 (7.0, 11.0)	5, 17	0
PHLEUM	42	9.3 (4.1)	8.0 (6.0, 11.0)	4, 20	0
POLCALCINA	42	1.4 (3.3)	0.0 (0.0, 0.0)	0, 12	0
PROFILINA	42	1.4 (3.9)	0.0 (0.0, 0.0)	0, 17	0
LTP	42	1.2 (3.8)	0.0 (0.0, 0.0)	0, 15	0

La prueba positiva para extracto de polen de Olivo presentó un tamaño medio de pápula de 12.3 mm (DE: 4.1), para el de Salsola una media de 9.7 mm (DE: 3.6), el de Gramíneas 9.1mm (DE: 3.2), para *phleum* 9.3 mm, polcalcina 1.4 mm (DE: 3.3), profilina 1.4 mm (DE: 3.9), LTP1.2 mm (DE: 3.8). Observamos que las pápulas más reactivas corresponden al extracto de polen de Olivo, siendo muy similares las pápulas de Gramíneas, *Phleum* y *Salsola*. Las pápulas de *Phleum* son algo más reactivas que las de mezcla de Gramíneas. Los panalérgenos (polcalcina, profilina y LTP) presentaron, en general, poca reactividad.

5.3.2 Inmunoglobulinas específicas.

Tabla 16. IgEs Especifica (Positivo / Negativo)

	Total no-missing	POSITIVO	NEGATIVO	Missing
TOTAL (UI/ML)	42	42 (100.0%)	0 (0.0%)	0
OLE E 1 (OLIVO) (KU/L)	41	34 (82.9%)	7 (17.1%)	1
SALSOLA SPP (KU/L)	41	39 (95.1%)	2 (4.9%)	1
SAL K1 (HUVA) (KU/L)	40	36 (90.0%)	4 (10.0%)	2
PHL P1 (GRAMÍNEAS) (KU/L)	41	34 (82.9%)	7 (17.1%)	1
PHL P5 (GRAMÍNEAS) (KU/L)	40	14 (35.0%)	26 (65.0%)	2
PHL P7 (POLCALCINA) (KU/L)	41	6 (14.6%)	35 (85.4%)	1
PHL P11 (GRAMÍNEAS KU/L)	40	8 (20.0%)	32 (80.0%)	2
PHL P12 (PROFILINA) (KU/L)	40	6 (15.0%)	34 (85.0%)	2

Observamos positividad para IgE *Ole e1* en 82.9%, *Phl p1* en 82.9%, *Phl p5* en 35%, *Phl p11* en 20%, *Sal k1* en 90%, *Salsola spp* en 95.1%. Los panalérgenos con resultado positivo fueron: *Phl p7* 14.6%, *Phl p12* 15%.

Observamos, al igual que en la prueba cutánea, una baja positividad para los panalérgenos. Este hecho podría indicar una sensibilización real a estos 3 antígenos de forma individual y no una reacción cruzada en un paciente polisensibilizado.

En comparación con la positividad de la prueba cutánea y el mayor tamaño de la pápula para Olivo, la IgE específica *Ole e1* resultó positiva solo en 82.9% de los pacientes.

Entre los determinantes específicos más utilizados para el diagnóstico de sensibilización a phleum observamos: una clara diferencia entre 82.9% para *Phl p1*, frente a un 35% de *Phl p5* y 20% de *Phl p11* respectivamente.

La *Sal K1* en comparación al extracto completo de Salsola (*Salsola spp*) nos da un porcentaje similar de positivos 95.1% frente a 90%, lo que sí varía entre estos es el valor obtenido que presentamos a continuación.

Tabla 17. Valores IgE específica:

	n	MEDIA (Desv. Estándar)	MEDIANA (Q1, Q3)	Min, Max	Missing
IG E TOTAL (UI/ML)	42	302.01 (456.27)	156.50 (84.10, 385.00)	21.2, 2787.0	0
OLE E 1 (OLIVO) (KU/L)	41	10.96 (21.28)	2.38 (0.64, 11.30)	0.0, 100.0	1
SALSOLA SPP (KU/L)	41	10.94 (12.82)	4.84 (1.53, 18.20)	0.3, 52.0	1
SAL K1 (HUVA) (KU/L)	40	20.32 (23.16)	9.97 (2.91, 30.85)	0.0, 96.7	2
PHL P1 (GRAMÍNEAS) (KU/L)	41	5.29 (7.91)	1.50 (0.57, 5.45)	0.0, 34.9	1
PHL P5 (GRAMÍNEAS) (KU/L)	40	3.83 (15.62)	0.04 (0.00, 2.74)	0.0, 98.8	2
PHL P7 (POLCALCINA) (KU/L)	41	2.41 (8.34)	0.00 (0.00, 0.09)	0.0, 43.1	1
PHL P11 (GRAMÍNEAS KU/L)	40	0.33 (1.16)	0.01 (0.00, 0.10)	0.0, 7.2	2
PHL P12 (PROFILINA) (KU/L)	40	0.81 (3.40)	0.02 (0.00, 0.06)	0.0, 21.1	2

Como valores de la IgE total (UI/ml) observamos 302 de media (DE: 456.27) con un mínimo de 21.2 y un máximo de 2787, existiendo un intervalo bastante grande entre la cifra máxima y mínima.

Hemos obtenido como media de la IgE específica a los distintos componentes: *Ole e1*: 10.96 kU/l (DE: 21.28), *Sal k1*: 20.32 kU/l (DE: 23.16), *Phl p1*: 5.29 kU/l (DE: 7.91), *Phl p5*: 3.83 kU/l (DE: 15.62) y *Phl p11*: 0.33 (KU/l) (DE: 1.16). Las cifras mayores de IgE específica son las correspondientes a *Sal k1*.

Con respecto a la IgE específica para *Salsola spp* (extracto completo) en comparación con el componente *Sal k1*, observamos cifras mayores para *Sal k1*. Así pues, tenemos un valor medio de *Sal k1*: 20.32 kU/l (DE: 23.16; Min: 0.00 y Max: 96.7) frente a *Salsola spp* 10.94 kU/l (DE: 12.82; Min: 0.3 y Max: 52). En general los valores de *Sal k1* tienden a ser mayores que los de *Salsola spp* pero solo en 4.9% de los pacientes (Tabla 16) observamos cifras negativas <0.35 con *Salsola spp* siendo positivas en, contraste, para *Sal k1*. Por último, observamos un 10% de negativos para *Sal k1* siendo positivos para *Salsola spp*. Dada la especificidad del componente *Sal k1*, los valores positivos obtenidos con *Salsola spp* nos podrían orientar hacia falsos positivos como, por ejemplo, una reactividad cruzada.

Comparamos la IgE específica a componentes de Gramíneas (*Phl p1*, *Phl p5* y *Phl p11*) como aparece en las Tablas 15 a 17, observándose un porcentaje mayor de positividad en los valores para *Phl p1* (82.9%) en comparación con 35% de *Phl p5* y 20% *Phl p11*. Se alcanzaron las cifras más altas para *Phl p1* con una media de 5.29 kU/l (DE: 7.91; Min: 0.0 Max: 34.9) en comparación con la media de *Phl p5*: 3.83 kU/l (DE: 15.62; Min: 0.00 Max: 98.8) y la media de *Phl p11* 0.33 kU/l (DE: 1.16; Min: 0.00 Max: 0.10).

Así pues, hemos obtenido cifras mayores y un porcentaje de positividad mayor para *Phl p1*. A pesar de que *Phl p1* y *p5* son componentes mayores para identificar una sensibilización específica a Gramíneas, en este estudio vemos que los valores de *Phl p1* fueron significativamente superiores, resultando de mayor utilidad para su diagnóstico. La *Phl p11* es una proteína de Gramíneas *Ole1*-like, que nos orienta a una posible reactividad cruzada con Olivo, que únicamente se ha objetivado en el 20% de los pacientes.

5.3.3 Calendario Polínico y Estacionalidad.

La polinización es la transmisión de los granos de polen de las plantas espermatofitas, desde los estambres o sacos polínicos de las flores productoras hasta los órganos femeninos de las flores receptoras. Si el proceso tiene éxito se producirá la fecundación de dichas plantas. En nuestro caso, la polinización se realiza por el aire (anemófila) (92).

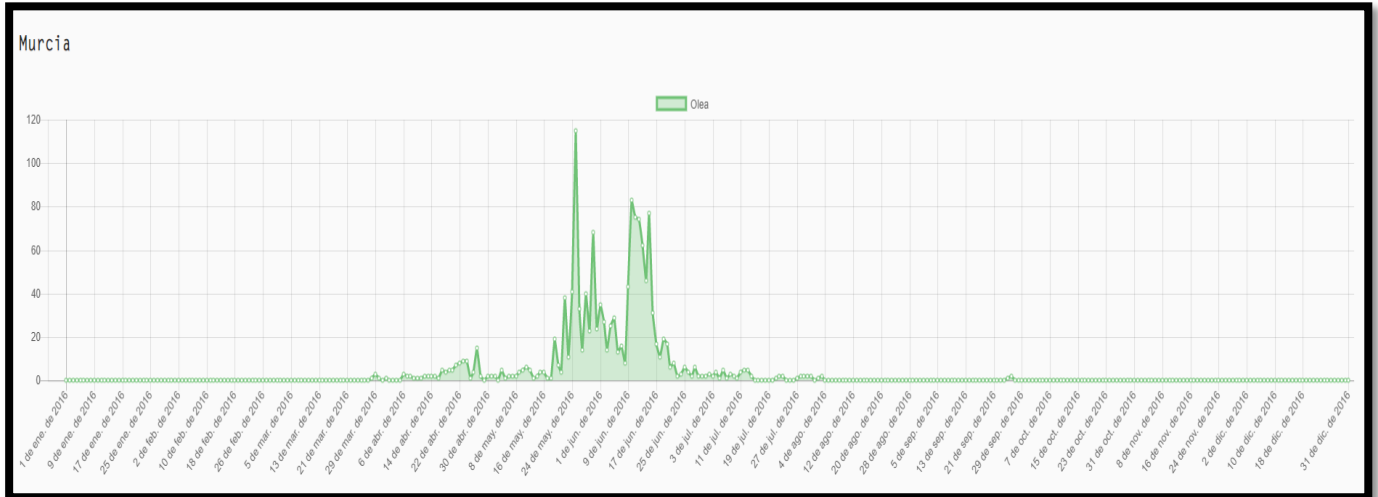
El Olivo (*Olea europaea*) es un árbol cuyo polinización se produce durante los meses de abril a julio, con menor frecuencia y sólo algunos años puede aparecer a finales de marzo. Los picos de mayor concentración suelen producirse en mayo o en la primera quincena de junio. La concentración necesaria de polen para el inicio de síntomas depende de muchos factores (efecto “priming”, polisensibilidad, etc.) (93). El riesgo para el inicio de síntomas con Olivo se estratifica como sigue: un nivel bajo al alcanzar <100 granos/m³, medio 100-200 granos/m³ y alto >200granos/m³ (94). En ocasiones gracias al efecto priming o cebado se ha visto que es necesario llegar hasta 50 granos/m³.

Las Gramíneas (*Poaceae*) son hierbas con polinización muy amplia gracias a la diversidad de géneros y especies que abarcan, oscilando entre uno y once meses, se dice que podrían tener una polinización perenne. En la región de Murcia se observan picos de polinización durante los meses de abril a junio (95). El riesgo para el inicio de síntomas con Gramíneas se ordena de la siguiente forma: un nivel bajo al alcanzar <10 granos/m³, medio 10-50 granos/m³ y alto >50 granos/m³ (94), viéndose por ejemplo picos de hasta 8287 granos/m³ (Badajoz). Diferentes factores incluyen la concentración de polen tales como: lluvia, latitud, altitud así como del resto de vegetación local. Se ha visto que el aumento de la temperatura máxima diaria en primavera adelanta la polinización de las Gramíneas (96).

La Salsola, se incluye en la familia Chenopodiáceas-Amarantáceas, que comparten una elevada reactividad cruzada así como una gran similitud botánica. Al microscopio presentan una morfología polínica idéntica por lo que en la actualidad se las suele agrupar en una misma familia. Además, se caracterizan por su resistencia a la sequía. Presentan un periodo de polinización que comprende desde abril a octubre, con dos picos muy particulares. El primero aparece en primavera (abril a junio) y el segundo, que normalmente alcanza una mayor concentración de polen, de agosto a octubre (97). El riesgo para el inicio de síntomas con Salsola se establece como: un nivel bajo al alcanzar <10 granos/m³, medio 10-20 granos/m³ y alto >20 granos/m³ (94), viéndose por ejemplo picos de hasta 6226 granos/m³ (Elche).

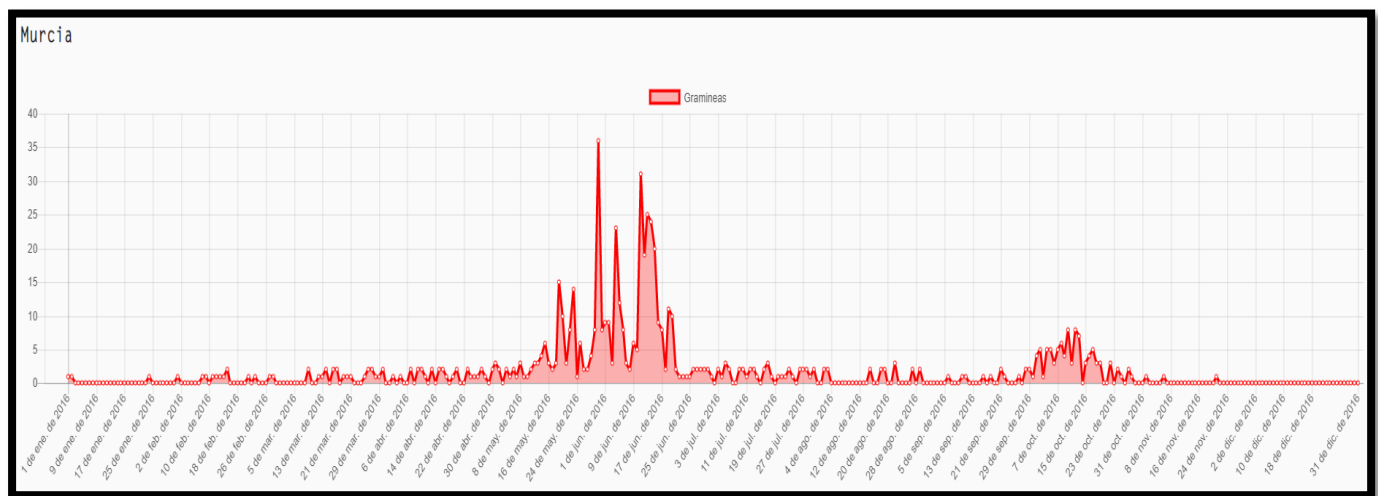
En Murcia pudimos apreciar la polinización de Olivo, Gramíneas y Salsola durante el 2016 (*ver capítulo 1.3, Imágenes de 9-11*). Los datos fueron recogidos mediante nuestro captador ubicado en el Hospital Reina Sofía, interpretados por el Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Universidad Técnica de Cartagena, España y publicados en la página de en la SEAIC por el Comité de Aerobiología (94):

Imagen 9. Polinización de Olivo, periodo 2016. Murcia.



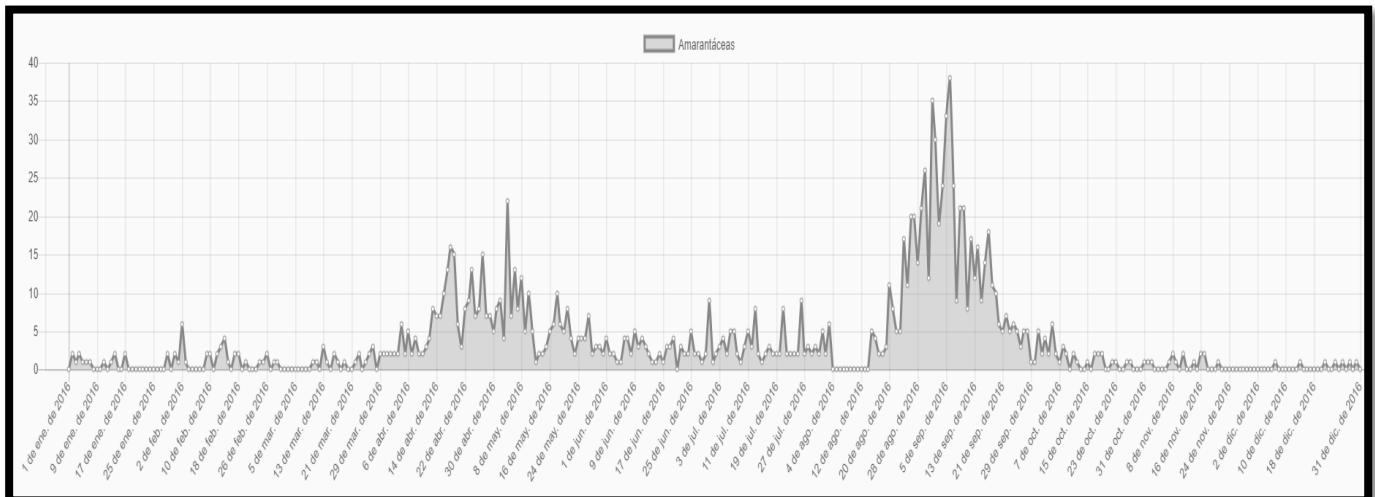
- Polen de oleáceas inicio leve a inicios de abril, máxima concentración en mayo y junio, día-pico el 25/05/2016, 115 granos/m³. En general apreciamos niveles bajos con menos de 100 granos/m³.

Imagen 10. Polinización de Gramíneas, periodo 2016. Murcia



- Polen de poáceas desde finales de marzo, máxima concentración en mayo-junio, día pico 30/05/2016, 36 granos/m³. Se aprecia además un segundo pico en septiembre-octubre (<10 granos/m³). Observamos un nivel medio de polinización con concentraciones entre 10-50 granos/m³.

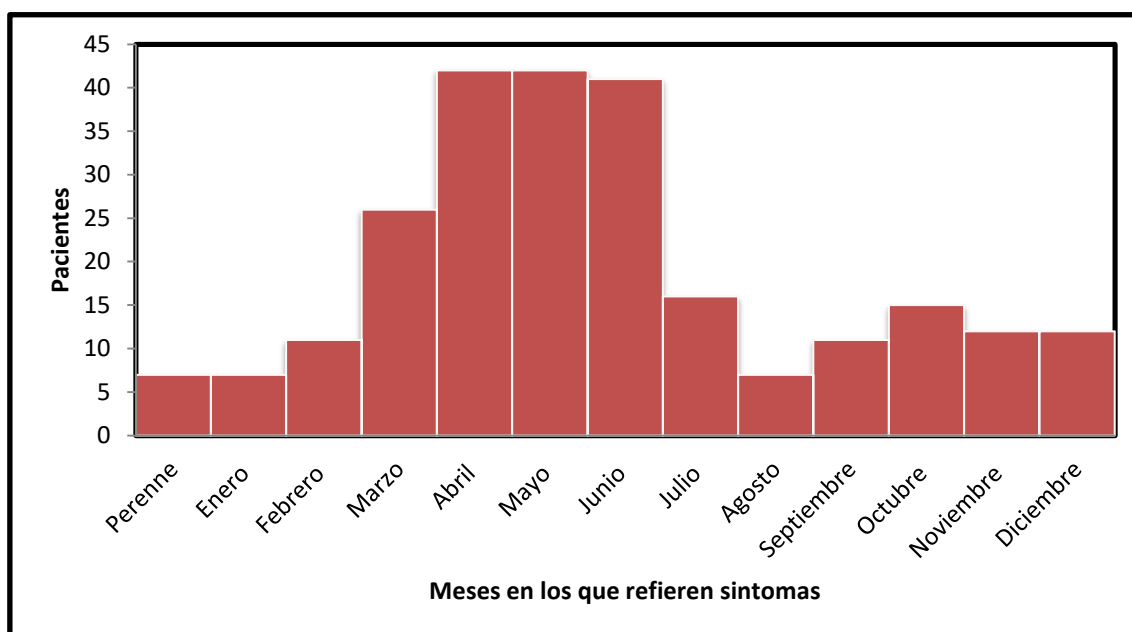
Imagen 11. Polinización de Salsola, periodo 2016. Murcia.



- Polen de Salsola/chenopodiáceas picos débiles a finales de enero (<5 granos/mm3) hasta principios de noviembre, máxima concentración en abril-mayo y agosto-septiembre, día pico 06/09/2016, 38 granos/m3. Observamos un nivel entre bajo y medio de marzo a julio, alcanzando en agosto-septiembre niveles altos con concentraciones mayores de 20 granos/m3.

En nuestro estudio, dejamos que los pacientes rellenaran un calendario en el cual marcarían los meses en los que presentasen síntomas durante el periodo del estudio, año 2016. En éste se incluirían síntomas nasales, oculares y bronquiales independientemente de la intensidad de estos. En la imagen 12 se recogen los resultados de los 42 pacientes tal y como sigue a continuación:

Imagen 12. Calendario Sintomático.



PERENNE	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL
7	7	11	26	42
16,70%	16,70%	26,20%	61,90%	100%
MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE
42	41	16	7	11
100%	97,60%	38,10%	16,70%	26,20%
OCTUBRE		NOVIEMBRE	DICIEMBRE	
15		12	12	
35,70%		28,60%	28,60%	

Prácticamente un 100% (97.6% junio) de los pacientes refiere síntomas en abril-junio siendo la época característica de la polinización del Olivo y las Gramíneas. Aun así, sabemos que las Gramíneas se pueden comportar como un alérgeno perenne llegando a presentar una polinización de hasta 11 meses al año. Observamos solo un 16.7% de pacientes con síntomas de forma perenne.

La Salsola presenta una polinización de abril a octubre. El primer pico de polinización coincide con el de Olivo y Gramíneas, constituyendo así un reto a la hora del diagnóstico de cada uno de estos tres alérgenos, dada la concordancia que muestran en estacionalidad. En el segundo pico de polinización, de agosto a septiembre, solo

refirieron positividad de síntomas un 16.7% de los pacientes en agosto y un 26.2% en septiembre.

Aun así algunos pacientes presentan síntomas durante diferentes meses a lo largo del año, como en enero, febrero, octubre etc. Dicho dato nos podría hacer pensar si el efecto priming tendría alguna implicación durante los picos leves de Salsola que se aprecian en febrero y de Gramíneas en octubre/noviembre.

De igual forma, se debe recordar que la polinización está sujeta a una variedad de factores que pueden influir en la concentración de polen, tales como la estacionalidad, la lluvia, sequía, estabilidad atmosférica (viento, humedad atmosférica), el fenómeno de alternancia (competencia entre producción de frutos vs flores para polinización), alérgenos provenientes de tallos o ramas así como la presencia de polen en las hojas capaces de producir de síntomas al ser liberadas al aire durante el cambio de follaje (7, 95-98).

5.3.4 Prueba de Provocación Nasal.

Realizamos las pruebas de provocación nasal siguiendo las recomendaciones del *International Standardization Committee on Objective Assessment of Nasal Airway* y el Comité de Rinoconjuntivitis de la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica (63) (*ver capítulo 1.5.4*).

Las pruebas para polen de Olivo, Gramíneas y Salsola se llevaron a cabo evitando las respectivas épocas de polinización. Se utilizaron preparaciones con extractos alérgicos comerciales liofilizados, específicamente preparados para pruebas de provocación nasal por el laboratorio BIAL-ARISTEGUI (*BIAL. Alérgeno Estandarizado Biológicamente (BU/mL ó HEPD)*).

Se realizaron tres diluciones para cada extracto a 1/100, 1/10 y 1/1. A continuación, llevamos a cabo la provocación nasal siguiendo el procedimiento descrito previamente (*ver capítulo 1.5.4*) utilizando el rinómetro acústico, PNIF y la Escala de Síntomas Bousquet (*ver tabla 8*), obteniendo los siguientes resultados:

A) Provocación nasal con Gramíneas:

Tabla 18. Provocación nasal Gramíneas			
Total no-missing	n		42
POSITIVO	n (%)		31 (73.8%)
NEGATIVO	n (%)		11 (26.2%)
Missing	n		0

POSITIVAS	TOTAL	NEGATIVAS	TOTAL
Dilución 1/100	5 (11.9%)	Dilución 1/100	0
Escala Bousquet (Media)	9.2		
Dilución 1/10	18 (42.86%)	Dilución 1/10	0
Escala Bousquet (Media)	7.2		
Dilución 1/1	8 (19.04%)	Dilución 1/1	11 (26.2%)
Escala Bousquet (Media)	6.37	Escala Bousquet (Media)	2.45

La provocación nasal con Gramíneas (tabla 18) nos dio un 73.8% de positivos y 26.2% de negativos; de los primeros, obtuvimos una respuesta positiva con la dilución 1/100 en un 11.9%, con una puntuación media de 9.2 en la escala de Bousquet. Un 42.86% dieron positivo con una dilución 1/10, una puntuación media de 7.2 en la escala de síntomas y por último, un 19.04% con la dilución 1/1 con una puntuación media de 6.37 en la escala de Bousquet. Observamos que casi la mitad de pacientes (42.86%) dio positivo con la dilución 1/10 del extracto para provocación nasal, asimismo observamos que el 11.9% que dio positivo con la dilución 1/100 presenta una puntuación mayor en la escala de síntomas en comparación con el grupo positivo para la dilución 1/1. Sabiendo que la escala de puntuación tiene como máximo 14 puntos siendo necesario un 6 para considerarse positivo, interpretamos a estos pacientes (con diluciones 1/100 y 1/10) como altamente sensibles a este alérgeno, dada la baja concentración del mismo requerida para la reproducción de síntomas.

El 26.2% de los pacientes dio negativo para la provocación nasal. En ellos no se observaron cambios en la Rinometría acústica ni en el PNIF y se obtuvo una puntuación inferior a 6 con la escala de síntomas.

B) Provocación nasal con a Olivo:

Tabla 19. Provocación nasal Olivo			
Total no-missing	n		42
POSITIVO	n (%)		36 (85.7%)
NEGATIVO	n (%)		6 (14.3%)
Missing	n		0
POSITIVAS	TOTAL	NEGATIVAS	TOTAL
Dilución 1/100	17 (40.48%)	Dilución 1/100	0
Escala Bousquet (Media)	7.23		
Dilución 1/10	11(26,19%)	Dilución 1/10	0
Escala Bousquet (Media)	7.63		
Dilución 1/1	8 (19.04%)	Dilución 1/1	6 (14.3%)
Escala Bousquet (Media)	6.25	Escala Bousquet (Media)	2

La provocación nasal con polen Olivo nos dio un 85.7% de positivos y un 14.3% de negativos, de estos obtuvimos una positividad con una dilución al 1/100 en un 40.48% con una media de 7.23 en la escala de síntomas. Un 26.19% de positivos con la dilución 1/10 con una media de 7.63 en la escala de síntomas y un 19.04% para la dilución 1/1 con una media de 6.25 para la escala de síntomas. Al contrario que con las Gramíneas obtuvimos provocaciones positivas con diluciones mayores, un 40.48% con la dilución 1/100 así como un 26.19% con la dilución 1/10; observamos de igual forma que la puntuación en la escala de síntomas es mayor en estos dos grupos, en relación con las provocaciones positivas en las que no se diluyo el extracto de Olivo. Todo ello refleja la

alta sensibilización de los pacientes al polen de Olivo, aun mayor en comparación con la provocación de Gramíneas. El 14.3% de los pacientes dio negativo para la provocación nasal y en ellos no se observaron cambios en la Rinometría acústica ni en el PNIF, con una puntuación en la escala de síntomas menor de 6.

C) Provocación nasal con Salsola:

Tabla 20. Provocación nasal Salsola			
Total no-missing	n		39
Positivo	n (%)		31 (79.5%)
Negativo	n (%)		8 (20.5%)
Missing	n	3	
POSITIVAS	TOTAL	NEGATIVAS	TOTAL
Dilución 1/100	4 (10.26%)	Dilución 1/100	0
Escala Bousquet (Media)	6.75		
Dilución 1/10	13 (33.34%)	Dilución 1/10	0
Escala Bousquet (Media)	7.15		
Dilución 1/1	14 (35.9%)	Dilución 1/1	8 (20.5%)
Escala Bousquet (Media)	7.21	Escala Bousquet (Media)	2.37

La provocación nasal con Salsola nos dio un 79.5% de positivos y un 20.5% de negativos. Se obtuvo positividad con la dilución 1/100 en un 10.26%, con una media de 6.75 en la escala de síntomas, un 33.34% dieron positivo con la dilución de 1/10 con una media de 7.15 en la escala de síntomas y un 35.9% de positivos con la dilución 1/1 con una media de 7.21 en la escala de síntomas. A diferencia de las provocaciones con Gramíneas y Olivo las provocaciones con Salsola necesitaron una mayor concentración de alérgeno para dar una positividad. El 20.5% de los pacientes dio negativo para la

provocación nasal y en ellos no observamos cambios en la Rinometría acústica ni en el PNIF, obteniéndose una puntuación inferior a 6 con la escala de síntomas.

En la comparación de las 3 provocaciones observamos que existe en una mayor sensibilización a Olivo, ya que obtuvimos cambios en la Rinometría Acústica, PNIF y una positividad en la escala de síntomas en un 40.48% con una dilución del 1/100, en segundo lugar 11.9% con Gramíneas y tercer lugar a 10.26% con Salsola. Se necesitó menos concentración de alérgeno de Olivo en comparación con Gramíneas y Salsola para reproducir la sintomatología en el paciente. En contraste, observamos que los síntomas eran más intensos con el extracto de Gramíneas obteniendo un 9.2 en la escala de síntomas en comparación con 7.23 para Olivo y un 6.75 para Salsola. Es importante describir que un paciente desarrolló una crisis de hiperreactividad bronquial y exacerbación de los síntomas de forma tardía con el extracto de Gramíneas.

Obtuvimos una positividad del 42.86% con una dilución 1/10 del extracto de Gramíneas, seguido de 33.34% con el extracto de Salsola y 26.19% con extracto de Olivo. La positividad en la escala de síntomas fue prácticamente similar en estas tres, 7.2 para Gramíneas, 7.63 para Olivo y 7.15 para Salsola.

Para concentraciones mayores, es decir el extracto sin diluir, observamos un 35.9% de positivos con Salsola, seguidos de un 19.04% para Gramíneas y Olivo. Se produjeron síntomas algo mayores con Salsola obteniendo una puntuación de 7.21 en la escala de Bousquet seguidos de 6.37 para Gramíneas y 6.25 para Olivo. En general, se necesitaron concentraciones mayores de Salsola para reproducir los síntomas.

5.4 Análisis Estadístico.

Cada una de las pruebas de provocación nasal se ha comparado con cada una de las pruebas cutáneas e IgE específicas más relevantes. Se presenta la tabla 2x2 con los recuentos cruzados de las pruebas (Positivo /Negativo) y, además, se ha valorado la capacidad predictiva: Sensibilidad, Especificidad, Valores Predictivos Positivo y Negativo y el Índice de Youden, así como el Índice Kappa para evaluar la concordancia entre las Pruebas de Provocación Nasal, las Pruebas Cutáneas y las IgE específicas.

VALORACIÓN DEL COEFICIENTE KAPPA (K). FUERZA DE CONCORDANCIA	
<0	No concordancia
0-0.2	Pobre concordancia
0.21-0.4	Concordancia leve
0.41-0.6	Concordancia moderada
0.61-0.8:	Concordancia fuerte
0.81-1	Concordancia casi perfecta

Índice de Youden = Sensibilidad + Especificidad -1: Su valor puede ser de -1 a +1, y tiene un valor de cero cuando una prueba de diagnóstico da la misma proporción de resultados positivos para grupos con y sin la enfermedad. Valores entre 0.5 y 1 se pueden considerar buenas pruebas diagnósticas.

5.4.1 Análisis de la provocación nasal con Gramíneas.

Tabla 21. Comparación prueba cutánea con Polcalcina			Sensibilidad (IC 95%)	1.000 (0.590 - 1.000)
Prueba Cutánea Polcalcina	Provocación Nasal Gramíneas		Especificidad (IC 95%)	0.314 (0.169 - 0.493)
	Positivos= 31	Negativos=11	VPP (IC 95%)	0.226 (0.096 - 0.411)
Positivo	7	0	VPN (IC 95%)	1.000 (0.715 - 1.000)
Negativo	24	11	I. Youden	0.314
Missing	0	0	Kappa (IC 95%)	0.133 (0.020 - 0.246)

Observamos que los 7 pacientes positivos en la prueba cutánea para polcalcina tuvieron una provocación nasal positiva para Gramíneas. Dado esto, obtenemos una alta sensibilidad (1.00) y una baja especificidad (0.314). Observamos un Coeficiente de Kappa (K) 0.133 dando una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 22. Comparación prueba cutánea con Profilina			Sensibilidad (IC 95%)	0.833 (0.359 - 0.996)
Prueba Cutánea Profilina	Provocación Nasal Gramíneas		Especificidad (IC 95%)	0.278 (0.142 - 0.452)
	Positivos= 31	Negativos=11	VPP (IC 95%)	0.161 (0.055 - 0.337)
Positivo	5	1	VPN (IC 95%)	0.909 (0.587 - 0.998)
Negativo	26	10	I. Youden	0.111
Missing	0	0	Kappa (IC 95%)	0.041 (-0.085 - 0.166)

Observamos que 5 de 6 pacientes positivos en la prueba cutánea para profilina tuvieron una Provocación Nasal positiva para Gramíneas; dado esto obtenemos una sensibilidad de 0.833 y una baja especificidad (0.278). Observamos (K) = 0.041 dando una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 23. Comparación prueba cutánea con LTP			Sensibilidad (IC 95%)	0.500 (0.068 - 0.932)
Prueba Cutánea LTP	Provocación Nasal Gramíneas		Especificidad (IC 95%)	0.237 (0.114 - 0.402)
	Positivos= 31	Negativos=11	VPP (IC 95%)	0.065 (0.008 - 0.214)
Positivo	2	2	VPN (IC 95%)	0.818 (0.482 - 0.977)
Negativo	29	9	I. Youden	-0.263
Missing	0	0	Kappa (IC 95%)	-0.065 (-0.207 - 0.076)

Observamos que 2 de 4 pacientes positivos en la prueba cutánea para LTP tuvieron una provocación nasal positiva para Gramíneas; dado esto, obtenemos una sensibilidad de 0.5 y una baja especificidad (0.237). Observamos un Coeficiente de Kappa -0.065 dando una nula concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 24. Comparación prueba IgE específica Phl p1.			Sensibilidad (IC 95%)	0.765 (0.588 - 0.893)
IgE específica Phl p1.	Provocación Nasal Gramíneas		Especificidad (IC 95%)	0.286 (0.037 - 0.710)
	Positivos= 31	Negativos=11	VPP (IC 95%)	0.839 (0.663 - 0.945)
Positivo	26	8	VPN (IC 95%)	0.200 (0.025 - 0.556)
Negativo	5	2	I. Youden	0.050
Missing	0	1	Kappa (IC 95%)	0.043 (-0.268 - 0.354)

Observamos que 26 pacientes dieron positivo en la muestra de IgE específica para *Phl p1* y en la provocación nasal con Gramíneas, obteniendo una sensibilidad (0.765) y especificidad del (0.286). Observamos un VPP (0.839) y un (K)=0.043 obteniendo una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 25. Comparación prueba IgE específica Phl p5.			Sensibilidad (IC 95%)	0.786 (0.492 - 0.953)
IgE específica Phl p5.	Provocación Nasal Gramíneas		Especificidad (IC 95%)	0.269 (0.116 - 0.478)
	Positivos= 31	Negativos=11	VPP (IC 95%)	0.367 (0.199 - 0.561)
Positivo	11	3	VPN (IC 95%)	0.700 (0.348 - 0.933)
Negativo	19	7	I. Youden	0.055
Missing	1	1	Kappa (IC 95%)	0.043 (-0.174 - 0.261)

Observamos que 11 pacientes dieron positivo en la muestra de IgE específica para *Phl p5* y en la Provocación Nasal con Gramíneas, obteniendo una sensibilidad (0.786) y especificidad del (0.269). Observamos un VPN (0.7) y un (K)=0.043 dando una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 26. Comparación prueba IgE específica <i>Phl p7</i> (Polcalcina).			Sensibilidad (IC 95%)	1.000 (0.541 - 1.000)
IgE específica <i>Phl p7</i> (polcalcina).	Provocación Nasal Gramíneas		Especificidad (IC 95%)	0.286 (0.146 - 0.463)
	Positivos= 31	Negativos=11	VPP (IC 95%)	0.194 (0.075 - 0.375)
Positivo	6	0	VPN (IC 95%)	1.000 (0.692 - 1.000)
Negativo	25	10	I. Youden	0.286
Missing	0	1	Kappa (IC 95%)	0.105 (0.007 - 0.203)

Observamos que los 6 pacientes positivos en la IgE específica a polcalcina (*Phl p7*) tuvieron una provocación nasal positiva para Gramíneas, obteniendo una sensibilidad (1.00) y especificidad del (0.286). Observamos un VPN (1.00) y un (K)=0.105 dando una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 27. Comparación prueba IgE específica <i>Phl p11</i>.			Sensibilidad (IC 95%)	0.750 (0.349 - 0.968)
IgE específica <i>Phl p11</i>	Provocación Nasal Gramíneas		Especificidad (IC 95%)	0.250 (0.115 - 0.434)
	Positivos= 31	Negativos=11	VPP (IC 95%)	0.200 (0.077 - 0.386)
Positivo	6	2	VPN (IC 95%)	0.800 (0.444 - 0.975)
Negativo	24	8	I. Youden	0.000
Missing	1	1	Kappa (IC 95%)	-0.000 (-0.165 - 0.165)

Observamos que 6 de 8 pacientes dieron positivo en la muestra de IgE específica para *Phl p11* y provocación nasal con Gramíneas, obteniendo una sensibilidad (0.750) y especificidad del (0.250). Observamos un VPN (0.8) y un K=0.0, dando una nula concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 28. Comparación prueba IgE específica <i>Phl p12 (Profilina)</i>.			Sensibilidad (IC 95%)	0.667 (0.223 - 0.957)
IgE específica <i>Phl p12</i> (profilina).	Provocación Nasal Gramíneas		Especificidad (IC 95%)	0.235 (0.107 - 0.412)
	Positivos= 31	Negativos=11	VPP (IC 95%)	0.133 (0.038 - 0.307)
Positivo	4	2	VPN (IC 95%)	0.800 (0.444 - 0.975)
Negativo	26	8	I. Youden	-0.098
Missing	1	1	Kappa (IC 95%)	-0.037 (-0.192 - 0.118)

Observamos que 4 de 6 pacientes dieron positivo en la muestra de IgE específica para *Phl p12* y provocación nasal con Gramíneas, obteniendo una sensibilidad de 0.667 y especificidad de 0.235. Observamos un VPN (0.8) y un (K)=-0.037 dando una nula concordancia, entre estas dos pruebas.

5.4.2 Análisis de la provocación nasal con Olivo.

Tabla 29. Comparación prueba cutánea con Polcalcina			Sensibilidad (IC 95%)	1.000 (0.590 - 1.000)
Prueba Cutánea Polcalcina	Provocación Nasal Olivo		Especificidad (IC 95%)	0.171 (0.066 - 0.336)
	Positivos= 36	Negativos=6	VPP (IC 95%)	0.194 (0.082 - 0.360)
Positivo	7	0	VPN (IC 95%)	1.000 (0.541 - 1.000)
Negativo	29	6	I. Youden	0.171
Missing	0	0	Kappa (IC 95%)	0.065 (-0.002 - 0.131)

Observamos que los 7 pacientes positivos en la prueba cutánea para polcalcina tuvieron una provocación nasal positiva para Olivo, dado esto obtenemos una alta sensibilidad (1.00) y una baja especificidad (0.171). Observamos un Coeficiente de Kappa (K) 0.065 dando una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 30. Comparación prueba cutánea con Profilina			Sensibilidad (IC 95%)	1.000 (0.541 - 1.000)
Prueba Cutánea Profilina	Provocación Nasal Olivo		Especificidad (IC 95%)	0.167 (0.064 - 0.328)
	Positivos= 36	Negativos=6	VPP (IC 95%)	0.167 (0.064 - 0.328)
Positivo	6	0	VPN (IC 95%)	1.000 (0.541 - 1.000)
Negativo	30	6	I. Youden	0.167
Missing	0	0	Kappa (IC 95%)	0.054 (-0.005 - 0.113)

Observamos que 6 pacientes positivos en la prueba cutánea para profilina tuvieron una provocación nasal positiva para Olivo, dado esto obtenemos una alta sensibilidad (1.00) y una baja especificidad (0.167). Observamos (K)= 0.054 dando una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 31. Comparación prueba cutánea con LTP			Sensibilidad (IC 95%)	1.000 (0.398 - 1.000)
Prueba Cutánea LTP	Provocación Nasal Olivo		Especificidad (IC 95%)	0.158 (0.060 - 0.313)
	Positivos= 36	Negativos=6	VPP (IC 95%)	0.111 (0.031 - 0.261)
Positivo	4	0	VPN (IC 95%)	1.000 (0.541 - 1.000)
Negativo	32	6	I. Youden	0.158
Missing	0	0	Kappa (IC 95%)	0.034 (-0.008 - 0.077)

Observamos que 4 pacientes positivos en la prueba cutánea para profilina tuvieron una provocación nasal positiva para Olivo, dado esto obtenemos una alta sensibilidad (1.00) y una baja especificidad (0.158). Observamos (K)= 0.034 dando una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 32. Comparación con IgE específica Ole e1			Sensibilidad (IC 95%)	0.912 (0.763 - 0.981)
IgE Específica Ole e1	Provocación Nasal Olivo		Especificidad (IC 95%)	0.286 (0.037 - 0.710)
	Positivos= 36	Negativos=6	VPP (IC 95%)	0.861 (0.705 - 0.953)
Positivo	31	3	VPN (IC 95%)	0.400 (0.053 - 0.853)
Negativo	5	2	I. Youden	0.197
Missing	0	1	Kappa (IC 95%)	0.223 (-0.155 - 0.601)

Observamos que 31 pacientes dieron positivo en la muestra de IgE específica para Ole e1 y provocación nasal con Olivo, obteniendo una sensibilidad de 0.912 y especificidad de 0.286). Observamos un VPP=0.861 y un K=0.223 obteniendo una leve concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 33. Comparación con IgE Phl p7 (Polcalcina)			Sensibilidad (IC 95%)	1.000 (0.541 - 1.000)
IgE Especifica <i>Phl p7</i> (Polcalcina)	Provocación Nasal Olivo		Especificidad (IC 95%)	0.143 (0.048 - 0.303)
	Positivos= 36	Negativos=6	VPP (IC 95%)	0.167 (0.064 - 0.328)
Positivo	6	0	VPN (IC 95%)	1.000 (0.478 - 1.000)
Negativo	30	5	I. Youden	0.143
Missing	0	1	Kappa (IC 95%)	0.047 (-0.007 - 0.100)

Observamos que 6 pacientes dieron positivo en la muestra de IgE específica para *Phl p7* (polcalcina) y provocación nasal con Olivo, obteniendo una sensibilidad de 1.00 y especificidad del 0.143. Observamos un VPN (1.00) y un K=0.047 obteniendo una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 34. Comparación con IgE específica <i>Phl p11</i>			Sensibilidad (IC 95%)	1.000 (0.631 - 1.000)
IgE específica <i>Phl p11</i>	Provocación Nasal Olivo		Especificidad (IC 95%)	0.156 (0.053 - 0.328)
	Positivos= 36	Negativos=6	VPP (IC 95%)	0.229 (0.104 - 0.401)
Positivo	8	0	VPN (IC 95%)	1.000 (0.478 - 1.000)
Negativo	27	5	I. Youden	0.156
Missing	1	1	Kappa (IC 95%)	0.069 (-0.004 - 0.142)

Observamos que 8 pacientes dieron positivo en la muestra de IgE específica para *Phl p11* y provocación nasal con Olivo, obteniendo una sensibilidad de 1.00 y especificidad del 0.156. Observamos un VPN de 1.00 y un K=0.069, obteniendo una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 35. Comparación con IgE específica <i>Phl p12</i> (profilina)			Sensibilidad (IC 95%)	0.833 (0.359 - 0.996)
IgE específica <i>Phl p12</i> (Profilina)	Provocación Nasal Olivo		Especificidad (IC 95%)	0.118 (0.033 - 0.275)
	Positivos= 36	Negativos=6	VPP (IC 95%)	0.143 (0.048 - 0.303)
Positivo	8	0	VPN (IC 95%)	0.800 (0.284 - 0.995)
Negativo	27	5	I. Youden	-0.049
Missing	1	1	Kappa (IC 95%)	-0.016 (-0.123 - 0.091)

Observamos que 5 pacientes dieron positivo en la muestra de IgE específica para *Phl p11* y provocación nasal con Olivo, obteniendo una sensibilidad (0.833) y especificidad del 0.143. Observamos un VPN de 0.800 y un K=-0.016 obteniendo una nula concordancia entre estas dos pruebas.

5.4.3 Análisis de la provocación nasal con Salsola.

Tabla 36. Comparación prueba cutánea Polcalcina			Sensibilidad (IC 95%)	1.000 (0.541 - 1.000)
Prueba Cutánea Polcalcina	Provocación Nasal Salsola		Especificidad (IC 95%)	0.242 (0.111 - 0.423)
	Positivos= 31	Negativos=8	VPP (IC 95%)	0.194 (0.075 - 0.375)
Positivo	6	0	VPN (IC 95%)	1.000 (0.631 - 1.000)
Negativo	25	8	I. Youden	0.242
Missing	0	0	Kappa (IC 95%)	0.090 (0.001 - 0.178)

Observamos que los 6 pacientes positivos en la prueba cutánea para polcalcina tuvieron una provocación nasal positiva para Salsola, dado esto obtenemos una alta sensibilidad (1.00) y una baja especificidad (0.242). Observamos un Coeficiente de Kappa (K)= 0.090 dando una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 37. Comparación prueba cutánea Profilina			Sensibilidad (IC 95%)	0.833 (0.359 - 0.996)
Prueba Cutánea Profilina	Provocación Nasal Salsola		Especificidad (IC 95%)	0.212 (0.090 - 0.389)
	Positivos= 31	Negativos=8	VPP (IC 95%)	0.161 (0.055 - 0.337)
Positivo	5	1	VPN (IC 95%)	0.875 (0.473 - 0.997)
Negativo	26	7	I. Youden	0.045
Missing	0	0	Kappa (IC 95%)	0.017 (-0.106 - 0.139)

Observamos que los 5 pacientes positivos en la prueba cutánea para profilina tuvieron una provocación nasal positiva para Salsola, dado esto obtenemos una alta sensibilidad (0.833) y una baja especificidad (0.212). Observamos un Coeficiente de Kappa (K)= 0.017 dando una pobre, casi nula concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 38. Comparación prueba cutánea LTP			Sensibilidad (IC 95%)	1.000 (0.398 - 1.000)
Prueba Cutánea LTP	Provocación Nasal Salsola		Especificidad (IC 95%)	0.229 (0.104 - 0.401)
	Positivos= 31	Negativos=8	VPP (IC 95%)	0.129 (0.036 - 0.298)
Positivo	4	0	VPN (IC 95%)	1.000 (0.631 - 1.000)
Negativo	27	8	I. Youden	0.229
Missing	0	0	Kappa (IC 95%)	0.057 (-0.009 - 0.123)

Observamos que los 4 pacientes positivos en la prueba cutánea para profilina tuvieron una provocación nasal positiva para Salsola, dado esto obtenemos una alta sensibilidad (1.00) y una baja especificidad (0.229). Observamos un Coeficiente de Kappa (K)= 0.059 dando una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 39. Comparación IgE específica <i>Salsola spp</i>			Sensibilidad (IC 95%)	0.806 (0.640 - 0.918)
IgE específica <i>Salsola spp</i>	Provocación Nasal <i>Salsola</i>		Especificidad (IC 95%)	0.500 (0.013 - 0.987)
	Positivos= 31	Negativos=8	VPP (IC 95%)	0.967 (0.828 - 0.999)
Positivo	29	7	VPN (IC 95%)	0.125 (0.003 - 0.527)
Negativo	1	1	I. Youden	0.306
Missing	1	0	Kappa (IC 95%)	0.126 (-0.193 - 0.445)

Observamos que 29 pacientes positivos en la prueba IgE específica *Salsola spp* tuvieron una provocación nasal positiva para *Salsola*, dado esto obtenemos una sensibilidad (0.806) y una especificidad (0.500). Observamos un VPP (0.967) y VPN (0.125) y un (K)= 0.126 dando una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 40. Comparación IgE específica <i>Salsola Sal K1</i>			Sensibilidad (IC 95%)	0.818 (0.645 - 0.930)
IgE específica <i>Sal K1</i>	Provocación Nasal <i>Salsola</i>		Especificidad (IC 95%)	0.500 (0.068 - 0.932)
	Positivos= 31	Negativos=8	VPP (IC 95%)	0.931 (0.772 - 0.992)
Positivo	27	6	VPN (IC 95%)	0.250 (0.032 - 0.651)
Negativo	2	2	I. Youden	0.318
Missing	2	0	Kappa (IC 95%)	0.221 (-0.146 - 0.588)

Observamos que 27 pacientes positivos en la prueba IgE específica *Salsola Sal K1* tuvieron una provocación nasal positiva para *Salsola*, dado esto obtenemos una sensibilidad (0.818) y una especificidad (0.500). Observamos un VPP (0.931) y VPN (0.250) y un (K)= 0.221 dando una leve concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 41. Comparación prueba IgE específica <i>Phl p7</i> (Polcalcina).			Sensibilidad (IC 95%)	1.000 (0.541 - 1.000)
IgE específica <i>Phl p7</i> (polcalcina)	Provocación Nasal Salsola		Especificidad (IC 95%)	0.250 (0.115 - 0.434)
	Positivos=	Negativos=11	VPP (IC 95%)	0.200 (0.077 - 0.386)
	31		VPN (IC 95%)	1.000 (0.631 - 1.000)
Positivo	6	0	I. Youden	0.250
Negativo	24	8	Kappa (IC 95%)	0.095 (0.002 - 0.189)
Missing	1	2		

Observamos que 6 pacientes positivos en la prueba IgE específica *Phl p7* (polcalcina) tuvieron una provocación nasal positiva para *Salsola*, dado esto obtenemos una sensibilidad (1.00) y una especificidad (0.250). Observamos K= 0.095 dando una pobre concordancia entre estas dos pruebas.

Tabla 42. Comparación prueba IgE específica <i>Phl p12</i> (Profilina).			Sensibilidad (IC 95%)	0.800 (0.284 - 0.995)
IgE específica <i>Phl p12</i> (profilina).	Provocación Nasal Salsola		Especificidad (IC 95%)	0.219 (0.093 - 0.400)
	Positivos=	Negativos=11	VPP (IC 95%)	0.138 (0.039 - 0.317)
	31		VPN (IC 95%)	0.875 (0.473 - 0.997)
Positivo	4	1	I. Youden	0.019
Negativo	25	7	Kappa (IC 95%)	0.006 (-0.119 - 0.132)
Missing	2	3		

Observamos que 4 pacientes positivos en la prueba IgE *Phl p12* (profilina). Tuvieron una provocación nasal positiva para *Salsola*, dado esto obtenemos una sensibilidad (0.800) y una especificidad (0.219). Observamos (K)= 0.006 dando una pobre concordancia, casi nula entre estas dos pruebas.

En conclusión observamos que en muchas de las pruebas se obtiene una sensibilidad alta con especificidad baja, debido a la tendencia a aparecer resultados positivos en la provocación nasal (patrón oro) y negativos en la prueba con la que se compara. Observamos sensibilidades altas con especificidades no tan bajas y, como consecuencia, un VPP así como un $K = >0.2$, no tan bajo, en relación a *Ole e1* y *Sal k1*. Estos hallazgos indican una capacidad predictiva leve/moderada. En ninguno de los resultados previos objetivamos un $IY >0.5$ con lo que estos resultados (PC, IgE específica) resultarían insuficientes o no “tan buenas pruebas” por sí solas para obtener una perfecta correlación en el diagnóstico de una alergia respiratoria.

5.5 Estimación de las Curvas ROC o AUC.

Hasta ahora, en la práctica clínica habitual tenemos varias pruebas que se utilizan para determinar la relevancia clínica de una alergia respiratoria (p.ej: Prueba cutánea, IgE Específica y Pruebas de Provocación Nasal). Llegados a este punto, hemos utilizado la puntuación de la escala de síntomas Bousquet obtenida en cada una de las provocaciones nasales (Gramíneas, Olivo y Salsola) para calcular la curva ROC o AUC. Como “Gold Standard”. Se han tomado los resultados de las IgE específicas (*se ha considerado como positivo un valor de IgE superior o igual a 0.35 kU/L: tabla 16*)

A través de las curvas ROC hemos intentado calcular un punto de corte óptimo (el que maximiza sensibilidad y especificidad) para cada caso, en las tablas se presentan los datos estadísticos con capacidad de diagnóstico para esos puntos de corte.

- El valor que podemos obtener en la interpretación de AUC se encuentra en un rango entre 0 y 1. Cuanto mayor sea la AUC mejores serán los resultados obtenidos con el punto de corte óptimo

VALORACIÓN DE LA CURVA AUC O ROC	
<0.5	La prueba no tiene capacidad predictiva
0.5-0.6	Capacidad predictiva mala/baja
0.6-0.7	Capacidad predictiva moderada
0.71-0.85	Capacidad predictiva fuerte
>0.85	Capacidad predictiva casi perfecta

5.5.1 Curva AUC IgE específicas/Bousquet para Gramíneas.

A) Curva AUC Phl p1/Bousquet Gramíneas

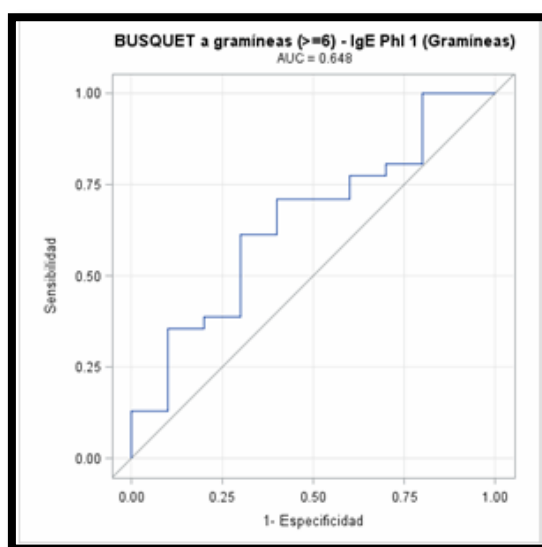


Imagen 13. Curva AUC Phl p1/Bousquet Gramíneas

Tabla 43. Curva AUC Phl p1 /Bousquet Gramíneas.

Provocación Nasal Gramíneas (>=6):	Punto de corte (>= 1.21 KU/l)	
Total no-missing	22	19
Positivo	19	12
Negativo	3	7
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.613 (0.422 - 0.782)	
Especificidad (IC 95%)	0.700 (0.348 - 0.933)	
VPP (IC 95%)	0.864 (0.651 - 0.971)	
VPN (IC 95%)	0.368 (0.163 - 0.616)	
I. Youden	0.313	
Kappa (IC 95%)	0.240 (-0.029 - 0.509)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Phl p1, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a gramínea es ≥ 1.21 KU/l, presenta un área bajo la curva de (0.648: capacidad predictiva moderada), sensibilidad (0.613) y especificidad (0.70), K: 0.2 I. Youden: 0.3 (Imagen 13).

B) Curva AUC Phl p5/Bousquet Gramíneas:

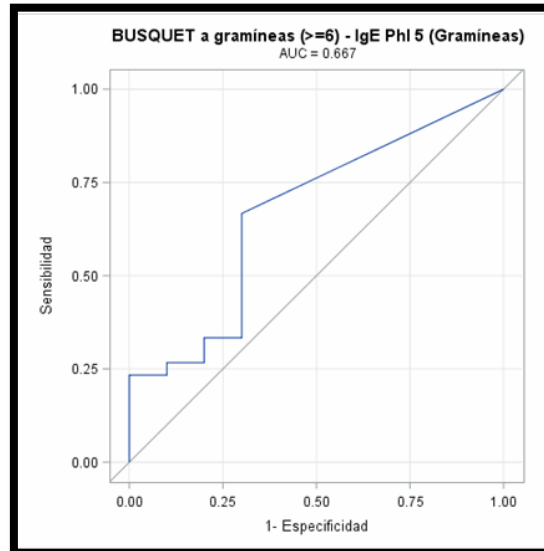


Imagen 14. Curva AUC Phl p5/Bousquet Gramíneas

Tabla 44. Curva AUC Phl p5 /Bousquet Gramíneas.		
Provocación Nasal Gramíneas (>=6):	Punto de corte (>= 0.01 KU/l)	
Total no-missing	23	17
Positivo	20	10
Negativo	3	7
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.667 (0.472 - 0.827)	
Especificidad (IC 95%)	0.700 (0.348 - 0.933)	
VPP (IC 95%)	0.870 (0.664 - 0.972)	
VPN (IC 95%)	0.412 (0.184 - 0.671)	
I. Youden	0.367	
Kappa (IC 95%)	0.297 (0.013 - 0.581)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Phl p5, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a gramínea es ≥ 0.01 KU/l, presenta un área bajo la curva de (0.667: capacidad predictiva moderada), sensibilidad (0.667), especificidad (0.700), VPP: 0.87, K: 0.297 (Imagen 14).

C) Curva AUC Phl p7/Bousquet Gramíneas:

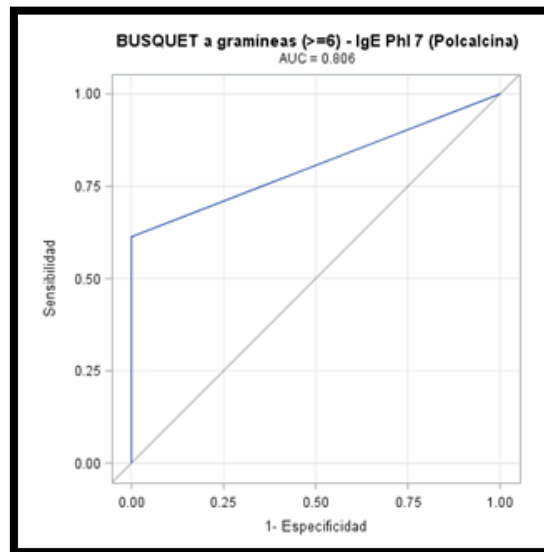


Imagen 15. Curva AUC Phl p7/Bousquet Gramíneas

Tabla 45. Curva AUC Phl p7 /Bousquet Gramíneas.

Provocación Nasal Gramíneas (>=6):	Punto de corte (>= 0.01)	
Total no-missing	19	22
Positivo	19	12
Negativo	0	10
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.613 (0.422 - 0.782)	
Especificidad (IC 95%)	1.000 (0.692 - 1.000)	
VPP (IC 95%)	1.000 (0.824 - 1.000)	
VPN (IC 95%)	0.455 (0.244 - 0.678)	
I. Youden	0.613	
Kappa (IC 95%)	0.436 (0.214 - 0.657)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Phl p7, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a gramínea es ≥ 0.01 KU/l, presenta un área bajo la curva (0.806), cifras de sensibilidad (0.613) y especificidad (1.00) (Imagen 15). Observamos una capacidad predictiva fuerte así como un VPP y especificidad alta.

D) Curva AUC Phl p11/Bousquet Gramíneas:

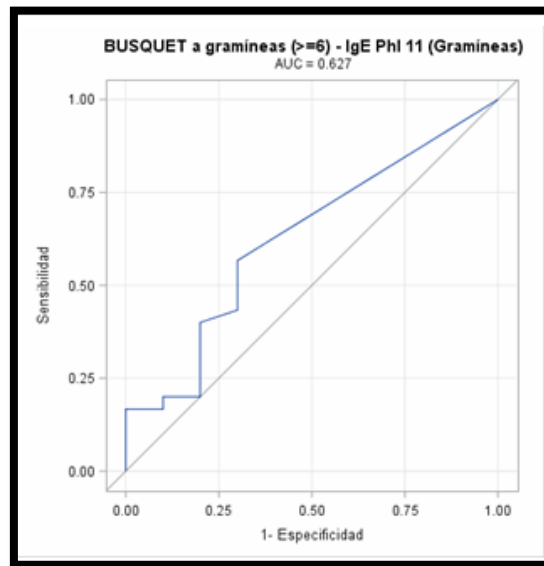


Imagen 16. Curva AUC Phl p11/Bousquet Gramíneas

Tabla 46. Curva AUC Phl p11 /Bousquet Gramíneas.

Provocación Nasal Gramíneas (>=6):		Punto de corte (>= 0.01)
Total no-missing	20	20
Positivo	17	13
Negativo	3	7
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.567 (0.374 - 0.745)	
Especificidad (IC 95%)	0.700 (0.348 - 0.933)	
VPP (IC 95%)	0.850 (0.621 - 0.968)	
VPN (IC 95%)	0.350 (0.154 - 0.592)	
I. Youden	0.267	
Kappa (IC 95%)	0.200 (-0.063 - 0.463)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Phl p11, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a gramínea es ≥ 0.01 KU/l, área bajo la curva (0.627: capacidad predictiva moderada), sensibilidad (0.567) y especificidad (0.70), VPP: 0.85, K: 0.2, I. Youden: 0.267 (Imagen 16).

E) Curva AUC Phl p12/Bousquet Gramíneas:

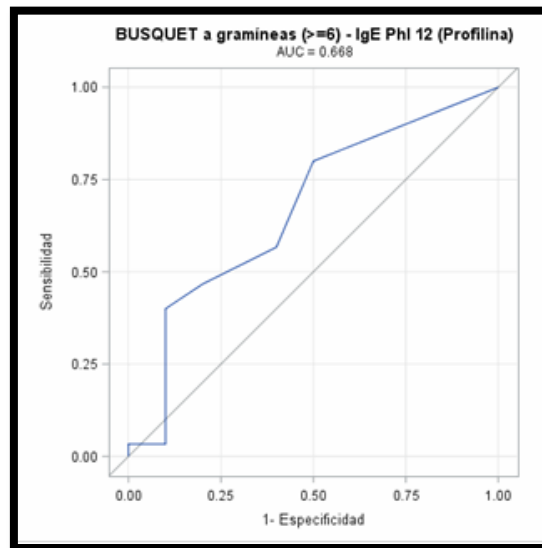


Imagen 17. Curva AUC Phl p12/Bousquet Gramíneas

Tabla 47. Curva AUC Phl p12 /Bousquet Gramíneas.

Provocación Nasal Gramíneas (>=6):		Punto de corte (>= 0.01)
Total no-missing	29	11
Positivo	24	6
Negativo	5	5
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.800 (0.614 - 0.923)	
Especificidad (IC 95%)	0.500 (0.187 - 0.813)	
VPP (IC 95%)	0.828 (0.642 - 0.942)	
VPN (IC 95%)	0.455 (0.167 - 0.766)	
I. Youden	0.300	
Kappa (IC 95%)	0.290 (-0.037 - 0.618)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Phl p12, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a gramínea es ≥ 0.01 KU/l, área bajo la curva (0.668: capacidad predictiva moderada), cifras de sensibilidad (0.80), especificidad (0.50), VPP: 0.82, K: 0.29 I. Youden: 0.3 (Imagen 17).

5.5.2 Curva AUC IgE específicas/Bousquet para Olivo.

A) Curva AUC Ole e1/Bousquet Olivo:

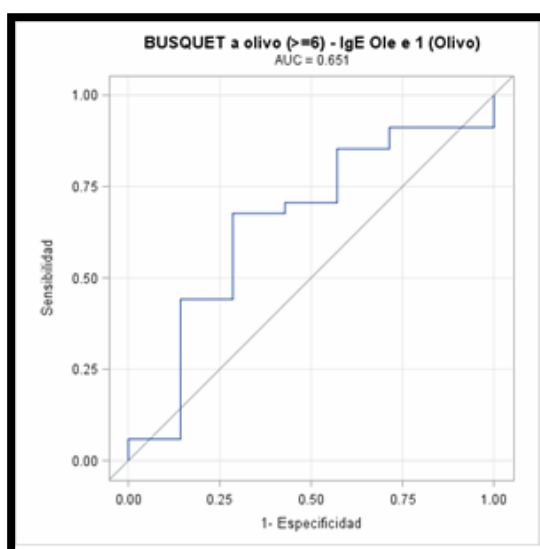


Imagen 18. Curva AUC Ole e1/Bousquet Olivo Gramíneas

Tabla 48. Curva AUC Ole e1/Bousquet Olivo.

Provocación Nasal Gramíneas (>=6):	Punto de corte (>= 1.65 KU/L)	
Total no-missing	25	16
Positivo	23	11
Negativo	2	5
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.676 (0.495 - 0.826)	
Especificidad (IC 95%)	0.714 (0.290 - 0.963)	
VPP (IC 95%)	0.920 (0.740 - 0.990)	
VPN (IC 95%)	0.313 (0.110 - 0.587)	
I. Youden	0.391	
Kappa (IC 95%)	0.259 (-0.015 - 0.533)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Ole e1, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a Olivo es ≥ 1.65 KU/l, área bajo la curva (0.651: capacidad predictiva moderada), sensibilidad (0.676) y especificidad (0.714), VPP: 0.92 K: 0.259, I Youden: 0.391 (Imagen 18).

B) Curva AUC Phlp7/Bousquet Olivo:

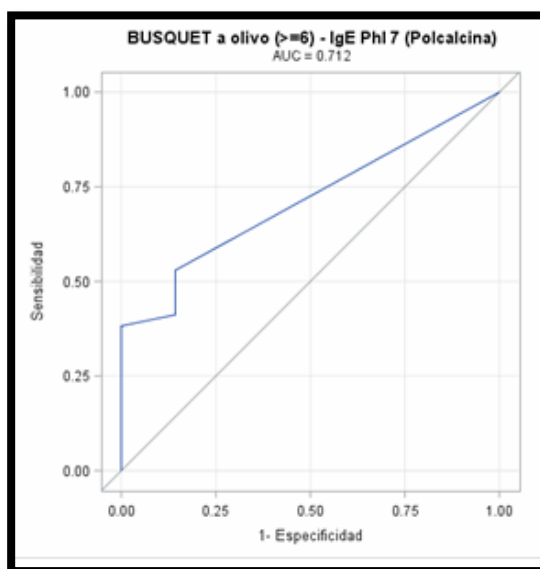


Imagen 19. Curva AUC Phl p7/Bousquet Olivo

Tabla 49. Curva AUC Phl p7 /Bousquet Olivo.

Provocación Nasal Gramíneas (>=6):		Punto de corte (>=0.01)
Total no-missing	19	22
Positivo	18	16
Negativo	1	6
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.529 (0.351 - 0.702)	
Especificidad (IC 95%)	0.857 (0.421 - 0.996)	
VPP (IC 95%)	0.947 (0.740 - 0.999)	
VPN (IC 95%)	0.273 (0.107 - 0.502)	
I. Youden	0.387	
Kappa (IC 95%)	0.209 (0.001 - 0.417)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Phl p7, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a Olivo es ≥ 0.01 KU/l, área bajo la curva (0.712: capacidad predictiva fuerte), una baja cifra de sensibilidad (0.529) pero una especificidad (0.857), VPP: 0.947, K: 0.209, I. Youden: 0.387 (Imagen 19). Observamos una capacidad predictiva fuerte así como la especificidad y VPP alta.

D) Curva AUC Phlp12/Bousquet Olivo:

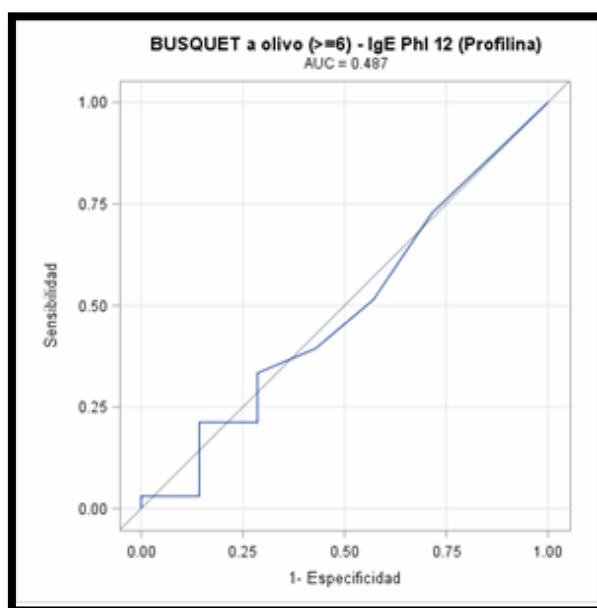


Imagen 20. Curva AUC Phl p12/Bousquet Olivo Gramíneas

Tabla 50. Curva AUC Phl p12 /Bousquet Olivo.

Provocación Nasal Gramíneas (>=6):		Punto de corte (>=0.09)
Total no-missing	8	32
Positivo	7	26
Negativo	1	6
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.212 (0.090 - 0.389)	
Especificidad (IC 95%)	0.857 (0.421 - 0.996)	
VPP (IC 95%)	0.875 (0.473 - 0.997)	
VPN (IC 95%)	0.188 (0.072 - 0.364)	
I. Youden	0.069	
Kappa (IC 95%)	0.029 (-0.095 - 0.153)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Phl p12, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a Olivo es ≥ 0.09 KU/l, presenta un área bajo la curva (0.487), una capacidad predictiva nula, cifras de sensibilidad (0.212), especificidad (0.857), VPP: 0.875, K: 0.02, I Youden: 0.069 (Imagen 20).

5.5.3 Curva AUC IgE específicas/Bousquet para Salsola.

A) Curva AUC Salsola spp/Bousquet Salsola:

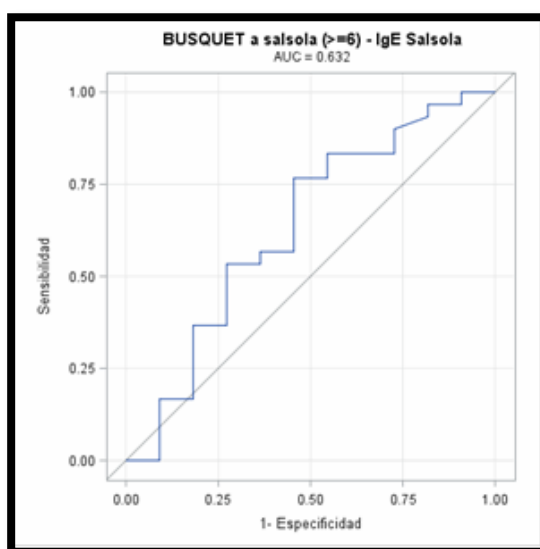


Imagen21. Curva AUC Salsola spp/Bousquet Salsola

Tabla 51. Curva AUC Salsola spp /Bousquet Salsola.

Provocación Nasal Gramíneas (>=6):		Punto de corte (>=2.36 KU/L)
Total no-missing	28	13
Positivo	23	7
Negativo	5	6
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.767 (0.577 - 0.901)	
Especificidad (IC 95%)	0.545 (0.234 - 0.833)	
VPP (IC 95%)	0.821 (0.631 - 0.939)	
VPN (IC 95%)	0.462 (0.192 - 0.749)	
I. Youden	0.312	
Kappa (IC 95%)	0.295 (-0.018 - 0.608)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Salsola spp, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a Salsola es ≥ 2.36 KU/l, área bajo la curva (0.632: capacidad predictiva moderada), sensibilidad (0.767) y especificidad (0.545), VPP: 0.821 K: 0.295 I. Youden: 0.312 (Imagen 21).

B) Curva AUC Sal k1/Bousquet Salsola:

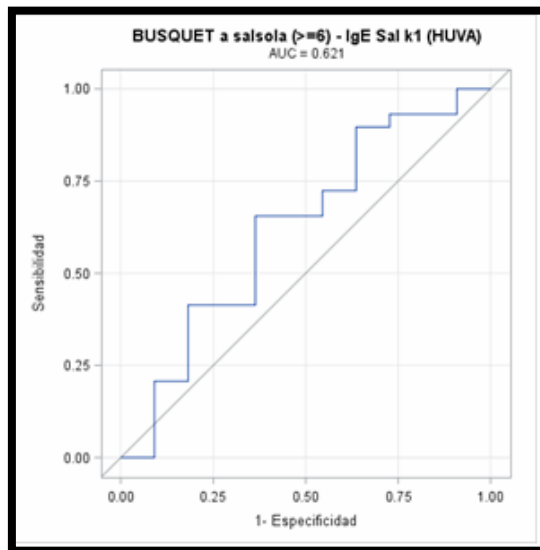


Imagen 22. Curva AUC Sal k1/Bousquet Salsola

Tabla 52. Curva AUC Sal k1 /Bousquet Salsola.

Provocación Nasal Gramíneas (>=6):		Punto de corte (>=6.79)
Total no-missing	23	17
Positivo	19	10
Negativo	4	7
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.655 (0.457 - 0.821)	
Especificidad (IC 95%)	0.636 (0.308 - 0.891)	
VPP (IC 95%)	0.826 (0.612 - 0.950)	
VPN (IC 95%)	0.412 (0.184 - 0.671)	
I. Youden	0.292	
Kappa (IC 95%)	0.249 (-0.043 - 0.541)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Sal k1, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a Salsola es ≥ 6.79 KU/l, área bajo la curva (0.632: capacidad predictiva moderada), sensibilidad (0.655) y especificidad (0.636), VPP: 0.826, K: 0.249 I. Youden: 0.292 (Imagen 22).

C) Curva AUC Phl p7/Bousquet Salsola:

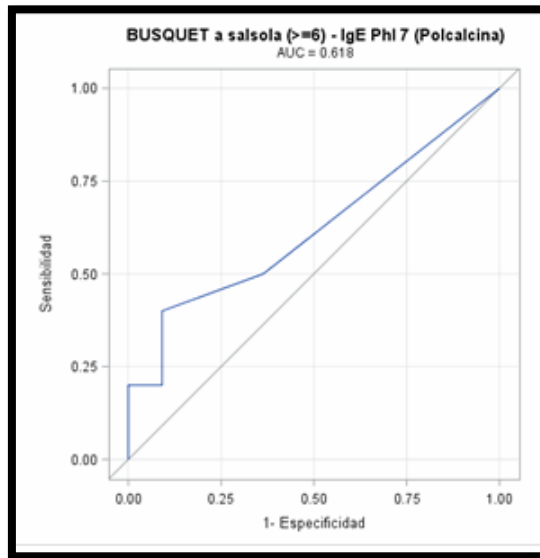


Imagen 23. Curva AUC Phlp7/Bousquet Salsola

Tabla 53. Curva AUC Phl p7 /Bousquet Salsola.

Provocación Nasal Gramíneas (>=6):		Punto de corte (>=0.06)
Total no-missing	13	28
Positivo	12	18
Negativo	1	10
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.400 (0.227 - 0.594)	
Especificidad (IC 95%)	0.909 (0.587 - 0.998)	
VPP (IC 95%)	0.923 (0.640 - 0.998)	
VPN (IC 95%)	0.357 (0.186 - 0.559)	
I. Youden	0.309	
Kappa (IC 95%)	0.208 (0.016 - 0.399)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Phl p7, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a Salsola es ≥ 0.06 KU/l, área bajo la curva (0.618: capacidad predictiva moderada), sensibilidad (0.40) y especificidad (0.90), VPP: 9.23 K: 0.208 I. Youden 0.309 (Imagen 23).

D) Curva AUC Phl p12/Bousquet Salsola:

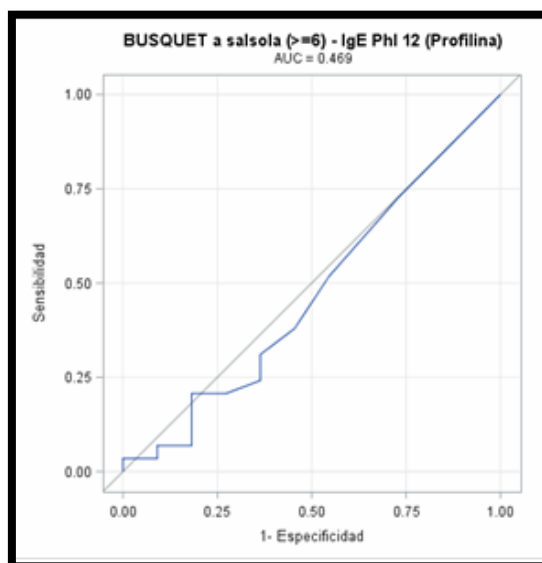


Imagen 24. Curva AUC_Phlp12 /Bousquet Salsola

Tabla 54. Curva AUC Phl p12/Bousquet Salsola.

Provocación Nasal Gramíneas (>=6):		Punto de corte (>=21.1)
Total no-missing	1	39
Positivo	1	28
Negativo	0	11
Missing	0	0
Sensibilidad (IC 95%)	0.034 (0.001 - 0.178)	
Especificidad (IC 95%)	1.000 (0.715 - 1.000)	
VPP (IC 95%)	1.000 (0.025 - 1.000)	
VPN (IC 95%)	0.282 (0.150 - 0.449)	
I. Youden	0.034	
Kappa (IC 95%)	0.019 (-0.020 - 0.058)	

El punto de corte para el valor de la IgE específica a Phl p12, que mejor discrimina entre pacientes con provocación nasal positiva a Salsola es ≥ 21.1 KU/l, presenta un área bajo la curva (0.469: una capacidad predictiva nula), sensibilidad (0.034), especificidad (1.00), VPP: 1.00 K: 0.019 I. Youden 0.034 (Imagen 24).

6. Discusión.

La alergia respiratoria es una patología prevalente en nuestra región y una de las razones más importantes de consulta, tanto en atención primaria como especializada.

Comenzando por los aspectos socio-demográficos, los pacientes del estudio atendidos en nuestra consulta de Alergología tenían una edad promedio de 35 años, con un amplio rango entre 16 y 62 años, y una proporción algo mayor de mujeres. La vivienda es urbana en la mayoría de los casos, contrastando así con la idea de que los pacientes cuya vivienda es rural podrían estar más expuestos o sensibilizados a pólenes. Con respecto a la profesión, no hemos encontrado ninguna especialmente relevante aunque sí pudimos observar que los estudiantes, las amas de casa y las limpiadoras son los que más acuden a revisión.

Dichos datos son similares a estudios observacionales previos en los que se objetiva un aumento de patología alérgica en gente mayormente joven, con vivienda en área urbana y en cuyos trabajos se ve expuesta a un mayor contacto con sustancias químicas e irritantes, capaces de exacerbar el cuadro sintomático.

Es importante recalcar el aumento de incidencia de la patología alérgica en áreas urbanas, lo que podría ser debido primariamente a la geografía y clima de nuestras ciudades/pueblos (6, 57), además de la contaminación, sustancias químicas (material particulado y componentes gaseosos como dióxido de nitrógeno y ozono) y por factores desencadenantes biológicos (aeroalérgenos) (98). Todo ello juega un papel importante en la exacerbación y la predisposición para la sensibilización a neumoalérgenos.

Un 47.6% de los pacientes llevaba de 2 a 5 años de evolución de su patología alérgica antes de ser valorado por un especialista en alergología, un 52.3% más de 5 años o bien presentaba síntomas desde la infancia. Este es un dato relevante que nos demuestra que la rinitis alérgica es una patología infradiagnosticada, infravalorada y, en muchas ocasiones, infratratada. Además, cuanto más se tarde en efectuar el diagnóstico y el tratamiento, mayor es la probabilidad de encontrar al paciente con asma, alergia alimentaria o polisensibilización (49-51).

Clasificando por intensidad hemos observado una proporción de 28.6% de rinitis moderada/grave intermitente y 40.5% moderada/grave persistente. Dicho diagnóstico se ha confirmado con las encuestas de calidad de vida ESPRINT, que alcanzaron una puntuación media de 42.8 (Min-Max: 6 a 78 puntos), lo que puede interpretarse como una afectación moderada de la calidad de vida (tabla 13).

A la vista de lo expuesto podemos inferir que, en nuestra área asistencial, los pacientes acuden por primera vez a la consulta de Alergología con una rinitis avanzada y poco controlada.

El 40.5% de los pacientes refería, además, asma en la primera visita, y había iniciado el tratamiento con broncodilatadores de acción corta prescrito por su médico de atención primaria o por su cuenta. Asimismo, observamos en algún caso, la asociación de corticoides inhalados pero con un escaso cumplimiento de la pauta de administración de dichos fármacos. Se confirmó la falta de control, ya que tras realizar la ACT (encuesta de control de asma) obtuvimos una media de 18 puntos (Min-Max: 8-27) lo que puede interpretarse como falta de control (control = >19 puntos). Todo ello se traduciría tanto en un impacto en la calidad de vida como en la progresión de la patología alérgica tal como se mencionó previamente.

A continuación, una vez realizada la historia clínica y las encuestas hemos pasado al estudio alergológico. En primer lugar se han efectuado pruebas cutáneas en prick test con la batería de neumoaérgenos habituales. Se ha considerado como criterio de inclusión en el presente estudio para el 100% de los pacientes, la obtención de un resultado positivo con los extractos de polen de Olivo, Salsola, Gramíneas mezcla y Phleum. Adicionalmente, se han tenido en cuenta las pruebas cutáneas para panalérgenos, encontrando positividad para Polcalcina en un 16.7%, Profilina en un 14.3% y LTP 9.5%. Nos hemos encontrado aquí con el primer reto diagnóstico, dado que una de las principales dificultades consiste en diferenciar una monosensibilización de una polisensibilización como causante de la clínica alérgica.

Por otra parte, la polcalcina es un panalérgeno involucrado en la polisensibilidad a pólenes mientras que la profilina y la LTP están implicadas en la reactividad cruzada polen-alimentos. Todo esto nos ha llevado a pensar que, en cierta medida, algún porcentaje de los pacientes presentaría una reactividad cruzada más que una sensibilización real frente a los pólenes testados (49-51).

Siguiendo el estudio utilizamos las pruebas *in vitro* ya que la IgE específica constituye una herramienta muy útil para el diagnóstico de hipersensibilidad. Así, hemos encontrado positividad para IgE *Ole e1* en 82.9%, *Phl p1* en 82.9%, *Phl p5* en 35%, *Phl p11* en 20%, *Sal k1* en 90%, *Salsola spp* en 95.1%. Panalérgenos *Phl p7 (polcalcina)*: 14.6%, *Phl p12 (profilina)*:15%.

Observamos que el porcentaje de positividad para IgE específica frente a panalérgenos fue muy similar al de la prueba cutánea, lo que nos ratifica que puede ser suficiente realizar la primera en la mayoría de los casos.

(% POSITIVOS)	PRUEBA CUTANEA	IGE ESPECIFICA
POLCALCINA (Phl P7)	16.7%	14.6%
PROFILINA (Phl P12)	14.3%	15%

Tabla 55. Comparación del porcentaje de positivos de prueba cutánea e IgE Específica para profilina y polcalcina

De los muchos determinantes antigénicos utilizados para el diagnóstico de sensibilización a Gramíneas disponibles en nuestro laboratorio, la IgE específica que más correlación ha mostrado con los demás resultados es el *Phl p1* con 82.9% en comparación a *Phl p5* 35%. La *Sal K1* en comparación con el extracto completo de *Salsola (Salsola spp)* nos ha dado un porcentaje similar de positivos 95.1% frente a 90%. Estas observaciones apuntarían a que, para ambas especies vegetales, la prueba cutánea positiva con el extracto completo constituiría junto a la historia clínica, una buena aproximación diagnóstica inicial. Ello significaría que no sería necesario utilizar determinantes antigénicos en la mayor parte de los pacientes, lo que repercutiría positivamente en la agilidad del proceso diagnóstico y en el gasto sanitario.

La estacionalidad de los síntomas es un dato muy importante y orientativo, a la hora del diagnóstico, en pacientes con sensibilización a múltiples pólenes. Sin embargo, en otros casos puede sumar dificultades. En nuestra región, la polinización del Olivo, Gramíneas y Salsola se solapan una con otra entorpeciendo así la distinción entre las tres. Además, en una rinoconjuntivitis alérgica avanzada nos vemos ante el efecto priming, los cambios (lluvias, sequía, temperatura etc.) sujetos al clima/polinización (7,95-98), contaminación, otras sensibilizaciones o cofactores que pueden influir en la manifestación de síntomas. En este sentido, el calendario sintomático rellenado por los pacientes del presente estudio, ha mostrado que prácticamente el 100% tiene manifestaciones clínicas de abril a junio, lo que concuerda con los picos de polinización de Olivo, gramíneas y Salsola, recogidos por nuestro captador de pólenes (Imágenes 9-11). Asimismo, un 16.7% de los pacientes presentaba clínica en agosto y un 26.2% en septiembre lo que se podría relacionar con el segundo pico de polinización de la Salsola. Finalmente, un 16.7% tenía síntomas perennes influidos por los factores previamente citados. Todo ello nos conduce a contemplar que la polisensibilización real a pólenes es muy frecuente en nuestra Comunidad Autónoma frente a otras. Por otra parte, en los últimos años, se ha observado una implicación mayor del polen de Salsola (amarantáceas-chenopodiáceas) en la aparición de patología alérgica respiratoria de regiones como Murcia, Valencia y Andalucía (4,6). Dado que esta especie vegetal es característica de las zonas áridas o semiáridas, el aumento de su presencia nos estaría indicando el avance de la desertización y, yendo más allá, los efectos del cambio climático.

Tras llevar a cabo la primera fase del estudio alergológico, hemos pasado a efectuar la Prueba de Exposición Nasal a los extractos de Gramíneas, Olivo y Salsola con el fin de reproducir síntomas e intentar verificar una sensibilización real a estos 3 pólenes. Con este fin se utilizaron una escala subjetiva (escala de síntomas Bousquet) y 2 escalas objetivas (Rinometría acústica y PNIF), cuyo protocolo y metodología se ha comentado previamente (apartado 1.5.4 y 5.3.4).

Al agrupar los resultados de las pruebas de provocación nasal nos hemos encontrado con que el 54.76% de los pacientes reaccionan frente a los 3 extractos (Gramíneas, Olivo y Salsola), el 30.95% lo hacen con 2 de ellos, el 7.15% responden a 1 y un 7.14%

presentan resultado negativo para los 3 alérgenos. Considerando conjuntamente los pacientes con respuesta positiva a 2 ó 3 de los extractos se obtiene un valor de 85.71%, mientras que menos del 15% o bien no reacciona o lo hace solamente frente a 1 antígeno. Dichos hallazgos concuerdan con los de otros estudios (19-20, 22) y confirman que en nuestra área la polisensibilización es real, no consecuencia de la reactividad cruzada. Además, la existencia de una historia clínica compatible, junto a pruebas cutáneas y/o IgE específica positivas y concordantes con los recuentos de pólenes del captador, podrían ser criterios suficientes para prescribir inmunoterapia específica en el 86% de los pacientes (Imágenes 25 y 26).

PROVOCACIONES NASALES POSITIVAS	Nº PACIENTES	PORCENTAJE (%).
GRAMÍNEAS	1	2,38%
OLIVO	0	0%
SALSOLA	2	4,77%
GRAMÍNEAS+OLIVO	7	16,67%
OLIVO+SALSOLA	6	14,28%
GRAMÍNEAS+SALSOLA	0	0%
OLIVO+GRAMÍNEAS+SALSOLA	23	54,76%
PROVOCACIONES NEGATIVAS (A LOS 3 EXTRACTOS)	3	7,14%
TOTALES	42	100

Tabla 56. Resultado de provocaciones nasales agrupadas respecto a Positividad para 0, 1, 2 y 3 extractos alérgicos (Gramíneas, Olivo y Salsola).

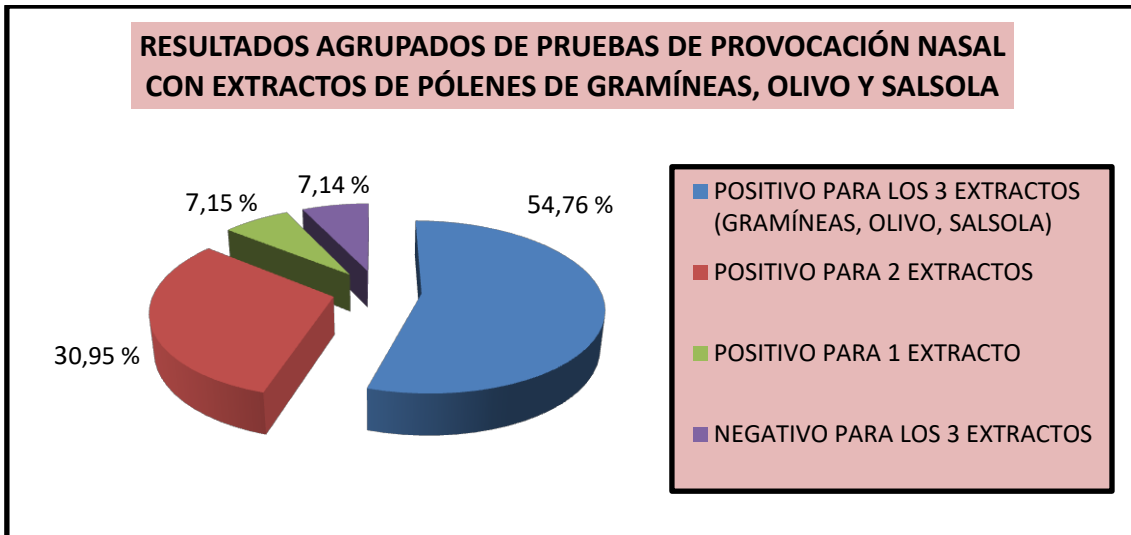


Imagen 25. Resultados de la provocación nasal agrupados en respuesta positiva 0, 1, 2 y 3 extractos.

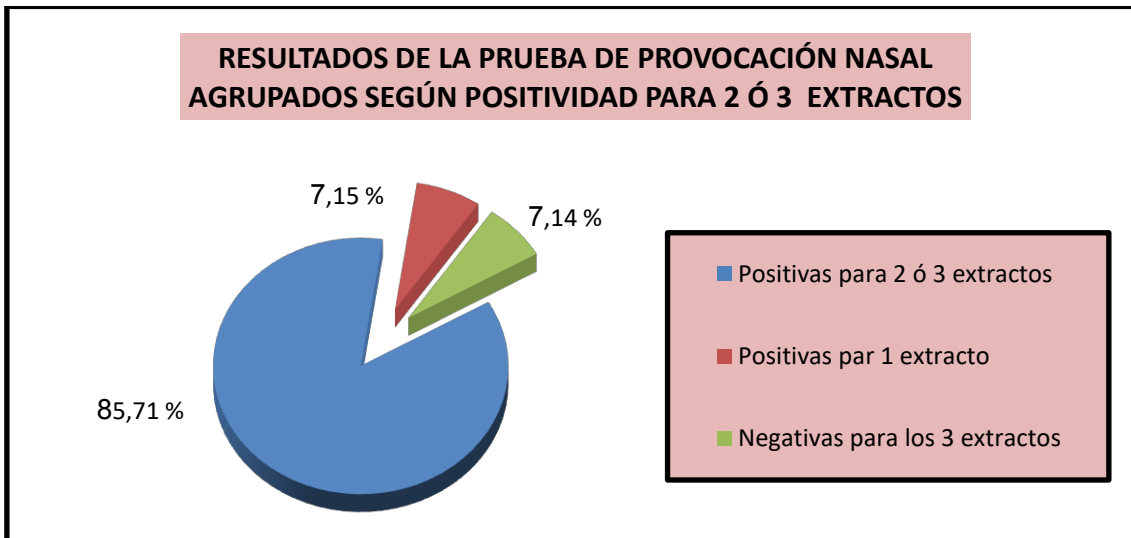


Imagen 26. Imagen con agrupación de resultados de la Prueba de Provocación Nasal positivos para 2-3 extractos.

En cuanto al análisis por separado para cada extracto hemos observado una positividad para Gramíneas en el 73.8%, con Olivo en un 85.7% y con Salsola en el 79.5%.

Se ha constatado que existe una sensibilidad alta al extracto de Olivo ya que el 40.8% de los pacientes ha presentado una provocación positiva con la dilución 1/100, en contraste con las Gramíneas cuyo resultado ha sido positivo en el 11.9% al aplicar la misma concentración y con Salsola se alcanzó un 10.26%. Así pues, se necesitó una concentración mayor con Salsola, es decir, aplicar el extracto sin diluir (1/1) para

obtener una provocación positiva (35.9%) (Tabla 18-20). Por lo tanto, se necesitó menos concentración de alérgeno de Olivo en comparación con Gramíneas y Salsola para reproducir la sintomatología en los pacientes.

Sin embargo, cabe destacar que los síntomas producidos han sido más intensos con el extracto de gramíneas, obteniéndose un 9.2 en la escala de síntomas en comparación con 7.23 para Olivo y un 6.75 para Salsola. Durante las provocaciones se registró una crisis de hiperreactividad bronquial y exacerbación de los síntomas de forma tardía con el extracto de Gramíneas.

Según lo expuesto hasta ahora, hemos utilizado todas las herramientas disponibles en una consulta habitual de Alergología. Podemos observar así cómo se ha ido agudizando el enfoque a medida que se han sumado los diferentes métodos diagnósticos. Hemos partido de una historia clínica compatible, clasificando por la intensidad de la patología así como por el control de ésta. Como primera aproximación diagnóstica hemos utilizado las pruebas cutáneas siendo estas positivas en el 100% de los pacientes. Ante la posibilidad de una polisensibilización hemos pasado a la siguiente herramienta diagnóstica, o sea las pruebas in vitro, observando que no todas eran positivas. Todo ello nos ha llevado a continuar el proceso diagnóstico de confirmación con la provocación nasal, que como se ha podido observar nos ha mostrado un resultado aún menor en comparación con la prueba cutánea y la IgE.

	PRUEBA CUTÁNEA	IGE ESPECIFICA	PROVOCACIÓN NASAL
GRAMÍNEA	100%	82.9% (Phl p1) 35% (Phl p5) 20% (Phl p11)	73.8%
OLIVO	100%	82.9% (Ole e1)	85.7%
SALSOLA	100%	95.1%(Salsola spp) 90% (Sal k1)	79.5%

Tabla 57. Comparación del porcentaje de positivos de prueba cutánea, IgE Específica y provocación nasal para Olivo, gramínea y Salsola

Hasta ahora el Gold Standard ha sido la prueba de provocación nasal específica pero tiene unos puntos débiles: el personal debe estar familiarizado con la técnica, el tiempo que conlleva la ejecución de la prueba, el material necesario (Rinómetro acústico, PNIF, etc.) y la falta de estandarización del extracto para provocación nasal. Dichos aspectos dificultan la realización de esta exploración en la consulta habitual de Alergología, por lo que frecuentemente su utilización se restringe a centros especializados o con fines de investigación.

Hemos constatado en el presente estudio que las pruebas cutáneas tienen alta sensibilidad pero baja especificidad y escaso valor predictivo positivo. Estos datos se deben a que la positividad en el 100% de las pruebas cutáneas (Olivo, gramíneas y Salsola) se consideró un criterio de inclusión.

De todas las IgE específicas disponibles de Gramíneas (Phl p1, Phl p5, Phl p11), las que mejor correlación han mostrado con los resultados obtenidos en la provocación nasal para extracto de Gramíneas son Phl p1 y Phl p 5. Han presentando valores similares de sensibilidad y especificidad aunque muestran un bajo nivel de concordancia (Índice Kappa y Youden bajos: apartado 5.4.1) y una capacidad predictiva moderada (apartado 5.5.1).

Estos resultados concuerdan con los de otros investigadores así como con los publicados por "Molecular Allergy User's Guide" (99). Al compararlos con los hallazgos de nuestro estudio se observa una sensibilización a Phl p1 similar (Phl p1: entre 83-95 %) y algo mayor para Phl p5 (50-95% Vs 35%), siendo así los dos alérgenos mayoritarios en el diagnóstico de alergia al polen de gramíneas.

Sin embargo, en climas templados se puede presentar una reactividad cruzada amplia entre diferentes componentes pertenecientes a varios tipos de polen dentro de la familia de las gramíneas. Es por eso necesario y recomendable objetivar la existencia de sensibilización a panalérgenos como la polcalcina (phl p7), profilina (Phl p12) y Phl p11 que orientarían a la existencia de reactividad cruzada entre diferentes subfamilias de polen.

No hemos encontrado pues ninguna prueba diagnóstica (prueba cutánea ni IgE) que tenga una concordancia lo suficientemente fuerte con los resultados de provocación nasal. Hallamos un I. Youden bajo, así como una fuerza de concordancia (K) pobre o

nula tanto para las diferentes pruebas cutáneas, como para las diversas IgE incluyendo los panalérgenos (profilina, polcalcina y LTP) (capítulo 5.4). Las excepciones a estos datos serían *Ole e1* y *Sal k1* con las cuales observamos una alta sensibilidad y VPP, una no tan baja especificidad, una concordancia (K) leve y un moderado-bajo I. Youden (tabla 32 y 40). Estos dos determinantes podrían resultar útiles a la hora del diagnóstico como dato complementario, pero nunca por sí solos.

Como capacidad predictiva (capítulo 5.5) para los valores de IgE específica y los resultados de la provocación nasal hemos observado:

- Capacidad predictiva moderada para *Phl p1*, *Phl p5*, *Phl p7* (*polcalcina*), *Phl p11*, *Phl p12* respecto a la Provocación Nasal con Extracto de Gramíneas.
- Capacidad predictiva moderada para *Ole e1*, fuerte para *Phl p7* e inexistente para *Phl p12* (*profilina*) referidos a la Provocación Nasal con Extracto de Olivo.
- Capacidad predictiva moderada para *Salsola spp*, *Sal k1*, *Phl p7* e inexistente para *Phl p12* (*profilina*) con relación a la Provocación Nasal con Extracto de Salsola.

Vemos así que la capacidad predictiva de las diferentes IgE para Gramíneas es moderada con todos sus determinantes, no obteniendo así uno específico. Para Olivo el *Ole e1* como la *Phl p7* (*polcalcina*) nos dan una capacidad predictiva moderada así como para Salsola la *Salsola spp*, *Sal k1* y *Phl p7* (*polcalcina*).

Observamos una correlación entre los pacientes con una *polcalcina* positiva (prueba cutánea o IgE específica) y una provocación nasal positiva frente los 3 Pólenes (Gramíneas, Olivo y Salsola). No ocurre lo mismo con la *profilina*, lo que nos orientaría hacia la existencia de una polisensibilidad sintomática real para estos 3 antígenos. Este hecho queda reflejado en los resultados de la Prueba de Exposición Nasal que son positivos para Olivo + Gramíneas + Salsola en un 54.76% (tabla 56, Imagen 25).

Constatamos así la utilidad de la provocación nasal en el estudio de la polisensibilización como una herramienta que podría aumentar la precisión del

diagnóstico y así permitir la elaboración de un tratamiento profiláctico individualizado para cada paciente. Este hecho es especialmente importante en regiones como la nuestra, donde los factores geográficos y ambientales juegan un papel muy destacado en la predisposición a desarrollar alergia respiratoria a múltiples pólenes.

Vemos, por lo tanto, que los instrumentos disponibles en la consulta habitual de alergología son útiles para la elaboración de un diagnóstico acertado pero no siempre resultan suficientes. Es por eso por lo que el alergólogo y su consulta deberán subespecializarse e instrumentalizarse cada vez más, para el mejor manejo de pacientes complejos, como lo son aquellos que presentan polisensibilización.

7. Conclusiones.

Conclusión 1. Elaboración de Algoritmos de decisión. Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, en aquellos pacientes sensibilizados a varios pólenes y tras determinar los candidatos a tratamiento con Inmunoterapia específica, proponemos el Algoritmo de Decisión en la Práctica Clínica Habitual que aparece a continuación (Imagen 27).

- La aproximación diagnóstica inicial incluiría la Historia Clínica detallada, pruebas cutáneas y escalas de síntomas que los comparasen y relacionasen con los resultados obtenidos con el captador de polen (Calendario de Síntomas/Recuentos de Pólenes).
- La segunda fase incluiría la realización del estudio in vitro.
- En la tercera etapa se llevaría a cabo la Prueba de Exposición nasal con los extractos antigénicos.

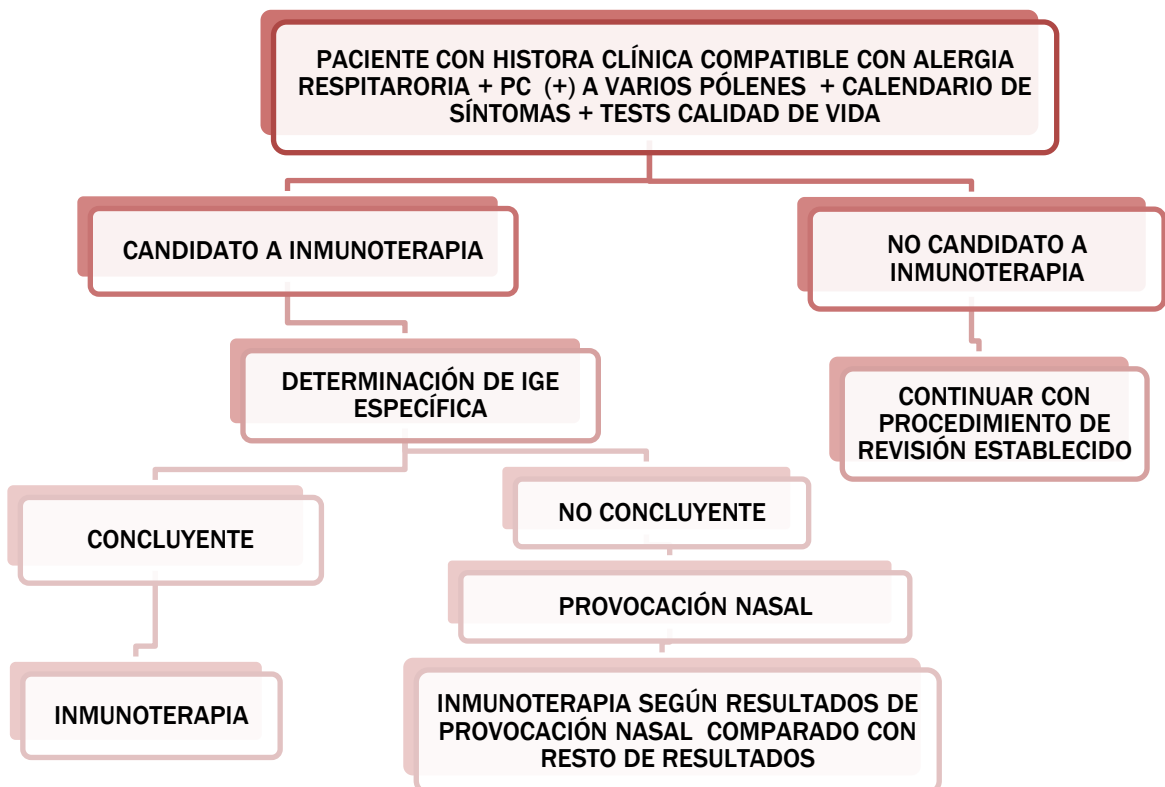


Imagen 27. Algoritmo de decisión en pacientes polisensibilizados a Pólenes

Conclusión 2. La escasa concordancia de los resultados de las diferentes pruebas diagnósticas (Pruebas Cutáneas y Niveles de IgE Específica) consideradas individualmente, con los de la prueba de provocación nasal nos indicaría que son necesarias varias de ellas para aumentar la potencia en los pacientes con sensibilización múltiple a pólenes. La excepción de *Ole e1* y *Sal k1* con las cuales hemos observado una alta sensibilidad y VPP, una no tan baja especificidad, una concordancia (K) leve y un moderado-bajo I. Youden (Tablas 32 y 40) nos confirma este planteamiento, es decir, que pueden resultar útiles a la hora del diagnóstico como dato complementario, pero nunca por sí solos.

Conclusión 3. Acerca del estudio de panalérgenos. La polcalcina resultó relevante para la predicción de positividad, ya que en este estudio se observó una provocación nasal positiva a los 3 extractos en los pacientes con polcalcina positiva (pruebas cutáneas y/o IgE específica positivas) mientras que no fue así para la profilina. A pesar de esto, muchos pacientes presentaron un resultado positivo en la prueba de provocación nasal para los 3 extractos alérgicos sin tener una polcalcina positiva. Dichos hallazgos, valorados en conjunto, nos conducirían a:

- Considerar la existencia en nuestra área de una polisensibilidad sintomática real para estos 3 pólenes de diferentes familias vegetales, lo que concuerda con otros estudios llevados a cabo en zonas geográficas con climatología similar.
- Valorar el papel de los panalérgenos (profilina principalmente y polcalcina) como factor de confusión diagnóstica en pacientes polisensibilizados a antígenos de polen.
- El panalérgeno polcalcina podría ser causa de reactividad cruzada entre los 3 pólenes en una minoría de los pacientes.
- A diferencia de otros estudios, en el nuestro, el panalérgeno profilina no ha guardado relación entre las pruebas diagnósticas (IgE/Prick) y provocación nasal a gramíneas.

Conclusión 4. Es necesario investigar la relación existente entre los parámetros clínicos/demográficos de los pacientes y los resultados obtenidos con cada prueba. De este modo, la geografía y botánica de nuestra región juegan un papel importante en la

patología alérgica. Todo ello significa que las condiciones climáticas generan un ecosistema capaz de albergar una diversidad de flora que daría lugar con relativa facilidad a la polisensibilización de los pacientes lo que, a su vez, se refleja en una sintomatología respiratoria alérgica florida y diversa. Los mencionados aspectos nos obligan pues a buscar herramientas más específicas para mejorar el diagnóstico y el tratamiento.

Conclusión 5. Sobre la necesidad de realizar la Prueba de Provocación Nasal. Hemos referido anteriormente que los resultados positivos obtenidos con las pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica pueden resultar útiles pero son insuficientes por sí solos como valores predictivos y de correlación. Todo ello nos conduce a que:

- La Prueba de Provocación o Exposición nasal sería una herramienta necesaria en casos de polisensibilidad, no solo para identificar el/los alérgeno/s causal/es sino, además, para comparar y analizar con datos objetivos la sensibilidad y clínica producida por éste/os. Dichos datos nos ayudarían en gran medida elaborar una inmunoterapia más específica y orientada al grado de enfermedad de cada paciente.
- Ante el rendimiento diagnóstico menor de lo esperado de la prueba de provocación nasal, que dificulta su interpretación en algunos pacientes, se deberían estandarizar los extractos alérgicos y protocolizar las técnicas disponibles en los Servicios/Unidades de Alergología con la finalidad de aumentar su reproductibilidad y fiabilidad mejorando así la potencia diagnóstica. Para ello sería necesario registrar los valores del grupo de controles sanos y pacientes alérgicos para cada tipo de antígenos.

Conclusión 6. Sobre la situación actual y las perspectivas futuras. A la vista de los datos y dadas las características de los pacientes de nuestra área perteneciente a la Región de Murcia, que se encuentra ubicada en la vertiente mediterránea de nuestro país, consideramos que:

- Serían necesarios estudios similares tanto en España como al nivel internacional en zonas de características análogas. Estos trabajos de investigación nos ayudarían a unificar criterios de diagnóstico, modalidades de tratamiento, valorar las repercusiones del cambio climático, etc. lo que contribuiría, en definitiva, a mejorar la salud de los pacientes.
- Es necesaria la concienciación de los pacientes y del resto de profesionales médicos acerca de la importancia de la rinitis y asma alérgico por sensibilización a pólenes y del diagnóstico precoz de estos procesos para obtener el mayor beneficio terapéutico posible. Todo ello repercutirá directamente en el aumento de la calidad de vida de las personas afectadas y en la disminución del gasto sanitario.
- Como ampliación de este estudio propondríamos valorar la respuesta al tratamiento individualizado administrado, con el fin de comparar su eficacia frente al prescrito de la forma habitual. Asimismo se llevaría a cabo una nueva provocación nasal frente a los diferentes extractos, comparando los resultados obtenidos.

Bibliografía

1. SANED. Manejo Práctico de la Inmunoterapia. 2ª ed. MADRID; 1992.
2. Bauchau V, Durham SR. Prevalence and rate of diagnosis of allergic rhinitis in Europe. *Eur Respir J*. 2004; 24(5):758-64
3. Pereira C, Valero A, Loureiro C, Davila I, Martinez-Cocera, Murio C, Rico P, Palomino R. Iberian study of aeroallergens sensitisation in allergic rhinitis. *Allerg Immunol*. 2006; 38:186-1
4. Alergológica 2015. Factores Epidemiológicos Clínicos y Socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2015. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica y Alergia e Inmunología Clínica. (Eds). Madrid 2015.
5. Bacal E, Zeiss CR, Suszko I, Levitz D, Patterson R. Polymerized whole ragweed: an improved method of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1978; 62(5):288-94
6. Elvira-Rendueles, B., et al., Aerobiological importance and allergic sensitization to Amaranthaceae under arid climate conditions, *Sci Total Environ* (2017).
7. Vidal C, Enrique E, Gonzalo A, Moreno C, Tabar AI, Expert Clinical Participants. Diagnosis and allergen immunotherapy treatment of polysensitized patients with respiratory allergy in Spain: an Allergists' Consensus. *Clin Transl Allergy*. 2014;4:36. doi: 10.1186/2045-7022-4-36
8. Hendrix SG, Patterson R, Zeiss CR, Suszko IM. Further studies on the safety of polymerized antigens for immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 67(2):124-8.
9. Grammer LC, Shaughnessy MA, Bernhard MI, Finkle SM, Pyle HR, Silvestri L, et al. The safety and activity of polymerized ragweed: a double-blind, placebo-controlled trial in 81 patients with ragweed rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 80(2):177-83.
10. Grammer LC, Shaughnessy MA, Finkle SM, Shaughnessy JJ, Patterson R. Safety and immunogenicity of immunotherapy with polymerized tree, grass, and ragweed

in patients with multiple inhalant sensitivities. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 77(1 Pt 1):53-8.

11. Grammer LC, Shaughnessy MA, Finkle SM, Shaughnessy JJ, Patterson R. A double-blind placebo-controlled trial of polymerized whole grass administered in an accelerated dosage schedule for immunotherapy of grass pollinosis. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78(6):1180-4.

12. Grammer LC, Shaughnessy MA, Holmquist LS, Pruzansky JJ, Patterson R. Polymerization and fractionation of house dust mite allergen. *Allergy Proc* 1993; 14(3):195-9.

13. Grammer LC, Shaughnessy MA, Patterson R. Modified forms of allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76:397-401

14. Grammer LC, Shaughnessy MA, Patterson R. Standardization of modified allergens using polymerized ragweed as a model system. *Clin Rev Allergy* 1987; 5(1):107-16.

15. Grammer LC, Shaughnessy MA, Shaughnessy JJ, Patterson R. Safety and immunogenicity of immunotherapy with accelerated dosage schedules of polymerized grass and ragweed in patients with dual inhalant sensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83(4):750-6.

16. Grammer LC, Shaughnessy MA, Shaughnessy JJ, Silvestri L, Patterson R. Allergenicity, immunogenicity, and safety of immunotherapy with various molecular weight ranges of polymerized ragweed. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76(2 Pt 1):195-200.

17. Grammer LC, Shaughnessy MA, Suszko IM, Shaughnessy JJ, Patterson R. A double-blind histamine placebo-controlled trial of polymerized whole grass for immunotherapy of grass allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 72(5 Pt 1):448-53.

18. Casquete-Roman E, Rosado-Gil T, Postigo I, Guisantes JA, Fernandez M, Torres HE, et al. Profilin cross-reactive panallergen causes latex sensitization in the

pediatric population allergic to pollen. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2012; 109(3):215-9.

19. Sastre J, Landivar ME, Ruiz-García M, Andregnette-Rosigno MV, Mahillo I. How molecular diagnosis can change allergen-specific immunotherapy prescription in a complex pollen area. *Allergy*. 2012 May;67(5):709-11

20. Moreno C, Justicia JL, Quiralte J, Moreno-Ancillo A, Iglesias-Cadarso A, Torrecillas M, Labarta N, García MA, Dávila I. Olive, grass or both? Molecular diagnosis for the allergen immunotherapy selection in polysensitized pollinic patients. *Allergy*. 2014 Oct;69(10):1357-63.

21. Tscheppe A, Breiteneder H. Recombinant Allergens in Structural Biology, Diagnosis, and Immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2017;172(4):187-202.

22. Douladiris N, Savvastianos S, Roumpedaki I, Skevaki C, Mitsias D, Papadopoulos NG. A molecular diagnostic algorithm to guide pollen immunotherapy in southern Europe: towards component-resolved management of allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;162(2):163-72. doi: 10.1159/000353113. Epub 2013 Jul 31.

23. Gotoh M, Kaminuma O, Nakaya A, Katayama K, Motoi Y, Watanabe N, Saeki M, Nishimura T, Kitamura N, Yamaoka K, Okubo K, Hiroi T. Identification of biomarker sets for predicting the efficacy of sublingual immunotherapy against pollen-induced allergic rhinitis. *Int Immunol*. 2017 Jun 1;29(6):291-300

24. Wuthrich B, Schindler C, Leuenberger P, Ackermann-Liebrich U. Prevalence of atopy and pollinosis in the adult population of Switzerland (SAPALDIA study). *Swiss Study on Air Pollution and Lung Diseases in Adults*. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 106(2):149-56.

25. Blackley C. *Experimental Researches on the Nature and Causes of Catarrhus Aestivus*. : London: Bailliere, Tindal & Cox;; 1873.

26. Patterson R, Suszko IM, Grammer LC. Polymerized soluble venom--human serum albumin. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 75(3):382-7.

27. Patterson R, Suszko IM, Grammer LC, Shaughnessy MA. Polymerization of individual species of grass pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 72(2):129-33.
28. Patterson R, Suszko IM, McIntire FC. Polymerized ragweed antigen E. I. Preparation and immunologic studies. *J Immunol* 1973; 110(5):1402-12.
29. Patterson R, Suszko IM, Pruzansky JJ, Zeiss CR, Metzger WJ, Roberts M. Polymerization of mixtures of grass allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 59(4):314-9
30. Patterson R, Suszko IM, Zeiss CR, Pruzansky JJ. Development and evaluation of polymerized allergens for immunotherapy. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1981; 66 Suppl 1:293-6
31. Patterson R, Suszko IM, Zeiss CR, Pruzansky JJ, Bacal E. Comparison of immune reactivity to polyvalent monomeric and polymeric ragweed antigens. *J Allergy Clin Immunol* 1978; 61(1):28-35
32. Zeiss CR, Ungs CJ, Levitz D, Suszko IM, Patterson R. The immune response of patients with ragweed hay fever treated with polymerized ragweed antigens. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 63(4):273-5.
33. Moran DM, Wheeler AW. Chemical modification of crude timothy grass pollen extract. I. Antigenicity and immunogenicity changes following amino group modification. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1976; 50(6):693-708.
- (34). Moran DM, Wheeler AW, Overell BG, Woroniecki SR. Chemical modification of crude timothy grass pollen extract. III. The effect of glutaraldehyde-induced aggregation on antigenic and immunogenic properties. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1977; 54(4):315-21.
35. Nakada S, Ito K, Urata C, Sakamoto Y, Hasegawa M, Nakagawa T, et al. Allergenicity and immunogenicity of house-dust mite (*Dermatophagoides farinae*) antigens treated with glutaraldehyde. *Ann Allergy* 1985; 54(5):437-41

36. Bousquet J, Frank E, Soussana M, Hejjaoui A, Maasch HJ, Michel FB. Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with a high-molecular-weight, formalinized allergoid in grass pollen allergy. *Int-Arch-Allergy-Appl-Immunol* 1987; 82(3-4):550-2.
37. Bousquet J, Hejjaoui A, Skassa-Brociek W, Guerin B, Maasch HJ, Dhivert H, et al. Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. I. Rush immunotherapy with allergoids and standardized orchard grass-pollen extract. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 80(4):591-8.
38. Bousquet J, Maasch HJ, Hejjaoui A, Skassa-Brociek W, Wahl R, Dhivert H, et al. Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. III. Efficacy and safety of unfractionated and high-molecular-weight preparations in rhinoconjunctivitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84(4 Pt 1):546-56.
39. Bousquet J, Maasch H, Martinot B, Hejjaoui A, Wahl R, Michel FB. Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. II. Comparison between parameters assessing the efficacy of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82(3 Pt 1):439-46.
40. Bousquet J, Hejjaoui A, Soussana M, Michel FB. Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. IV. Comparison of the safety and efficacy of two dosages of a high-molecular-weight allergoid. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85(2):490-7.
41. Brandt R, Ponterius G, Yman L. The allergens of cat epithelia and cat serum. Comparative studies based on the radioallergosorbent technique (RAST). *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1973; 45(3):447-55.
42. Bodtger U, Poulsen LK, Jacobi HH, Malling HJ. The safety and efficacy of subcutaneous birch pollen immunotherapy - a one-year, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Allergy* 2002; 57(4):297-305.

43. Casanovas M, García-Sellés J, Hernández J, Ruiz A, Gómez M, Fernández-Caldas E. Safety and Efficacy of Immunotherapy with a New Standardized Depigmented and Glutaraldehyde-Polymerized Extract of *Parietaria judaica* Pollen. *Allergy* 2000; 55 Suppl 63:35.
44. Casanovas M, Gómez MJ, Cimarra M, Martínez-Cócerca C, Fernández-Caldas E. Immunotherapy with a standardized depigmented and glutaraldehyde-polymerized extract of *Phleum pratense*: safety and efficacy. *Allergy* 2001; 56, Suppl 68:92.
45. Casanovas M, Guerra F, Daza J, Almeda E, Ruiz A, Gómez M, et al. Safety and Efficacy of Immunotherapy with a Standardized Depigmented and Glutaraldehyde-Polymerized Vaccine of *Olea europaea*. *Allergy* 2000; 55 Suppl 63:34.
46. Giovane AL, Bardare M, Passalacqua G, Ruffoni S, Scordamaglia A, Ghezzi E, et al. A three-year double-blind placebo-controlled study with specific oral immunotherapy to *Dermatophagoides*: evidence of safety and efficacy in paediatric patients. *PG - 53-9. Clin Exp Allergy* 1994; 24(1).
47. Gomez Vera J, Flores Sandoval G, Orea Solano M, Lopez Tiro J, Jimenez Saab N. [Safety and efficacy of specific sublingual immunotherapy in patients with asthma and allergy to *Dermatophagoides pteronyssinus*]. *Rev Alerg Mex* 2005; 52(6):231-6.
48. Guerra F, Casanovas M, Daza JC, Almeda E, Ruiz A, Gómez MJ, et al. Safety and efficacy of immunotherapy with a standardized depigmented and glutaraldehyde-polymerized vaccine of *Olea europaea*. *J Allergy Clin Immunol* 2000:s312.
49. Warm K, Lindberg A, Lundback B, Ronmark E. Increase in sensitization to common airborne allergens among adults -- two population-based studies 15 years apart. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2013; 9(1):20.
50. Ciprandi G, Alesina R, Ariano R, Aurnia P, Borrelli P, Cadario G, et al. Characteristics of patients with allergic polysensitization: the POLISMAIL study. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2008; 40(3):77-83.

51. Ciprandi G, Cirillo I. Monosensitization and polysensitization in allergic rhinitis. *Eur J Intern Med* 2011; 22(6):e75-9.
52. Calderon MA, Cox L, Casale TB, Moingeon P, Demoly P. Multiple-allergen and single-allergen immunotherapy strategies in polysensitized patients: looking at the published evidence. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129(4):929-34.
53. Jutel M, Agache I, Bonini S, Burks AW, Calderon M, Canonica W, Cox L, Demoly P, Frew AJ, O'Hehir R, Kleine-Tebbe J, Muraro A, Lack G, Larenas D, Levin M, Nelson H, Pawankar R, Pfaar O, van Ree R, Sampson H, Santos AF, Du Toit G, Werfel T, Gerth van Wijk R, Zhang L, Akdis CA. International consensus on allergy immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Sep; 136(3):556-68.
54. Vidal C, Enrique E, Gonzalo A, Moreno C, Tabar AI; Expert Clinical Participants. Diagnosis and allergen immunotherapy treatment of polysensitized patients with respiratory allergy in Spain: an Allergists' Consensus. *Clin Transl Allergy*. 2014 Nov 7; 4:36.
55. Dordal Culla, M.T., Vega de la Osada, F., González Núñez, V. & González Gutiérrez, M.L. 2015. Rinitis alérgica. In: Dávila González, I.J., Jáuregui Presa, I., Olaguibel Rivera, J.M. & ZubeldiaOrtuño, J.M. *Tratado de Alergología*. SEAIC. 2ª Edición. Tomo II. (pp. 489-511). Ergon. Madrid
56. VV. AA. Rinitis-Conjuntivitis. En: Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Abelló, ed. *Alergológica. Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España*. Madrid:SEAIC. Carrillo S. A.; Abello SA. 1995. PP 55-58
57. Barranco Sanz P, Galán Labaca I, Cid Sánchez AB, Valls Sánchez A. Epidemiología y etiopatogenia del asma. *Tratado Alergol*. 2007;609-30.
58. Alcaraz, F., Sanchez-Gomez, P., de la Torre, A., 1991. Biogeografía de la provincia Murciano-Almeriense hasta el nivel de subsector. *Rivasgodaya* 6, 77–100.
59. Red Española de Aerobiología. Red Española de Aerobiología: rea@uco.es.

60. Netter F.H. Atlas de Anatomía Humana. Sección 1 Cabeza y Cuello. 5tª edición. Masson S.A. Barcelona. (2011).
61. Lebel B, Bousquet J, Morel A, Chanal I, Godard P, Michel FB. Correlation between symptoms and the threshold for release of mediators in nasal secretions during nasal challenge with grass-pollen grains. *J Allergy Clin Immunol.* 1988; 82 (5 Pt 1):869-77
62. Linder A. Symptom scores as measures of the severity of rhinitis. *Clin Allergy.* 1988; 18:29-37. 23.
63. Dordal MT, Sánchez MC, Rondón C, Navarro A, Montoro J, Matheu V, et al. Allergen-Specific Nasal Provocation Testing: Review by the Rhinoconjunctivitis Committee of the Spanish Society of Allergy and Clinical Immunology. 2011;21(1):1-12.
64. Hilberg O. Objective measurement of nasal airway dimensions using acoustic rhinometry: methodological and clinical aspects. *Allergy* 2002;57(Suppl 70):5-39.
65. Hilberg O, Jackson AC, Swift DL, Pedersen OF. Acoustic rhinometry: evaluation of nasal cavity geometry by acoustic reflection. *J Appl Physiol.* 1989;66:295-303
66. Protocolo de Rinometría Acústica. SEAIC. PR-CE-00 RINOMETRÍA ACÚSTICA. 25/04/2014 Versión: 01 Pág: 1-16
67. Hilberg O, Pedersen OF. Acoustic rhinometry: influence of paranasal sinuses. *J Appl Physiol.* 1996;80:1589-94.
68. Márquez F, Cenjor C, Gutiérrez R. Rinometría acústica en la población normal. *Acta Otorrinolaring.* 1996; 47 (2):121-4.
69. Corey JP, Gungor A, Nelson R, Liu X, Fredberg J. Normative standards for nasal cross-sectional areas by race as measured by acoustic rhinometry. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998; 119:389-93.

70. Garde JM, Marco N, García B. Papel de la rinometría acústica en la exploración de la rinitis alérgica en el niño. Valores de referencia en niños sanos. XXXVI Congreso de la SEICAP 2012.
71. Muñoz-Cano R, Valero A. Evaluación de la obstrucción nasal. Capítulo III: Rinometría acústica. MRA: Barcelona 2011. 41-57
72. Malm L, Gerth Van Wijk R, Bachert C. Guidelines for nasal provocations with aspects on nasal patency, airflow, and airflow resistance. International Committee on Objective Assessment of the Nasal Airways, International Rhinologic Society. *Rhinology*. 2000;38:1-6.—
73. Valero A, Amat P, Sanosa J, Sierra P, Malet A, Garcia PA: Hypersensitivity to wheat flour in bakers. *Allergol et Immunopathol*. 1988;16:309-14.
74. Airaksinen L, Tuomi T, Vanhanen M, Voutilainen R, Toskala E. Use of nasal provocation test in the diagnostics of occupational rhinitis. *Rhinology*. 2007;45:40-6.
75. Melillo G, Bonini S, Cocco G, Davies RJ, de Monchy JGR, Frolund L, Pelikan Z. EAACI provocation tests with allergens. Report prepared by the European Academy of Allergology and Clinical Immunology Subcommittee on provocation tests with allergens. *Allergy*. 1997;52(Suppl 35):1-35.
76. Litvyakova LI, Baraniuk JN. Nasal provocation testing: a review. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2001;86:355-65
77. Litvyakova LI, Baraniuk JN. Human nasal allergen provocation for determination of true allergic rhinitis: methods for clinicians. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2002;2:194-202.
78. Valero AL, Picado C. Pruebas de provocación nasal específicas. In: Valero AL, Fabra JM, Márquez F, Orús C, Picado C, Sastre J, Sierra JI. Manual de rinometría acústica. Barcelona: MRAMédica; 2000. p. 53-74.

79. J.C. García Robaina, V. Matheu Delgado, I. Sánchez Machín JSJP. Técnicas diagnósticas in vivo. *Tratado Alergol.* 2015;1:115-44
80. J Martínez Quesada, M.L Sanz, O. Luengo. Técnicas diagnósticas in vitro. *Tratado Alergol.* 2015;12, 201-233
81. Paganelli R, Ansotegui I, Sastre J, Lange CE, Roovers MHWM, de Groot H et al. Specific IgE antibodies in the diagnosis of atopic disease. Clinical evaluation of new in vitro test system in six European allergy clinics. *Allergy* 1998; 53:763-8.
82. Valenta R, Twaroch T, Swoboda I. Component-resolved diagnosis to optimize allergen-specific immunotherapy in the Mediterranean Area. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2007;17, Suppl. 1:88-92.
83. GEMA 2009 (Spanish guideline on the management of asthma). *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2010;20 Suppl 1:1-59
84. Valero A, Ferrer M, Sastre J, Navarro AM, Monclus L, Martí-Guadano E, et al. A new criterion by which to discriminate between patients with moderate allergic rhinitis and patients with severe allergic rhinitis based on the Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma severity items. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120:359-365.—
85. Valero A, Izquierdo I, Sastre J, Navarro AM, Baró E, Martí-Guadano E, et al. ESPRINT-15 questionnaire (Spanish version): Reference values according to disease severity using both the original and the modified ARIA classifications. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2013;23(1):14-9
86. Nathan RA, Sorkness CA, Kosinski M, Schatz M, Li JT, Marcus P, Murray JJ, Pendergraft TB. Development of the asthma control test: a survey for assessing asthma control. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Jan;113(1):59-65.
87. Valero A, Alonso J, Antepara I, Baro E, Colas C, del Cuvillo A, et al. Development and validation of a new Spanish instrument to measure health-related quality of life in patients with allergic rhinitis: the ESPRINT questionnaire. *Value Health* 2007; 10(6):466-77.

88. Asociación Médica Mundial AMM. (2008). Declaración de Helsinki. Recuperado en septiembre de 2008 en: <http://www.wma.net/s/ethicsunit/helsinki.htm>
89. AAVV. "Informe Belmont. Principios éticos y orientaciones para la protección de sujetos humanos en la experimentación". DHEW Publication No. (OS) 78-0012, 1978
90. España. Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. Boletín Oficial del Estado, 14 de diciembre de 1999, núm. 298, pp. 43088-43099
91. España. Real Decreto-ley 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos. Boletín Oficial del Estado de 7 de febrero de 2004, núm. 33, páginas 5429 -5443 (91)
92. A. Moral. C.J. Senent. Manual de aerobiología plantas, pólenes y proteínas. 1ª Edición. Toledo, 2016. Pag. 25-32.
93. A. Moral. C.J. Senent. Manual de aerobiología plantas, pólenes y proteínas. 1ª Edición. Toledo, 2016. Capitulo 2.6 Familia Oleaceae Pag:141-150
94. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Comité de Aerobiología. 2017 SEAIC - Comité de Aerobiología. www.polenes.com/quienes-somos
95. A. Moral. C.J. Senent. Manual de aerobiología plantas, pólenes y proteínas. 1ª Edición. Toledo, 2016. Capitulo 2.5 Familia Gramineae Pag:125-140
96. Sánchez-Mesa JA, Smith M, Emberling J, Allit E. Caulton E, Galán C. Characteristics of grass pollen season in areas of Southern Spain and United Kingdom. Aerobiología 2003; 19: 143-250
97. A. Moral. C.J. Senent. Manual de aerobiología plantas, pólenes y proteínas. 1ª Edición. Toledo, 2016. Capitulo 2.1 Familia Amaranthaceae Pag:65-74

98. Amato DM, Cecchi L, Amato DG. News on Climate Change , Air Pollution , and Allergic Triggers of Asthma. 2018;28(2):91-7.

99. P. Matricardi , J.Kleine-Tebbe, H. Jürgen, R. Valenta, M. Ollert. 2016, MOLECULAR ALLERGOLOGY USER'S GUIDE, Zurich Switzerland. The European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI). Cap. B02 Grass Allergy Pollen. Pag: 101-110