

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA DE BIOANÁLISIS

**DISERTACIÓN PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA EN
BIOANÁLISIS CLÍNICO**

**“PREVALENCIA DE ALERGIA A *DERMATO PHAGOIDES PTERONYSSINUS* Y
CASPA DE PERRO Y GATO EN ESCOLARES DE 5 – 12 AÑOS DE LA ESCUELA
REPÚBLICA DE BOLIVIA DE LA CIUDAD DE QUITO MEDIANTE DETECCIÓN
DE IgE ESPECÍFICA”**

PAOLA BANEZA POZO RODRÍGUEZ

DIRECTORA: MÁSTER. LETTY GARCÍA G.

QUITO, 2012

DEDICATORIA

A mis adoradas hijas **María Sofía y Paula Emilia** que con su mirada profunda e inocente han sabido ser mi inspiración, el motivo, la razón de mi esfuerzo y el compromiso para dar lo mejor de mí en este viaje misterioso y lleno de coraje que se llama “existencia”.

Para mi querida Madre **María Esther** y mi Padre **Cesar Arnulfo** que con nobleza y entusiasmo vertieron en mi, valores y principios que me han permitido superar positivamente cada obstáculo que la vida ha puesto a mi paso, y por supuesto no puedo negar que esos mismos obstáculos han sido los que han proporcionado intensidad y valor a mi vida.

Con todo mi cariño, para mi sobrina **María Camila** que con su sonrisa me recuerda que el éxito es la suma de pequeños esfuerzos repetidos día tras día.

Paola Baneza.

AGRADECIMIENTOS

En este espacio quiero expresar mi más profundo agradecimiento a quienes me guiaron, colaboraron y ayudaron en la realización de este estudio de investigación.

A Dios por permitirme vivir día tras día con la certeza de ser mejor, olvidar mis debilidades y perdonar mis desaciertos.

A María Santísima mi tierna madre del cielo, quien ha cobijado con su manto sagrado mis pasos y que en sus cálidos brazos aprendí la gratitud, el amor y la razón.

A mi hermana Ángela por su ayuda y comprensión en los momentos más difíciles de mi vida.

A mi tía Graciela Rodríguez a quien le debo más de lo que puedo expresar.

A mi tío Eduardo Rodríguez y su esposa María Dolores quienes me han brindado más ayuda y apoyo del que nadie puede esperar.

A mis primos: Dora Jacqueline quien con su ejemplo me ha enseñado que en la vida es mejor triunfar que ganar. Y a Eduardo Enrique mil gracias por creer en mí y valorar mi esfuerzo.

A mi amigo Rodolfo Peña por su amistad incondicional.

Expreso mi más profunda gratitud para la familia Narváez Grijalva. En especial a la Dra. María de Lourdes le agradezco sus buenos consejos, generosidad y la idea de realizar este estudio de investigación en la Escuela República de Bolivia de Quito. Gracias También a la Dra. María Eulalia por su buena voluntad, opinión y sugerencias. Tengo una inmensa deuda con el Dr. Luis Gabriel Narváez por el apoyo brindado a lo largo de esta investigación y por permitir que me beneficiara de sus conocimientos y profesionalismo.

A mi directora de Tesis Mtr. Letty García agradezco su paciencia, su atenta lectura, oportuna guía y dirección del presente estudio de titulación.

A MSc. Sandra Andrade por ser mi maestra y fortalecer a lo largo de mi formación superior no sólo los principios científicos que hacen de un estudiante un excelente profesional sino que también cultivó virtudes como la constancia, la voluntad y el compromiso.

Al Ing. Julio Sánchez Otero, Profesor de Bioestadística de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la PUCE por su intervención y aporte de conocimientos en el proceso y análisis bioestadístico de la presente investigación.

Agradezco su contribución a: Net- Lab Laboratorios Especializados, SIMED, Escuela República de Bolivia de la ciudad de Quito, padres de familia y niños/niñas que hicieron posible llevar a cabo esta investigación.

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVOS	4
HIPÓTESIS	5
INMUNIDAD	6
DEFINICIÓN	6
1.1 TIPOS DE INMUNIDAD	7
1.1.1 Inmunidad innata	7
1.1.2 Inmunidad adaptativa adquirida naturalmente	8
1.1.3 Inmunidad adaptativa adquirida artificialmente	10
2. RESPUESTA INMUNE	10
2.1 DEFINICIÓN	10
2.2 TIPOS	11
2.2.1 Respuesta inmune celular	11
2.2.2 Respuesta inmune humoral	11
2.3 ANTICUERPOS	12
2.4 CLASES DE INMUNOGLOBULINAS	13
3. INMUNIDAD Y ALERGIA	15

3.1	DEFINICIÓN DE ALERGIA	15
3.2	ALERGENO	16
3.2.1	Alergenos inhalantes (aereoalergenos)	16
3.2.2	Alergenos de interior	17
3.3	IMPLICACIONES CLÍNICAS DE LA ALERGIA	21
3.3.1	Mediadores de la reacción alérgica	21
3.3.2	Mediadores plasmáticos	23
3.3.3	Macrófagos	24
3.3.4	Plaquetas	25
3.3.5	Eosinófilos	25
3.3.6	Neutrófilos	25
3.4	GENÉTICA Y MEDIO AMBIENTE	26
3.5	TIPOS DE REACCIONES ALÉRGICAS Y ATOPIA	27
3.5.1	Reacciones de hipersensibilidad	27
3.5.2	Hipersensibilidad inmediata o de tipo I	27
3.5.3	Hipersensibilidad Tipo II	28
3.5.4	Hipersensibilidad tipo III	29
3.5.5	Hipersensibilidad tipo IV	29
3.5.6	Rinitis Alérgica	30
3.5.7	Asma	31
3.5.8	Rinitis y desarrollo del Asma	31
3.5.9	Reacciones Atópicas	32
3.6	IgE ESPECÍFICA Y ALERGIA	32
3.6.1	Ventajas del análisis de IgE específica en sangre	33
3.7	EPIDEMIOLOGIA DE LAS ALERGIAS CAUSADAS POR LOS ANTÍGENOS EN ESTUDIO	34

4. DIAGNÓSTICO DEL LABORATORIO	37
4.1 DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO	37
4.1.1 Prick Test (Sensibilidad Inmediata)	37
4.1.2 Patch Test (Sensibilización Tardía)	38
4.2 TECNICAS IN VITRO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ALERGIAS	38
4.2.1 Cuantificación de IgE específica	38
4.2.2 Comparación de métodos de detección para IgE específica:	41
4.3 VENTAJAS DEL MÉTODO UTILIZADO EN ESTE ESTUDIO	42
4.4 PROCEDIMIENTO METODOLÓGICO	43
4.4.1 Tipo de estudio	43
4.4.2 Población – ámbito de estudio	43
4.4.3 Muestra	43
4.4.4 Unidad de estudio	45
4.4.5 Tabla de operacionalización de las variables	47
4.4.6 Recolección y análisis de información	47
4.4.7 Ensayo por el laboratorio	48
4.4.8 Limitaciones de las pruebas utilizadas en este estudio	55
5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	59
5.1 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS	59
5.2 RESULTADOS	60
5.3 ANÁLISIS DE RESULTADOS TABLA GENERAL DE PREVALENCIA DE ALERGIAS	60
5.3.1 Prevalencia por sexo	61
5.3.2 Edades	Error! Bookmark not defined.
5.3.3 Síntomas vs alergias	64

5.3.4	Ambiente vs alergias	65
5.4	TABLAS DE RESULTADOS EN LAS QUE SE EVALUA LA INFLUENCIA DE FACTORES DE RIESGO DE FORMA INDIVIDUAL Y LA PRESENCIA DE ALERGIAS.	66
5.4.1	Exposición al humo del cigarrillo vs alergias	66
5.4.2	Mascotas vs alergia	67
5.4.3	Alfombras vs alergia	67
6.	DISCUSIÓN	69
	CONCLUSIONES	71
	RECOMENDACIONES	72
	BIBLIOGRAFÍA	74

RESUMEN

El asma y la rinitis alérgica son enfermedades frecuentes en la población infantil. En los últimos diez años se ha observado un incremento significativo de estas patologías a nivel mundial y en especial en países de Latinoamérica incluido el Ecuador. Las prevalencias varían de 5,7 a 16,5%.

El estudio de prevalencia de alergia a *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dep 1) y caspa de perro y gato en doscientos diecisiete escolares entre 5 a 12 años de edad determinó que los ácaros son la principal causa de alergia con una proporción del 13,82% para Dep 1.

Dentro de los factores de riesgo individuales como sexo y edad existe una diferencia de la prevalencia entre el sexo masculino y el femenino, siendo los niños más vulnerables durante la edad de 7 – 9 años a padecer enfermedades alérgicas producidas por los alérgenos inhalantes investigados en este estudio.

Los hogares actuales se han transformado en lugares óptimos para el desarrollo de aereoalérgenos ya que gracias a la humedad, temperatura y nutrición adecuada permiten el crecimiento de ácaros.

Bajo este contexto el desarrollo de las enfermedades alérgicas se ve potenciado por influencia del medioambiente, presencia de mascotas, hábito de fumar de los padres y factores intradomiciliarios como limpieza poco efectiva de alfombras, colchones, muebles y ventilación escasa.

INTRODUCCIÓN

Las reacciones alérgicas son enfermedades que se desencadenan cuando un individuo ha sido sensibilizado por un alérgeno y en su organismo provoca reacciones de hipersensibilidad que alteran el sistema inmunitario.

El ser humano está expuesto a una infinidad de sustancias presentes en el ambiente. Algunos factores como la contaminación ambiental y la predisposición genética del individuo son determinantes en la aparición de alergias en ciertos individuos que reaccionan frente a sustancias inocuas para la mayoría de individuos. Estas sustancias se denominan alérgenos.

Aeroalérgenos como el polvo casero, exposición a detritus de ácaros y la descamación de animales domésticos como el perro y el gato son importantes para la presentación de enfermedades alérgicas respiratorias que se desarrollan en la infancia y trascienden a la juventud y adultez del individuo produciendo problemas graves y cambios drásticos en el estilo de vida.

Aproximadamente el 7% de la población mundial padece de rinitis o asma alérgico, estimándose que en los últimos diez años la prevalencia ha aumentado en un 30%, catalogando al asma alérgico como una enfermedad crónica frecuente en la infancia.

En Ecuador el aumento en la frecuencia de las enfermedades alérgicas desde 1986 hasta la presente fecha es sin lugar a duda alarmante. A pesar del avance producido en el conocimiento de estas afecciones y la aparición de nuevos medicamentos se ha observado un incremento en la predisposición a padecer este tipo de enfermedades respiratorias. (38)

Los costos directos e indirectos del tratamiento de estas enfermedades, tanto para el sistema de salud privado como para el sistema público son muy altos y generan preocupación hacia la búsqueda de métodos de diagnóstico precoz y de prevención, que permitan acciones que minimicen este problema de salud.

Es pertinente, por tanto, la presente propuesta de investigación dada la inexistencia de datos epidemiológicos acerca de la prevalencia de alergia en escolares, ya que los niños son los más vulnerables a contraer este tipo de enfermedades.

Actualmente es posible controlar las alergias, minimizar su intensidad y hasta prevenirlas.

Los resultados de este estudio permitirán disponer de información sobre estas afecciones en niños escolares y descubrir los rangos del alergen presente, datos que ayudarán a los médicos del medio a emplear el tratamiento más apropiado y controlar la evolución a enfermedades graves en la adolescencia y adultez; de esta manera se evitará el mal uso de antibióticos que erróneamente se medican en estos casos.

La presente investigación corresponde a un estudio cuasiexperimental transversal para determinar la prevalencia de alergias a *Dermatophagoides pteronyssinus* y a caspa de perro y gato correlacionando edad, sexo, hábitat y medio ambiente. La población de estudio estuvo constituida por 217 niños y niñas de la escuela República de Bolivia de la ciudad de Quito ubicada en la calle Ñaquito 259.

La unidad de estudio fue conformada por 217 muestras sanguíneas de niños y niñas seleccionados a través de un muestreo probabilístico, aleatorio simple, a los cuales se les aplicó una encuesta y se les extrajo sangre venosa para la realización de un prueba de screening en suero que determina la presencia de alérgenos inhalantes denominada Ala Top.

Los resultados obtenidos de este tamizaje fueron 60 muestras sanguíneas positivas para alergias a inhalantes de niños y niñas, en quienes se procedió a cuantificar alérgenos específicos para *Dermatophagoides pteronyssinus* y caspa de perro y gato. La metodología utilizada para estas determinaciones es un ensayo por quimioluminiscencia conjugando la cinética en fase líquida sobre el formato de bolilla de poliestireno.

OBJETIVOS

GENERAL:

- Establecer la prevalencia de alergias asociadas a *Dermatophagoides pteronyssinus*, caspa de perro y gato en escolares de 5 a 12 años de la Escuela fiscal República de Bolivia de la ciudad de Quito.

ESPECÍFICOS:

- Cuantificar cualitativamente anticuerpos IgE específicos mediante la técnica de Quimioluminiscencia para alérgenos inhalantes en suero sanguíneo de los niños del estudio.

- Determinar los antecedentes familiares más comunes de alergias en los niños escolares de 5 – 12 años mediante la aplicación de una encuesta dirigida a los padres de familia.

HIPÓTESIS

La prevalencia de alergia asociada a *Dermatophagoides pteronyssinus* y caspa de perro y gato establecida mediante cuantificación de anticuerpos IgE específicos en niños escolares de 5-12 años de edad es superior a la frecuencia de niños cuyos padres refieren antecedentes de esta enfermedad.

INMUNIDAD

DEFINICIÓN

El cuerpo humano posee mecanismos de defensa especializados los cuales le otorgan la capacidad de protección frente a microorganismos patógenos y otras sustancias extrañas. Esta facultad de organizarse contra la agresión que conduce a una respuesta inmune y que brinda resistencia a un agente infeccioso específico es lo que comúnmente denominamos inmunidad. En función de los mecanismos involucrados la inmunidad puede clasificarse de distintas maneras como se ve a continuación. (1)

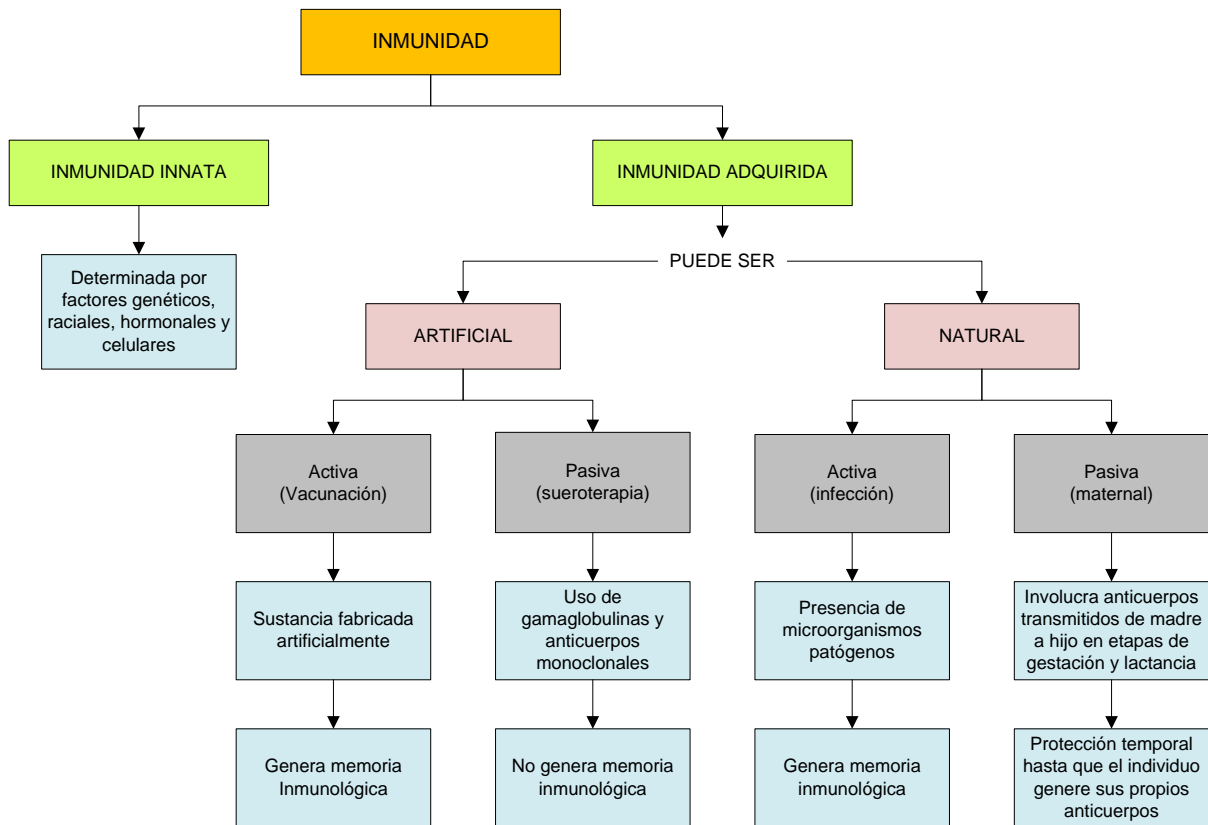


Ilustración 1. TIPOS DE INMUNIDAD (32)

1.1 TIPOS DE INMUNIDAD

1.1.1 Inmunidad innata

Se define como un sistema de defensa con el cual nace el individuo. Está determinada por factores genéticos, raciales, hormonales, celulares, humorales. Posee barreras físicas y mecánicas de protección como la piel, el pH, la temperatura corporal y las mucosas. (2)

Protege al organismo humano de forma inmediata pero inespecífica. Es decir los componentes celulares (neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, células NK, células dendríticas, mastocitos, células endoteliales) y mecanismos bioquímicos (complemento, proteínas de fase aguda, interferon alfa y beta) del sistema innato actúan frente a patógenos de forma genérica. (18).

Ocurre de manera natural cuando un antígeno ingresa al organismo y activa mecanismos de defensa que involucran factores químicos solubles como lisosimas, enzimas bactericidas y proteínas fijadoras de antígeno que le permiten al sistema inmune innato reconocer moléculas de carbohidratos o lípidos que no pertenecen al individuo clasificándolos como químicamente extraños y destruirlos por medio de lisis de membrana u opsonización a través de la activación de la vía alterna del complemento. (2,19)

Para la eliminación total del agente productor de infección los neutrofilos y macrófagos responden a señales quimioatrayentes lo que les permite englobar y digerir bacterias así como también desechos celulares. A este mecanismo se denomina comúnmente fagocitosis.

(1, 2,20)

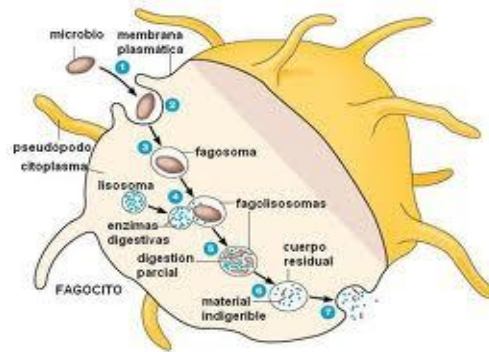


Ilustración 2 Esquema de la Fagocitosis por parte del macrófago.(26)

Cuando las células del organismo humano son atacadas por virus el sistema inmune sintetiza grandes cantidades de interferon lo cual permite la disminución de la traducción y degradación de mRNA a través de una endonucleasa activada por la producción de ácido adénilico (AMP). (2,18)

Para la eliminación de las células infectadas por virus es necesario la intervención de las células NK (natural killer) , las cuales mediante la acción de enzimas proteolíticas denominadas caspasas estimulan la autodestrucción celular.(2,19)

1.1.2 Inmunidad adaptativa adquirida naturalmente

Este tipo de inmunidad se obtiene mediante el desarrollo y producción de anticuerpos como respuesta a la presencia de un estímulo denominado antígeno o también por la transmisión de anticuerpos de madre a hijo a través de la placenta y por medio del calostro en el recién nacido. (1, 18,19)

La especificidad y la memoria son las características principales de este tipo de respuesta inmune. Para esta finalidad utiliza moléculas receptoras de antígenos que le permiten reconocer a un patógeno determinado. (20)

Los efectores de esta inmunidad son celulares (linfocitos T CD4 y CD8) y solubles (inmunoglobulinas) de donde se desprende el concepto de la inmunidad celular e inmunidad humoral. (20)

Cabe recalcar que la inmunidad adquirida depende de la inmunidad innata puesto que cuando un antígeno es atrapado y procesado por las células presentadoras de antígeno (APC) son presentados a los linfocitos T para que se inicie la producción de anticuerpos y células de memoria, lo que demuestra que los dos tipos de inmunidad esto es innata y adquirida, se relacionan entre sí.

Etapas durante infección y respuesta inmune.

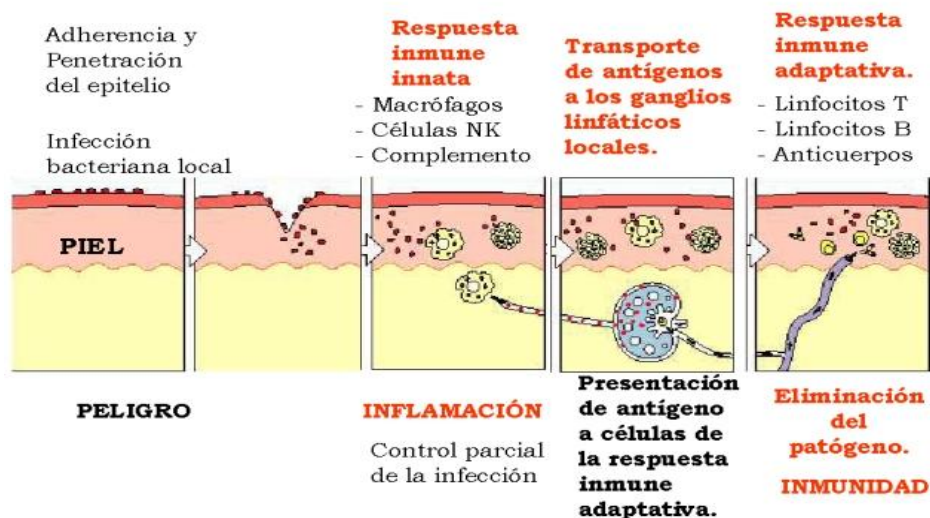


Ilustración 3: Mecanismos de defensa innata y adquirida. (24)

La respuesta inmune adquirida es modulada por anticuerpos, citocinas y quimiocinas (factores de la inmunidad adquirida), así como también por el complemento y productos de las células fagocíticas (factores de la inmunidad innata). (19,20)

1.1.3 Inmunidad adaptativa adquirida artificialmente

Se adquiere por vacunación inoculando el antígeno atenuado o su toxoide, o inmunización pasiva mediante la transferencia de anticuerpos utilizando plasma sanguíneo humano, inyectando vía intravenosa o intramuscular inmunoglobulina humana, y transferencia de células T activadas de un individuo a otro.

2. RESPUESTA INMUNE

2.1 DEFINICIÓN

La respuesta inmune se da mediante una secuencia compleja y regulada de procesos en los cuales se involucran varios tipos de células y moléculas. La respuesta es inespecífica cuando la reacción es local y ha superado la primera barrera de defensa del organismo, provocando la respuesta de células: neutrófilos, macrófagos, células NK y moléculas como el sistema del complemento para tomar contacto con el agente extraño y destruirlo mediante la fagocitosis y la lisis celular. (1, 2,19)

Por lo contrario la respuesta inmune específica o adquirida requiere el reconocimiento previo por moléculas como BCR y TCR presentes en el linfocito B y linfocito T respectivamente que estimulan la respuesta inmunitaria, generando como consecuencia la producción de anticuerpos y la activación de linfocitos. Comúnmente a este agente que provoca movilización de células y producción de anticuerpos se le conoce como inmunógeno. (1, 2,18)

2.2 TIPOS

2.2.1 Respuesta inmune celular

Actúa como mecanismo de defensa para bacterias extracelulares y virus. Las células que participan en ella son linfocitos T del tipo Helper (CD4) y citotóxicos (CD8). Para que se desencadene este tipo de respuesta el antígeno debe ser procesado previamente por células especializadas denominadas células presentadoras de antígeno (APC), las cuales degradan al antígeno en péptidos que pueden unirse con moléculas estrechamente ligadas al complejo mayor de histocompatibilidad (MCH) del huésped. Solo así los receptores del linfocito T (TCR) reconocen el péptido extraño y activarán vías bioquímicas de defensa para destruirlo y limitar la propagación del patógeno. (1,11)

2.2.2 Respuesta inmune humoral

Los mediadores de esta respuesta inmune humoral son los linfocitos B que reconocen al antígeno a través de inmunoglobulinas de membrana (BCR) y que al poco tiempo de detectarlo se unen a él y traducen la información de su presencia para escoger el mecanismo más apropiado de destrucción.

Para activarse, el linfocito B debe ser estimulado por el linfocito T cooperador. La unión linfocito B – TH da como resultado un impulso que incita a la expansión clonal y diferenciación de linfocitos B, los que a su vez secretan anticuerpos o inmunoglobulinas M y dependiendo del estímulo se da un cambio a isotipos IgG, IgA, IgE. Se generan anticuerpos de alta afinidad y las células B maduran a células de memoria. (1,20)

La respuesta humoral es primaria cuando se genera anticuerpos específicos por primera vez en contra de un antígeno, secundaria cuando se presenta un segundo contacto con dicho patógeno

y activa a los linfocitos de memoria produciendo una respuesta eficaz, intensa, más rápida que la primera y es esencialmente de isotipos IgG. (1, 2,18)

2.3 ANTICUERPOS

Los anticuerpos son proteínas elaboradas por los plasmocitos tras un estímulo sobre el linfocito B por parte del antígeno. Cada determinante antigénico estimulará la producción de una población de anticuerpos específica que reacciona con el objetivo de neutralizarlo en una posterior exposición. La mayor parte de los anticuerpos se encuentran circulando en el plasma y otros fluidos biológicos y mucosas. Los anticuerpos también pueden encontrarse sobre la superficie de algunas células como: los fagocitos, células NK y mastocitos a las que pueden unirse a través de receptores Fc para las inmunoglobulinas.

Es de conocimiento científico que todos los anticuerpos poseen la misma estructura básica (Ilustración 4):“cuatro cadenas peptídicas dispuestas simétricamente dos a dos. Cada plano de simetría está constituido por una cadena pesada (H) y una ligera (L) unidas entre sí por puentes disulfuro y por enlaces de tipo no covalente.

Las dos unidades simétricas están unidas entre sí mediante enlaces covalentes $-S-S-$ y no covalentes, por sus cadenas pesadas”. (20)

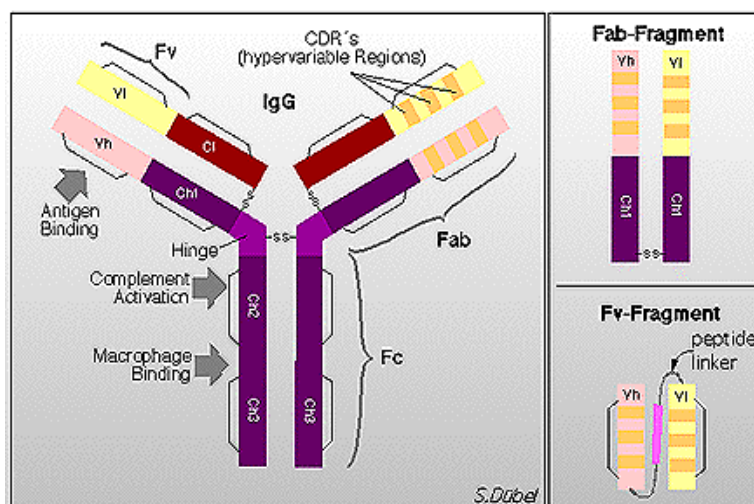


Ilustración 4.- Estructura molecular de las Inmunoglobulinas. (39)

La especificidad de un anticuerpo se caracteriza por su alto grado de variabilidad para captar antígenos y es precisamente esta propiedad la que le otorga la capacidad para unirse a diferentes moléculas antigénicas. (20)

2.4 CLASES DE INMUNOGLOBULINAS

Los anticuerpos humanos se dividen en cinco clases de inmunoglobulinas:

Inmunoglobulina G: representa aproximadamente el 75% de las inmunoglobulinas séricas totales del adulto; se encuentra en la sangre, líquido cefalorraquídeo, y líquido peritoneal. Su peso molecular es de 150.000 Daltons. La IgG es la única inmunoglobulina que puede atravesar la placenta encargándose de esta forma de la protección del recién nacido durante los primeros meses de vida.

Inmunoglobulina A: inmunoglobulina producida por las células B en tejidos submucosos linfoides, amígdalas, y placas de Peyer. Representa del 10 % al 15 % de las inmunoglobulinas presentes en secreciones de la mucosa del tracto digestivo y otros fluidos

biológicos como lágrimas, secreciones bronquiales, leche, líquido prostático. Su peso molecular es 160.000 Dalton.

Inmunoglobulina M: Se encuentra en forma monomérica como receptor en la superficie celular de los linfocitos B, o en forma pentamérica cuando se encuentra en la sangre. Posee baja afinidad por los antígenos, pero su valencia alta le da la capacidad de ser efectiva en la respuesta primaria, donde juega un papel importante como fuerza de choque.

Inmunoglobulina D: Se encuentra en la superficie de los linfocitos B al igual que la IgM. Se secretan cantidades significativas en condiciones normales y solo se hallan rastros de ella en la sangre. La función fisiológica de la IgD se desconoce, es relativamente lábil a la degradación por calor o enzimas proteolíticas.

Inmunoglobulina E: Representa solo una pequeña fracción 0.0004% de todos los anticuerpos, su importancia clínica se debe a la participación en la respuesta de reacción de hipersensibilidad inmediata. Circula como un anticuerpo bivalente y está presente en el plasma en concentraciones menor de 1ug/mL. En condiciones, como las infecciones helmínticas y la atopia grave, esta concentración puede aumentar a más de 1000 ug /mL. (4,6)

3. INMUNIDAD Y ALERGIA

La alergia es un proceso inmune patológico que comprende un estado de reactividad anormal que ocasiona problemas graves en personas susceptibles, en quienes provoca enfermedades como la rinitis y / o reacciones anafilácticas graves que pueden concluir con la muerte del individuo. (1,5)

Las enfermedades alérgicas comienza en la niñez pero esto no excluye que podrían aparecer a cualquier edad. Tienen un componente hereditario, esto es que si algún miembro de la familia sea padre o madre posee historial alérgico existe la probabilidad del 5% de que el niño sea atópico. En el caso de que los dos padres posean alergia el riesgo de que su hijo nazca con esta enfermedad aumenta al 75%. (7)

Además existen factores ambientales de riesgo como la concentración de alérgenos en el hábitat del individuo, contaminación ambiental, clima, edad, sexo y presencia de mascotas en el hogar que facilitan y desencadenan la respuesta de hipersensibilidad tipo I.

3.1 DEFINICIÓN DE ALERGIA

La palabra alergia proviene etimológicamente del griego Alos =alterado y ergos= actividad. En 1906 el médico austriaco Clemen Von Pirquet define a la alergia como “la capacidad alterada del cuerpo humano para reaccionar frente a una sustancia extraña”. (8,13)

En la actualidad este concepto ha evolucionado hasta llegar a considerar a la alergia como “una enfermedad que sigue a una respuesta del sistema inmune a un antígeno normalmente inocuo”. (8)

3.2 ALERGENO

Los alergenios son sustancias proteicas que inducen la síntesis y producción de anticuerpos IgE, provocando la sensibilización de individuos susceptibles. La sensibilización puede darse por inhalación, ingestión o inyección de alergenios; estas sustancias se clasifican como: aereoalergenios, alérgenos de alimentos y de picaduras de insectos. (5,11)

El tema central de este estudio se basa en la reacción alérgica asociada a aereoalergenios o alergenios inhalantes. Razón por la cual se describirá puntalmente características y propiedades inherentes a este tipo de patógenos.

3.2.1 Alergenios inhalantes (aereoalergenios)

“Son proteínas contenidas en polvo, heces de los ácaros, polen, esporas, y cuya solubilidad en medios acuosos facilita su liberación desde las partículas que los poseen.” (12)

Estas partículas son volátiles y su tamaño determina la permanencia en el aire y el grado de exposición al alergenio. Partículas pequeñas (5-10 um de diámetro) permanecerán más tiempo suspendidos en el aire que las partículas de tamaños superiores (10 – 40 um); las cuales por acción de la gravedad sedimentarán más rápido, esto es al poco tiempo de ser dispersados, perdiendo la capacidad de llegar al tracto respiratorio y producir cualquier tipo de reacción en él.

Los aereoalergenios se clasifican de acuerdo a la vía por la que ingresan al organismo en alergenios de interior y de exterior. (12,14)

3.2.2 Alergenos de interior

Son productos de origen animal como las cucarachas, ácaros, y epitelios de animales domésticos como el perro y gato.

3.2.2.1 Ácaros domésticos

Pertenecen a los artrópodos, poseen patas articuladas y su cuerpo está dividido en regiones revestidas de una cutícula rígida compuesta de quitina. Poseen además prolongaciones alrededor de su cuerpo que reciben el nombre de setas o pelos. Tienen un tamaño de 100-300 micras y su cuerpo se divide en prosoma y opistosoma. En el prosoma se encuentra una prolongación que recibe el nombre de gnatosoma donde está la boca con los quelíceros con los cuales trituran los alimentos y los pedipalpos que tienen función sensorial.



Ilustración 5: ÁCARO (36)

En la parte ventral se encuentran las aberturas genital y anal. Poseen cuatro pares de patas y un tracto digestivo que elabora bolas fecales de 10-40 micras, siendo estas heces enzimas proteolíticas y fuente principal de alergenicidad (4)

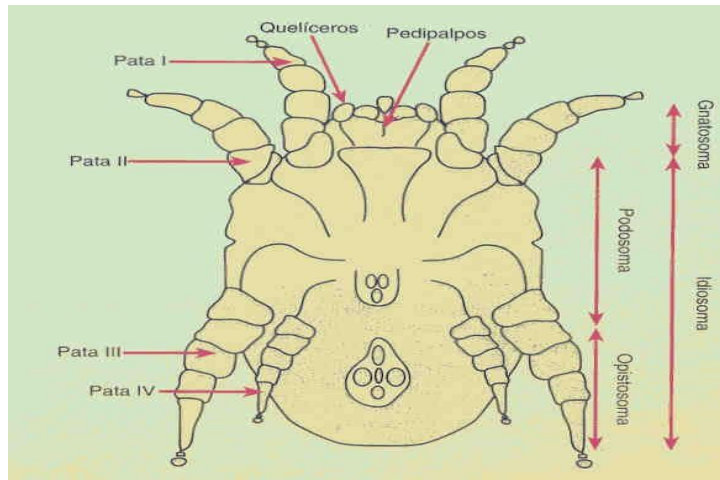


Ilustración 6.- División y Estructura externa de los Ácaros. (36)

Estos arácnidos se alimentan de escamas humanas, hongos, fragmentos de insectos y productos de descamación de animales mamíferos. Se reproducen por medio de huevos. La hembra pone aproximadamente 250 huevos que si llegan al estado adulto pueden vivir hasta 150 días.

La reproducción de los ácaros es sexual. Durante la copulación el macho deposita el espermatozoides en una vesícula seminal que posee la hembra como sitio de almacenamiento, para luego transportar el semen a la bolsa copulativa en donde se fertiliza el huevo durante la ovulación. El ciclo vital de los ácaros consta de cinco estados: huevo, larva, protoninfa, trioninfa, y ácaro adulto. Su desarrollo se completa al cabo de seis semanas después de que la hembra ha copulado.(7)

La temperatura y la humedad son factores que influyen en el desarrollo óptimo de esta especie de arácnidos es así que el ciclo de vida del *Dermatophagoides pteronyssinus* de huevo a adulto tarda 31 días a 25 grados centígrados con un 75% de humedad relativa, pero si la temperatura sube a 35 grados centígrados tardará 15 días en su desarrollo. (7)

El periodo más crucial del ciclo de vida de los ácaros es el de protoninfa ya que resiste a la desecación permitiéndole sobrevivir por varios meses albergado en alfombras y muebles.

3.2.2.1.1 Hábitat de los ácaros

El hábitat que aporta temperatura, alimentación y humedad ideal para el desarrollo de los ácaros es la cama del hombre y de los animales, puesto que se alojan en el interior de los colchones y almohadas; así como también las alfombras de los dormitorios de viviendas mal ventiladas y sin la higiene adecuada.(12,7)

3.2.2.1.2 Relevancia clínica de los ácaros

Los alérgenos producidos por los ácaros penetran en las vías respiratorias en las que originan inflamación y descamación del epitelio, dicha descamación es inducida por la actividad enzimática y proteolítica que ejercen estas partículas.

3.2.2.2 Epitelios de animales

Todos los animales que posean pelo o plumas son capaces de inducir reacciones alérgicas mediadas por IgE. Los animales domésticos en especial perros y gatos son una de las causas de la aparición de cuadros de rinitis y asma alérgicos.(12)



Ilustración 7.- El gato y Perro principales agentes de alergenidad. (40)

La sensibilización a productos originados en el perro y/o gato puede producirse por contacto directo con la saliva, pelo y caspa sin ser primordial la presencia física del animal.

El gato es el animal más estudiado por lo que se ha logrado identificar siete alérgenos dentro de los cuales se destaca el Fel d1 categorizándolo como el alergeno con mayor potencial de alergenidad. (6,7,12,)

El Fel d1 es secretado por las glándulas sebáceas y se deposita en la piel y caspa se encuentra también en la saliva y glándulas lacrimales. Su producción es regulada hormonalmente, principalmente por la testosterona por lo cual las concentraciones varían de machos a hembras razón por la cual los machos presentan niveles más elevados de testosterona. (6,12,15)

En el caso del perro Can f1, Can f2 y Can f3 son los alergenos más potentes y pertenecen a las lipocalinas que son proteínas altamente solubles presentes en fluidos y secreciones.

Can f1 se encuentra en la caspa y pelo; Can f2 en la saliva y es secretado por las glándulas parótidas del perro. Can f3 corresponde a la albúmina canina expulsada mediante los fluidos de dicho mamífero. (6,7,12,15)

3.3 IMPLICACIONES CLÍNICAS DE LA ALERGIA

Las reacciones alérgicas son la expresión fisiológica de la respuesta y liberación de mediadores bioquímicos y celulares para el correcto reconocimiento del agente patógeno con capacidad de alergenidad.

3.3.1 Mediadores de la reacción alérgica

Cuando los alérgenos son reconocidos por las inmunoglobulinas se produce una activación de mediadores de la respuesta inflamatoria por la estimulación de mastocitos, basófilos, macrófagos y linfocitos. Se liberan sustancias como histamina, triptasa, ácido araquidónico; hay producción de prostaglandinas tromboxanos y leucotrienos.(18,17)

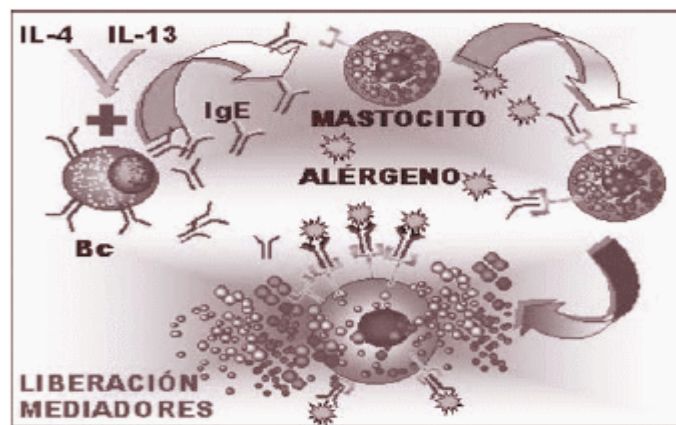


Ilustración 8. Mediadores de la reacción de Hipersensibilidad Tipo I (29)

Estos mediadores bioquímicos dirigen sus efectos sobre vasos sanguíneos, terminaciones nerviosas y glándulas de la mucosa nasal y se manifiestan en el individuo alérgico como:

Prurito y estornudos.- Estos síntomas son consecuencia de la acción de la histamina sobre las terminaciones nerviosas de la nariz e involucran al nervio olfativo y trigémino. Estos nervios son los encargados de detectar el aire inspirado y las sensaciones de dolor, calor o frío.

Por lo tanto el prurito y los estornudos están sometidos a ciertos factores entre los cuales se encuentran la estimulación bioquímica o mecánica del epitelio nasal, enfriamiento de la mucosa nasal y el ingreso de alérgenos por vía aérea.

Rinorrea.- Se produce como respuesta de las glándulas submucosas edematosas y que actúan específicamente en las células caliciformes produciendo secreciones mucosas abundantes que ocasionan obstrucción nasal.

A continuación se describen los tipos de células que se involucran como mediadores de reacción alérgica:

3.3.1.1 Linfocitos

Son los responsables del reconocimiento inicial del alérgeno, y sus propiedades secretoras delimitan la hipersensibilidad. Los productos de secreción linfocitaria se dividen en dos grupos: las inmunoglobulinas, que sirven como instrumento para el reconocimiento del alérgeno, y las linfocinas que intervendrán como reguladores de la respuesta alérgica y como agentes efectoras de la inmunidad celular.

La activación de los linfocitos se puede detectar como un aumento de la secreción de proteínas o de la síntesis de DNA. (18)

3.3.1.2 Mastocitos

Los mastocitos poseen receptores FcεRI de alta afinidad para fijar la IgE y, por tanto, sólo se precisan pequeñas cantidades de alérgeno para iniciar la secreción de los materiales preformados que se almacenan en los gránulos de estas células. La histamina y la heparina

son los constituyentes más conocidos de los gránulos del mastocito, además de una proteasa neutra e hidrolasas ácidas.

La triptasa es un componente granular que se halla presente en unas cantidades importantes, entre el 15 y el 25% de la proteína total celular. La triptasa originada en los mastocitos pulmonares humanos puede activar lentamente el complemento, y liberar anafilotoxina (C3a) a partir del C3. Al mismo tiempo destruye los cininógenos de alto peso molecular, previniendo la formación de cininas y la activación del sistema intrínseco de la coagulación. Se supone que estos acontecimientos reforzarían las acciones antitrombóticas de la heparina y de la prostaglandina D2. La producción de C3a por efecto de la triptasa puede contribuir a las respuestas prolongadas que siguen a la exposición de un alérgeno, ya que el C3a puede provocar cambios sostenidos en las células endoteliales. (18,20)

3.3.1.3 Basófilos

Los basófilos se han considerado funcionalmente como una fracción circulante de los mastocitos, por tanto la activación de los basófilos inducida por alérgenos conducen a la liberación de histamina preformada, metabolitos del ácido araquidónico, y leucotrienos.

Pueden ser inhibidos por los corticoides, los basófilos son muy parecidos a los mastocitos en cuanto a su capacidad de adsorción de IgE y a su reactividad frente a los antígenos. (18,20)

3.3.2 Mediadores plasmáticos

Los basófilos y mastocitos humanos estimulados liberan triptasa y otras proteasas específicas al mismo tiempo que la histamina. Una de ellas es la calicreina basófila, una esterasa de alto peso molecular que puede generar quininas a partir del plasma. También se liberan otras esterases de menor peso molecular y de distinta especificidad sobre el sustrato de síntesis. Estas enzimas pueden conducir a la formación de cininas por activación del factor de Hagemann, de la precalicreína o por acción directa sobre el cininógeno. (17,18)

La bradicinina es un potente agente inflamatorio que podría contribuir a las reacciones alérgicas directamente, o por liberación o sinergismo con algún otro mediador. Al igual que la histamina, la bradicinina es un bronco constrictor más potente en los asmáticos que en los sujetos normales, lo que podría ser un reflejo de la hiper reactividad bronquial característica de los asmáticos. De hecho en experimentos in vitro se ha observado que la musculatura del bronquio humano puede contraerse o relajarse por acción de la bradicinina. (18,29)

3.3.3 Macrófagos

Se acepta que los macrófagos participan en las reacciones de inmunidad celular ya que muestran un aumento de la actividad microbicida y fagocítica aumentadas como respuesta a las linfocinas segregadas por las células T activadas.

Los macrófagos ayudan a regular la inmunidad celular segregando interleukina 1, cofactor obligatorio para la secreción de linfocinas, interleucina 2. La secreción de interleucina 1 es claramente una función fundamental de los macrófagos, es un pirógeno endógeno que contribuirá a la presencia de fiebre durante las respuestas inmunológicas. (18,19)

Aunque los macrófagos se hayan asociado con las respuestas de inmunidad celular, parece también que poseen receptores para la IgE y que por tanto pueden ser activados por la exposición a un alérgeno específico o a un anticuerpo anti- IgE.

La estimulación celular se acompaña de la activación de la fosfolipasa A2, originándose metabolitos del ácido araquidónico. También puede formarse leucotrienos. (18,19)

3.3.4 Plaquetas

La agregación y la activación plaquetaria son hechos que aparecen en las reacciones alérgicas, particularmente en las respuestas mediadas por anticuerpos que incluyen no solo las reacciones por inmunocomplejos (tipo III), sino también las reacciones mediadas por IgE (tipo I) y las reacciones de tipo II. (18)

3.3.5 Eosinófilos

Los eosinófilos participan en las reacciones inflamatorias contra los alergenos, hecho especialmente evidente en las reacciones frente a la infestación por helmintos. Es probable que estas células puedan responder a los alergenos en virtud de las inmunoglobulinas del tipo IgG o IgE.

El eosinófilo se caracteriza por poseer unos gránulos prominentes, ricos en enzimas como la catepsina, beta -glucuronidasa, peroxidasa, aril-sulfatasa y fosfolipasa D, y también una proteína básica rica en arginina que supone aproximadamente el 50% de la proteína de los gránulos.(18,20)

Se ha indicado que la activación de los mastocitos atrae a los eosinófilos, que establecen después una función reguladora puesto que los eosinófilos poseen enzimas capaces de destruir la histamina, los leucotrienos y el PAF. (18,20)

3.3.6 Neutrófilos

Contienen dos tipos de gránulos secretorios: los primarios o azurófilos y los secundarios o específicos. Los gránulos primarios participan en la digestión intracelular, vertiéndose dentro de los fagolisosomas, estos gránulos contienen lizosima, hidrolasas ácidas, mieloperoxidasa, beta-glucuronidas y elastasa. Los gránulos específicos se pueden verter con mayor facilidad a

los espacios extracelulares, y su contenido incluye: lisozima, lactoferrinas, colágenos y proteasas neutras. (20)

Los neutrófilos poseen mecanismos inmediatos para producir estas enzimas cuando detectan cualquier tipo de inflamación, pero su secreción esta superditada a la activación de los neutrófilos mediante procesos inmunológicos como:

La activación por medio de células recubiertas de IgG, linfocinas o la exposición a los péptidos quimiotácticos.

Activación por estímulos de origen no alérgico, como el tromboxano A₂ o el factor activador de las plaquetas (PAF). (17,18)

3.4 GENÉTICA Y MEDIO AMBIENTE

La patogenia de las enfermedades alérgicas tiene una base genética que no sigue el modelo mendeliano y son trastornos poligénicos en el que los genes, el ambiente, y el momento de exposición al alérgeno son los ejes claves de su manifestación clínica. (8,11)

La base genética de estas enfermedades se desprende del proyecto genoma humano en el cual la medicina molecular ha encontrado regiones del genoma ligados a fenotipos de asma y atopía. Las principales regiones localizadas se encuentran en los cromosomas: 2q, 5q, 16q, 6p21, 11q13, 12q y 17q. (11)

En cuanto a la influencia del medio ambiente son factores importantes la polución, el crecimiento poblacional y la globalización y están directamente relacionados con el desarrollo del asma. La combustión del petróleo, humos emitidos por automóviles y vehículos pesados liberan partículas de diesel, dióxido de nitrógeno y ozono que conjuntamente con el calentamiento global estos procesos de combustión se aceleran dando como resultados

oxidantes foto químicos y grandes cantidades de radiaciones ultravioletas que provocan amplificación de la respuesta de IgE por reducción de la cantidad de alérgeno necesaria para provocar reacciones alérgicas, así como también presencia de tos, opresión retro esternal y dolor en la inspiración. (11,16)

La exposición pasiva al humo del tabaco incrementa la sensibilización a los alérgenos, asma, atopía ya que incrementa el volumen de absorción de alérgenos por parte de una mucosa irritada, seca y con protección poca efectiva contra ataques de sustancias potencialmente alérgicas. (11,16)

3.5 TIPOS DE REACCIONES ALÉRGICAS Y ATOPIA

3.5.1 Reacciones de hipersensibilidad

Las reacciones de hipersensibilidad se clasifican en cuatro tipos que dependen de:

- Tiempo transcurrido desde la sensibilización del individuo.
- Inicio de la reacción inmunológica que provoca la inflamación.
- Tipo de respuesta implicada en cada mecanismo de defensa.

3.5.2 Hipersensibilidad inmediata o de tipo I

Los alérgenos que inducen respuestas inmediatas son de tipo inhalantes y no inhalantes. Este tipo de reacciones son muy frecuentes y afectan del 10-15% de la población (40). Se inicia cuando el antígeno ingresa al organismo por la piel, mucosa del tracto respiratorio o gastrointestinal y es captado por células presentadoras de antígeno (APC) que estimulan a linfocitos Th2. A su vez los Th2 secretan citoquinas que estimulan a los linfocitos B antígeno específicos para producir IgE específica.

Este tipo de hipersensibilidad es responsable de la manifestación de las enfermedades atópicas, asma y rinitis, anafilaxia sistémica y urticarias alérgicas.

3.5.3 Hipersensibilidad Tipo II

Proceso inmunológico en el cual los anticuerpos se dirigen contra el antígeno de superficie celular o tejidos. La respuesta en esta vía se da por interacción de anticuerpos IgG o IgM unidos al antígeno, en algunos involucrando al sistema del complemento. Los mecanismos de lesión mediados por anticuerpos son:

- **Citotoxicidad dependiente de anticuerpos:**

Este mecanismo se da por la cooperación de eosinófilos, células NK y no implica la fijación del complemento. Estas células se unen por sus receptores Fc de IgG que se halla fijada en la célula diana y producen la lisis celular sin fagocitosis. (13)

- **Reacciones dependientes del complemento:**

Este tipo de reacciones producen lisis directa cuando el anticuerpo IgM o IgG reacciona con el antígeno presente en la superficie celular y activa el complemento.

- **Reacciones de hipersensibilidad anti receptor:**

Los anticuerpos son dirigidos contra los receptores de la superficie celular modificando su función. Es importante resaltar que este tipo de hipersensibilidad es la responsable de la patogenia de enfermedades autoinmunes.

3.5.4 Hipersensibilidad tipo III

Son enfermedades que generan inmunocomplejos que se depositan en órganos y tejidos del cuerpo humano produciendo enfermedades sistémicas y localizadas, clasificando a este tipo de enfermedades como enfermedades autoinmunes. (13)

Dentro de las manifestaciones sistémicas se encuentran la enfermedad del suero y el lupus eritematoso sistémico. Las manifestaciones localizadas se dan en enfermedades de tipo no infeccioso e infeccioso y de tipo crónico como la vasculitis, nefritis y artritis.

En este tipo de hipersensibilidad la activación del complemento conjuntamente con la acción de los neutrófilos son responsables de lesiones necrosantes en enfermedades como la lepra lepromatosa con fenómeno de Lucio y los daños producidos a nivel de la tiroides en individuos que padecen tiroiditis de Hashimoto.

3.5.5 Hipersensibilidad tipo IV

Este tipo de inmunidad es tardía y de respuesta inmune celular. Las células que se encargan de esa respuesta inmune son los linfocitos T y macrófagos. Está dirigida a la eliminación y control de patógenos intracelulares, pero en algunas circunstancias se asocian a daño histico en ciertas actividades de tipo laboral como la manipulación o contacto con químicos orgánicos y algunos metales. (10,13,)

Existen tres variantes de hipersensibilidad celular:

- Hipersensibilidad de tipo tuberculina.
- Dermatitis por contacto.
- Hipersensibilidad granulomatosa.

3.5.6 Rinitis alérgica

Conjunto de trastornos nasales producidos por inhalación y absorción de antígenos, que provocan la sensibilización y síntesis de anticuerpos IgE específicos. Los síntomas característicos de la rinitis son: prurito, rinorrea, estornudos, conjuntivitis, mucosa nasal pálida, azulada edematosa y con acúmulo de eosinófilos. (8,11)

3.5.6.1 Clasificación

Los criterios de clasificación están determinados por los siguientes factores:

a) Periodo de exposición al alérgeno:

Estacional: Constituye el 75% de las rinitis alérgicas (11). Como su nombre lo indica aparece en determinada estación del año, en la cual la atmósfera está llena de alérgenos como por ejemplo el polen. El verano y la primavera son las estaciones apropiadas para el desarrollo de alérgenos inhalantes de origen animal o vegetal.

Perenne: Se denomina así porque es ocasionada por alérgenos domésticos de interior que están presentes en el ambiente durante todo el año.

Ocupacional: Provocada por alérgenos presentes en el ambiente laboral como por ejemplo químicos y el látex entre otros. (11)

b) Tiempo y frecuencia de los síntomas:

Persistente: Síntomas presentes por semanas consecutivas en el año.

Intermitente: Síntomas en número de días por semanas. (8,7)

3.5.7 Asma

Se define a esta enfermedad como una resistencia u obstrucción al paso libre del flujo aéreo a nivel pulmonar ocasionando de esta manera disnea y sibilancias. (9)

Los cambios bruscos de temperatura, el ejercicio físico, el exceso de humedad ambiental, la presencia de alérgenos inhalantes y distintos estímulos de origen psicológico son factores que pueden desencadenar una crisis de asma. Cabe mencionar que conjuntamente con estas crisis pueden existir episodios de rinitis como una manifestación común en los individuos asmáticos. (15,24)

El asma es una causa frecuente de enfermedad y ausencia escolar en niños. (14) y es más común en el sexo masculino que en el femenino. La mortalidad es baja puesto que produce reacciones de hipersensibilidad inmediata en la piel del 95% de los niños asmáticos, alertando de esta forma a padres y médicos por atención y diagnóstico clínico oportuno (9, 21,22)

3.5.8 Rinitis y desarrollo del asma

La rinitis alérgica como se ha mencionado antes es un factor de riesgo en la incidencia y gravedad del asma alérgico ya que la probabilidad de que un individuo con rinitis desarrolle asma es superior al 4% en comparación a la población que no padece ninguna de estas enfermedades incluyendo en este grupo a individuos genéticamente predispuestos a padecer alergias. (9,11,24)

Es importante mencionar que la sensibilización ocasionada por aereoalérgenos es la causa más relevante para la asociación de la rinitis y el asma alérgico en especial si estos alérgenos son de origen doméstico (polvo, ácaros, epitelio de animales como el perro y gato). (9,11,21)

3.5.9 Reacciones atópicas

El termino atopia significa “fuera de lugar”. En 1923 Coca y Cooke introdujeron este término para describir a un tipo de hipersensibilidad relacionado con la herencia del individuo y que se manifiesta como asma y rinitis. Estos individuos generan una producción continua de anticuerpos IgE específicos. (7,11)

Por consiguiente actualmente se define a la atopia como “Término que describe la capacidad de un individuo para presentar alergia tipo I a las partículas ambientales habituales y normalmente inocuas”. (7,8,11)

Dicha reacción de hipersensibilidad puede ser detectada por pruebas cutáneas o serológicas sin estar ligadas a la existencia de manifestaciones clínicas, clasificando como atópicos a los sujetos que resultan positivos a una o más pruebas alérgeno específicas.

De este modo; podemos decir que las enfermedades atópicas se manifiestan por causa de un desequilibrio o incapacidad del reconocimiento primario del antígeno, evitando que el organismo humano pueda neutralizar y eliminar a este tipo de patógenos. (11).

3.6 IgE ESPECÍFICA Y ALERGIA

Tras el descubrimiento de la IgE como molécula responsable de la manifestación clínica de las alergias, se desarrollaron pruebas de diagnóstico in vitro que discriminan con especificidad la cantidad de IgE producida contra un antígeno determinado.(25,26)

De este modo la cuantificación de IgE específica realizada por el laboratorio es una herramienta útil que contribuye con el diagnóstico de la alergia Tipo I y en el caso de

individuos atópicos, los cuales mantienen títulos de IgE total elevados durante periodos prolongados de tiempo, facilita y provee información relevante al médico alergólogo acerca del antígeno específico que sensibilizó al paciente y por consiguiente la decisión de la terapia conveniente a utilizar para mejorar la salud y calidad de vida del individuo .

3.6.1 Ventajas del análisis de IgE específica en sangre

Esta prueba de laboratorio reduce el tiempo requerido para el diagnóstico diferencial de la alergia atópica y de la rinitis alérgica. Dentro de las ventajas que ofrece este análisis podemos citar las siguientes:

El análisis se realiza en suero obtenido del paciente sin ser necesario suspender los medicamentos prescritos por el médico.

Provee información relevante para cierto tipo de terapias como las de evasión o la inmunoterapia.

Engloba a un grupo de pacientes especiales, los cuales no se pueden someter a pruebas cutáneas.

Proporcionan información sobre el grado y especificidad de la sensibilización del individuo.

Por su estricto control de calidad, garantía de no contaminación y el uso de extractos alérgicos estandarizados estas pruebas poseen fiabilidad, estabilidad y reproducibilidad de resultados.

3.7 EPIDEMIOLOGIA DE LAS ALERGIAS CAUSADAS POR LOS ANTÍGENOS EN ESTUDIO

A nivel mundial durante las últimas décadas las enfermedades alérgicas han aumentado drásticamente. Esta patología afecta a más del 20% de la población en todo el mundo. De hecho la OMS ha clasificado al asma, la rinoconjuntivitis alérgica y la dermatitis atópica inducidos por alérgenos entre las dolencias más frecuentes en la infancia y que constituyen un gran problema de salud, económico y social. (28)

Las dificultades que existen en su manejo, diagnóstico y por supuesto el gran coste que implica para las familias y administraciones públicas son actualmente motivos de interés para el estudio de algoritmos que permitan el diagnóstico y tratamiento oportuno de dichas enfermedades.

Es por esto que se han realizado varios estudios epidemiológicos en los que se han utilizado como herramienta cuestionarios para identificar el incremento de la prevalencia del asma y la rinoconjuntivitis. (28) Los cuestionarios a los que se hace referencia son:

Cuestionario del International Study of Asthma and Allergy in Children (ISSAC) y el cuestionario de la European Community Respiratory Health Survey (ECRHS) entre los más relevantes. (28,33)

Todos estos estudios epidemiológicos han determinado que:

En Europa del 25-30% de la población sufre de enfermedades alérgicas

En España el porcentaje oscila entre el 3 al 5%.

Países como Estados Unidos de América, Francia, Inglaterra, Australia, Taiwán y Noruega la prevalencia de la rinoconjuntivitis varía desde el 0,8 al 14,9 % en niños de 6-7 años y del 1,4 al 39,7 % en los niños de 13 a 14 años.

En cuanto a los países de América Latina estos últimos 20 años han sido llenos de cambios demográficos y socioeconómicos como la migración, la urbanización, desarrollo económico y adopción de modernos estilos de vida que son factores que han contribuido en la presencia, manifestación e incremento de las reacciones de hipersensibilidad Tipo I. (28)

Datos disponibles en línea acerca de la prevalencia de alergias nasales en la población de Latinoamérica provienen del estudio International de Asma y Alergias en la Infancia (*International Study of asthma and Allergies in Childhood* ISAAC) revela datos de un estudio de investigación realizado en el periodo de febrero – abril del 2008 en 22.012 hogares de ocho países de Latinoamérica Argentina, Brasil, México, Chile, Ecuador, Perú y Venezuela con el objetivo de encontrar datos sobre niños (4-8 años) y adultos (12 años en adelante) que posean diagnóstico de alergias nasales, síntomas y que reciben tratamiento. (21,24,28,33)

Los métodos de investigación utilizados son cuestionarios normalizados y avalados por el ISAAC y llevada a cabo por una organización internacional encargada de realizar estudios de población mediante encuestas telefónicas y en persona denominada Rbt SRBI. El patrocinador de la encuesta fue Nycomed (compañía farmacéutica). (21,28,36)

La parte científica y de diagnóstico médico fue realizada por profesionales de la salud neumólogos, otorrinolaringólogos y alergólogos de México, Brasil y Argentina.

Los resultados obtenidos de esta investigación identificaron a 1.088 adultos y 457 niños con fiebre del heno y rinitis alérgica, datos que corresponden al 7,0%, aproximadamente treinta y un millones de personas de la población Latinoamericana. Siendo Perú y Venezuela los países con la prevalencia más alta (11,00%) de rinitis alérgica y Argentina lo opuesto; con datos de prevalencia baja que corresponde al 3,5%. (21,24)

En el caso de Ecuador el estudio antes mencionado describe una prevalencia de rinitis alérgica del 6,4%. Es importante mencionar que estos resultados están limitados a información

recolectada de pacientes que poseen diagnóstico de alergias nasales, que poseían síntomas y que han recibido tratamiento, dejando fuera a aquellos individuos encuestados que presentaron síntomas pero que no acudieron a la consulta médica y decidieron tratarse sin diagnóstico médico aduciendo el alto costo que implica la consulta médica, pruebas de laboratorio y tratamiento. (21,28)

4. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

4.1 DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Dado que la IgE fue la última inmunoglobulina en descubrirse, en la década de 1970 se empezó a valorar e investigar sobre el impacto clínico de este anticuerpo. Los primeros métodos utilizados para su detección fueron las técnicas In Vivo y pruebas cutáneas destinadas a determinar el alérgeno responsable de la sensibilización en el niño o adulto alérgico.

Los test cutáneos se clasifican de acuerdo al tipo de sensibilización que se quiera detectar y son: de tipo inmediato y de sensibilización tardía. (25)

4.1.1 Prick Test (Sensibilidad Inmediata)

Es la prueba más utilizada para diagnóstico in vivo ya que no desencadena reacciones sistémicas en el organismo humano. Permite establecer la sensibilización de tipo inmediata provocada por la inoculación en la dermis de un alérgeno que induce la degranulación de mastocitos liberando mediadores de inflamación como la histamina, estimulando de esta forma al sistema inmune para la producción y desarrollo de anticuerpos IgE específicos.

El proceso del test consiste en inocular en el antebrazo del paciente una dosis de alérgeno equivalente a 0,3ul y sin atravesar la dermis. La medida de reacción se evalúa a los 20 minutos midiendo el diámetro de la pápula o eritema formado. Los resultados se expresan cuantitativamente considerándose positivo una pápula igual o mayor a 3mm de diámetro.

(7, 11,25)

4.1.2 Patch Test (Sensibilización Tardía)

Prueba percutánea que evalúa la inmunidad celular en reacciones alérgicas tipo IV en donde intervienen linfocitos Th1 y monocitos. Se utiliza para diagnóstico de dermatitis de contacto y alergia a inhalantes. Utiliza parches humedecidos con alérgenos y que se adhieren en la piel de la espalda del paciente por un periodo de 24 a 72 horas, tiempo en el cual el alergólogo podrá evaluar la presencia o ausencia de signos de sensibilidad cutánea. (7, 11,25)

4.2 TECNICAS IN VITRO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ALERGIAS

Durante los últimos 30 años se han creado una gran variedad de métodos automatizados para detección y cuantificación de antígenos o anticuerpos. Estos inmunoensayos en la actualidad poseen gran sensibilidad y marcada especificidad, propiedades fundamentales para utilidades diagnósticas de síndromes y enfermedades humanas. (25)

4.2.1 Cuantificación de IgE específica

Esta prueba determina en forma cuantitativa la IgE específica en suero humano, permite conocer el grado de sensibilización del individuo al alérgeno y posibilita al médico la aplicación de un tratamiento oportuno y eficaz.

Dentro de las técnicas de diagnóstico inmunológico más destacadas para dicha determinación se encuentran:

- FIA (Fluoroenzimoanálisis)
- RAST (Radio-alergo-sorbent-test)
- QUIA (Enzimoquimioanálisis)

4.2.1.1 FIA (Fluoroenzimoinmunoanálisis):

FUNDAMENTO: En este inmunoensayo el alérgeno se encuentra fijado a la fase sólida o matriz, la cual es un polímero de celulosa. El anticuerpo IgE del paciente reconoce el antígeno. Una anti IgE marcada con la enzima beta galactosidasa reacciona con la IgE del paciente. Se agrega el sustrato que es el 4 - metil - umbeliferil beta D galactosa (4MUP, a partir de la cual se genera el 4- metil - umbeliferona. La lectura se hace mediante la cantidad de complejo Ag-Ac formado el cual libera fluorescencia que es detectada y cuantificada por un espectrofluorómetro. (31)

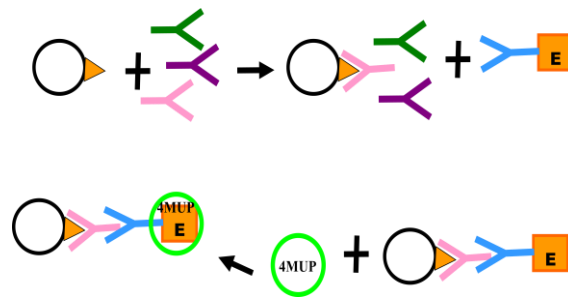


Ilustración 9.-PRINCIPIO FIA (32)

4.2.1.2 RAST (Radio-alergo-sorbent-test)

FUNDAMENTO: Esta prueba denominada de radioalergosorbencia utiliza discos de celulosa en donde se encuentra el alérgeno, sobre el disco se coloca la muestra del paciente para provocar una reacción antígeno anticuerpo. Para evidenciar si dicho complejo ha ocurrido se lo marca usando un anticuerpo radioactivo anti IgE dirigido contra el anticuerpo fijado al complejo.

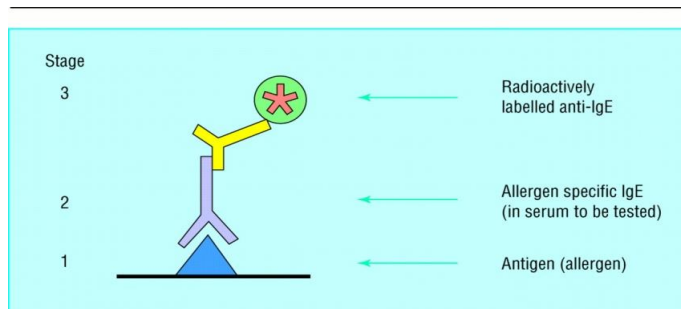


Ilustración 10.- Principio RAST (32)

Los resultados se evidencian por la medición de los rayos emitidos por la unión antígeno-anticuerpo en un espectrómetro. (31)

4.2.1.3 QUIA (Enzimoquimioinmunoanálisis) :

FUNDAMENTO: La quimioluminiscencia tiene lugar cuando una molécula emite un fotón como resultado de una reacción química en la cual uno de los productos intermedios o finales es llevado a un estado excitado, y retorna a su estado fundamental emitiendo luz. La mayoría de reacciones quimioluminiscentes son de tipo oxidativo, puesto que se necesita gran cantidad de energía para producir un fotón. (26,25)

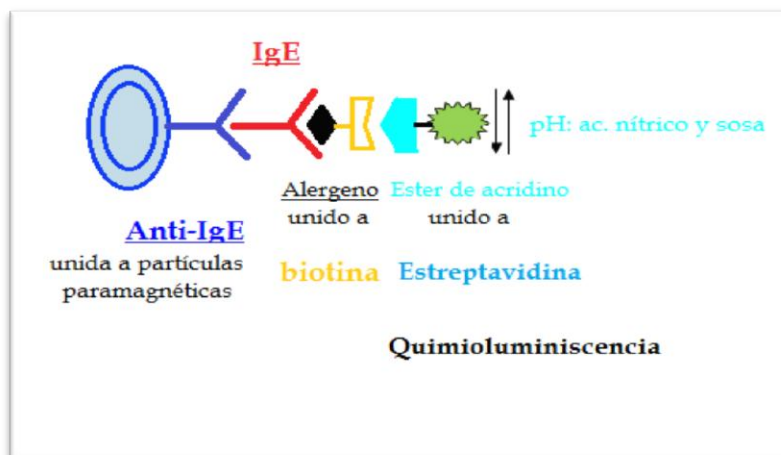


Ilustración 11.- Principio QUIA (34)

En la figura anterior se observa un inmunoanálisis quimioluminiscente de tipo sándwich invertido. En donde la anti IgE unida a la fase sólida captura la totalidad de IgE específica presente en la muestra del paciente. El alérgeno contenido en la fase líquida aporta el marcaje luminiscente a través de la interacción biotina – estreptavidina que está unida a un éster de acridino, el cual sometido a un cambio de pH emite luminiscencia. (26,25)

La quimioluminiscencia emitida es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos unidos al antígeno, es decir a mayor cantidad de uniones Ag-Ac, mayor emisión de luz, que es detectada por un fotodetector que transforma fotones en impulsos eléctricos. La cantidad de impulsos eléctricos obtenidos se transmiten a un fotomultiplicador que transpola información a una curva maestra diseñada por el fabricante del autoanalizador y definida para cada ensayo, calculando así la concentración de IgE específica en la muestra del paciente. (26,25)

4.2.2 Comparación de métodos de detección para IgE específica:

Metodologías como F.I.A y Q.I.A han demostrado tener gran especificidad y alta sensibilidad al momento de cuantificar cualquier tipo de alérgenos unidos a la IgE específica. Las diferencias radican en el método usado para marcar y evidenciar la unión antígeno anticuerpo en la muestra probada. La primera utiliza un reactivo fluorescente y la segunda utiliza emisión de luz por medio de fotones.

Los resultados en ambas metodologías son directamente proporcionales a la cantidad de uniones antígeno anticuerpo que posee la muestra. Es decir si no existe anticuerpo específico en el suero del paciente no se produce la reacción antígeno – anticuerpo y por consiguiente la fluorescencia estará ausente para el caso de FIA y no habrá emisión de luz por medio de fotones en QIA.

Dentro de las desventajas que poseen las metodologías antes descritas se describen las siguientes:

- Los fármacos pueden actuar como haptenos
- Existencia de reacciones cruzadas dentro de una misma familia de alérgenos

Estos métodos de cuantificación no suplantán a los pruebas cutáneas puesto que al ser la IgE citofílica sus resultados serán inferiores a los de las pruebas cutáneas. En conclusión, en una prueba cutáneas negativa será difícil encontrar resultados de IgE específica positivos.

Con respecto a la prueba de RAST es un método radioactivo, simple de realizar y que no utiliza demasiados reactivos. El alérgeno utilizado en los discos no necesita ser purificado y la anti IgE utilizada es monoclonal marcada radiactivamente o específicamente purificada. Esta prueba puede suplantár a los test cutáneos en el caso de que no se los pueda realizar en pacientes que corran riesgo al ser sometidos a dichas pruebas de hipersensibilidad; por ejemplo niños de corta edad (menores de 2 años), individuos con eczema generalizado, en casos de alergia al pescado. (26,25)

4.3 VENTAJAS DEL MÉTODO UTILIZADO EN ESTE ESTUDIO

IMMULITE 2000 es un auto analizador que utiliza un método enzimoinmunométrico quimio luminiscente en fase sólida y líquida. Representa un avance significativo sobre los métodos convencionales que se basan en la unión de alérgenos a un soporte sólido como los discos de celulosa.

Posee características que optimizan el flujo de trabajo como por ejemplo dilución a bordo para mayor velocidad y eficiencia, así como también conexión a los sistemas de automatización del laboratorio.

Utiliza una tecnología de lavado por centrifugación que garantiza mínimas uniones inespecíficas debido a la óptima separación entre las fases ligadas y no ligadas. Analiza 100 determinaciones por hora con resultados de calidad ya que es una técnica sensible y específica. (41)

Los alérgenos utilizados están estandarizados lo cual es una ventaja sobre el método de RAST en el cual falta este tipo de estandarización ya que los alérgenos deben impregnarse individualmente en el papel de celulosa de acuerdo a la determinación que se quiera realizar. RAST utiliza reactivos marcados radiactivamente lo cual produce un efecto nocivo en el ambiente.

4.4 PROCEDIMIENTO METODOLÓGICO

4.4.1 Tipo de estudio

El diseño de la investigación corresponde a un estudio cuasiexperimental transversal para determinar la prevalencia de alergia asociada a *Dermatophagoides pteronyssinus* y caspa de perro y gato correlacionando con la edad, sexo, hábitat, medio ambiente.

4.4.2 Población – ámbito de estudio

La población de estudio está constituida por 217 niños y niñas de la escuela República de Bolivia de la ciudad de Quito ubicada en la calle Iñaquito 259.

4.4.3 Muestra

4.4.3.1 Tamaño muestral y muestreo

El tamaño muestral se ha calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$N_o = pq \left[\frac{z}{e} \right]^2$$

Donde:

$p = 0,5$ (probabilidad de enfermedad)

$q = 1 - p$ (probabilidad de no enfermedad)

$Z = 1,96$ (9% de nivel de significancia)

$e =$ nivel de precisión (error)

$$n = \left(\frac{N}{N + n_0} \right) n_0$$

$$N_o = 0,5(0,5) \left[\frac{1,96}{0,05} \right]^2$$

$$N_o = 384$$

$$n = \left(\frac{500}{500 + 384} \right) 384$$

$$n = 217$$

La muestra estuvo conformada por niños/as estudiantes de la Escuela República de Bolivia de la ciudad de Quito, seleccionados a través de un muestreo probabilístico, aleatorio simple, a los cuales se les aplicó la encuesta y se les extrajo sangre venosa para la realización de la prueba por el laboratorio.

4.4.4 Unidad de estudio

La unidad de estudio son las muestras sanguíneas obtenidas de 217 niños de ambos sexos, estudiantes de la Escuela República de Bolivia de la ciudad de Quito y que cumplen con los criterios de inclusión propuestos.

4.4.4.1 Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

- Niños y niñas con edades entre 5 - 12 años, estudiantes de la escuela República de Bolivia de la ciudad de Quito.
- Pacientes sin patologías virales o infecciosas al momento del estudio.
- Niños con antecedentes personales o familiares de atopia.
- Niños y niñas cuyos padres firmaron el consentimiento informado solicitado para la realización de este estudio de investigación. Formato que se adjunta en el anexo 2

Criterios de exclusión

- Niños y niñas que al momento del estudio recibieron tratamiento con antihistamínicos y/o corticoides.
- Niños y niñas con edades entre 5 -12 años estudiantes de la escuela República de Bolivia que no acepten participar en el estudio.
- Niños y niñas que hayan sido sometidos a tratamiento con inmunoterapia (vacunas alérgicas) al momento del estudio.
- Niños y niñas que no posean consentimiento firmado por sus padres.

4.4.4.2 Variables en estudio

Variable Independiente:

Cantidad de alérgenos presentes en alergias medidos a través de IgE específica.

Variable Dependiente:

Prevalencia de alergias.

Variable Control:

Edad.

Sexo.

Condición de salud al momento del estudio.

4.4.4.3 Definiciones

- **ALERGIA:** Enfermedad debida a una reacción exagerada del sistema inmunológico (hipersensibilidad) frente a determinadas sustancias que son inocuas para la mayoría de las personas. En una reacción alérgica el sistema inmunológico responde ante una sustancia inofensiva como si fuera una sustancia dañina y produce anticuerpos, con el fin de neutralizarla y proteger al organismo ante futuras exposiciones.
- **ALERGENO:** Es una proteína o glucoproteína que puede ser inhalada, como el polvo o el polen; ingerida, como las proteínas de la clara del huevo o el marisco; inyectada, como la penicilina; o actuar por contacto, como la lana, el esparadrapo o los metales pesados.
- **PREVALENCIA:** Proporción de personas que sufren una enfermedad con respecto al total de la población en estudio.

- **Edad:** Tiempo cronológico de vida, en años y categorizados en grupos de edad.
- **Sexo:** Diferencia física y de conducta que distingue a los organismos individuales, según las funciones que realizan en los procesos de reproducción. A través de esta diferencia, existen género femenino y masculino.

4.4.5 Tabla de operacionalización de las variables

Variable general	Variable específica	Código	Escala o categoría	Indicador
Alergia	Presencia de anticuerpos IgE	0 1	Si No	Proporción (%) IC 95%
Alergeno	Presencia de anticuerpo	0 1	Si No	Proporción (%) IC 95%
Edad	Edad	0 1	5 - 8 años 8 -12 años	Proporción (%) IC 95%
Sexo	Sexo	0 1	Masculino Femenino	Proporción (%) IC 95%
Condición de Salud	Condición de Salud	0 1	Sano Enfermo (presencia de enfermedades de vías respiratorias, parasitosis)	Proporción (%) IC 95%

4.4.6 Recolección y análisis de información

4.4.6.1 Fuentes e instrumentos para la recolección de información

Encuesta y validación de la encuesta

Previo a la toma de muestra sanguínea, los niños y sus padres que participaron en el estudio fueron informados de manera concreta acerca de los objetivos de este estudio. Aquellos

padres de familia que accedieron a la participación voluntariamente de sus hijos/as y que cumplieron con los criterios de inclusión llenaron una encuesta (Anexo 3). Mediante la encuesta se recabaron datos sobre las variables sociodemográficas, factores predisponentes y preventivos para la respuesta a la alergia a estudiar.

La encuesta fue validada previamente, para lo cual se seleccionó al azar a 10 niños, de los cuales sus padres llenaron una preencuesta y respondieron adicionalmente tres preguntas extras sobre la pertinencia de este instrumento. (Anexo 6).

4.4.7 Ensayo por el laboratorio

4.4.7.1 Obtención y manejo de muestras sanguíneas

Materiales:

- 217 agujas para extracción de sangre de las pacientes.
- 4 adaptadores.
- 4 torniquetes.
- 217 tubos tapa roja sin anticoagulante.
- 1 caja de algodón individual estéril
- 1 caja de curitas adhesivas
- 1 fundas pequeñas rojas para desechos infecciosos.
- 2 marcadores permanentes para la rotulación de los tubos
- 2 guardianes para el desecho de material cortopunzante
- 2 tachos de basura con funda roja para desecho de material contaminado
- 2 tachos de basura con funda negra para desecho de material no contaminado

Para el transporte de las muestras fue necesario:

- 3 gradillas con capacidad para 100 tubos
- 1 cooler provisto del gel refrigerante
- 1 caja de guantes de látex

Procedimiento de venopunción

Se llevó a cabo de acuerdo a lo establecido en el procedimiento normalizado de operaciones para toma de muestras sanguíneas.

Transporte y almacenamiento

Las muestras sanguíneas previamente rotuladas fueron transportadas en un cooler provisto de gel refrigerante que las mantuvo a 8° C hasta llegar al lugar de fraccionamiento.

En el laboratorio NET LAB SA se procedió a realizar la identificación de las muestras con un código de barras, posteriormente se separó el suero, mediante centrifugación a 3.500 - 4.000 rpm, durante 10 min. Las muestras séricas se ubicaron en el porta tubos mecánicos que dispone el equipo para su análisis.

4.4.7.1.1 Análisis AlaTOP Screening de Alergia.

Materiales y reactivos

- Estuche de reactivos AlaTOP Symmed (Anexo 7)
- Componentes del estuche de reactivos que se suministran por separado (Anexo 7)
- Solución de hipoclorito al 5%

- Papel absorbente.

Equipo

Autoanalizador IMMULITE 2000 (U.S. Patente N°. 4778 751).

Principio

IMMULITE 2000 utiliza AlaTOP Screening de alérgenos por quimioluminiscencia, basado en alérgenos en fase líquida, anticuerpos monoclonales y separación por anti- ligando unido a la fase sólida. El ensayo AlaTOP usa una tecnología patentada (U.S. Patent N° 4778 751) conjugando la cinética en fase líquida sobre el formato de la bola de poliestireno. Los alérgenos están covalentemente unidos a una matriz polímero – copolímero soluble, la cual tiene también unida un ligando; el anti – ligando está recubriendo la bola de poliestireno a fin de capturar los alérgenos unidos a ese ligando. (Anexo 7)

4.4.7.1.2 Cálculos

El punto de corte (Cut off) está determinado por el fabricante con muestras representativas que mostraron una óptima sensibilidad y especificidad para el ensayo. El Cut off es obtenido de la media de las cuentas por segundo del ajustador bajo (ajuste más reciente) multiplicado por el parámetro de la curva que se encuentra en la pantalla de información del kit a la cual se accede a través del menú del equipo IMMULITE 2000.

El cálculo del ratio señal /cut off (s / co) se realiza utilizando la siguiente fórmula:

$$S / CO \text{ Ratio} = \text{Muestra o control cps} / \text{Media cps ajustador} \times P1$$

El cálculo e informe del resultado (reactivo, no reactivo e indeterminado) y ratio s /co son obtenidos automáticamente por el equipo.

El resultado para una muestra es informado como indeterminado si las cuentas por segundo para la muestra entran dentro del $\pm 10\%$ del cut off. El resultado es informado como reactivo si las cuentas de la muestra están sobre el rango indeterminado y no reactivo si están por debajo del rango

4.4.7.1.3 Validación del análisis

Para iniciar el análisis de las muestras se realizarán primero los procedimientos de mantenimiento rutinario del equipo como los son: inicialización, preparación de diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Para realizar el control de calidad se utilizarán controles suministrados en el kit para monitorizar el ensayo y su continua aplicabilidad en base al punto de corte reactivo, no reactivo, indeterminado. (Anexo 7)

4.4.7.1.4 Interpretación de resultados

Reactivo: Un resultado reactivo ($\text{ratio } s/\text{co} > 1,1$) indica que los anticuerpos frente a uno o más de los componentes alérgicos del panel están presentes en la muestra del paciente.

No reactivo: Un resultado no reactivo ($\text{ratio } s / \text{co} < 0,9$) indica la no detección de anticuerpos frente a los componentes alérgicos.

Indeterminado: Debe repetirse la prueba para cualquier resultado indeterminado ($\text{ratio } s / \text{co}$ $0,9$ y $< 1,1$).

4.4.7.2 Análisis de anticuerpos IgE específicos para Dermatophagoides pteronyssinus y caspa de perro y gato.

Materiales y reactivos

- Cartucho de Bolas de 3g Allergy IgE específica
- Vial de reactivos de 3g Allergy IgE específica
- Ajustador alto y bajo de 3g Allergy IgE específica.
- Anticuerpo ajustador 3g Allergy IgE específica.
- Kit universal de controles de 3g Allergy IgE específica.
- Anticuerpo control 3g Allergy IgE específica.

Componentes del kit que se suministran por separado:

- Diluyente para muestras de 3g Allergy IgE Específica.
- Substrato quimio luminiscente, módulo de lavado de sonda, Kit de limpieza de sonda, Tubos de reacción (desechables).
- Alergenos específicos 3g allergy .

Equipo

Autoanalizador IMMULITE 2000 (U.S. Patente N°. 4778 751).

Principio y Procedimiento de la Prueba

IMMULITE 2000 3g Allergy IgE Específica es un análisis enzimoimmunométrico quimioluminiscente en fase sólida, sucede en dos pasos, y se basa en cinéticas en fase líquida en formato de bola.

En este tipo de prueba inmunológica los alérgenos se unen covalentemente a una matriz polímero / copolímero soluble, la cual está marcada con (biotina).

La fase sólida (bola de poliestireno) está recubierta con estreptavidina, la fase líquida consiste en fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo monoclonal murino anti - IgE humana en una matriz de suero humano /no humano con solución tampón.

(Anexo 8)

En el primer ciclo la muestra del paciente y el alérgeno específico marcado con ligando (biotina) se incuban junto con la bolilla recubierta con estreptavidina, durante 30 minutos. En este tiempo, la IgE específica presente en la muestra se une al alérgeno, el cual a su vez se une al estreptavidina de la bolilla. La muestra no unida se elimina mediante lavados por centrifugación. (Anexo 8)

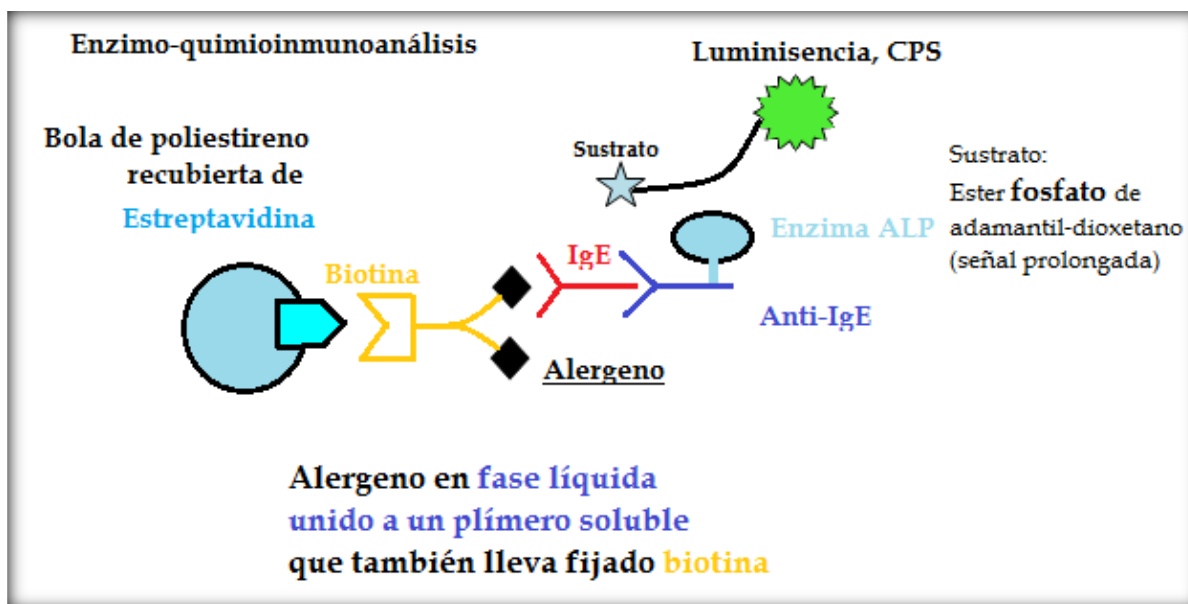


Ilustración 12: Principio Immulite 2000 3gAllergy IgE específica(34)

En el segundo ciclo, se añade la enzima conjugada con anticuerpo monoclonal murino anti-IgE humana al tubo de reacción y se incuban 30 minutos más. El conjugado enzima - anticuerpo monoclonal murino frente a IgE humana se une a la IgE inmovilizada. El

conjugado con enzima no unido se elimina mediante lavados por centrifugación. Finalmente, se añade el sustrato quimioluminiscente (éster fosfato de adamantil – dioxetano) al tubo de reacción que contiene la bolilla y se genera una señal proporcional a la enzima unida.

(Anexo 8)

Validación del análisis

Para iniciar el análisis de la muestra se realizarán primero los procedimientos de mantenimiento rutinario del equipo como los son: inicialización, preparación de diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Para realizar el control de calidad se utilizarán controles suministrados en el kit a dos niveles para monitorizar el ensayo y su continua aplicabilidad en base al punto de corte. (Anexo 8)

Interpretación de los Resultados

Resultados de alérgenos individuales: La cantidad de IgE endógena para un determinado alérgeno está indicado por medio de clases. En la siguiente tabla se indican los resultados cuantitativos (kU/L) y la interpretación del resultado en clases para el sistema de clasificación estándar.

CLASE	kU/ I	REACTIVIDAD PARA ALÉRGENOS INDIVIDUALES / PANELES
0*	<0,10	Ausencia o indetectable +
	0,10 - 0,34	Muy Bajo
I	0,35 - 0,69	Bajo
II	0,70 - 3,49	Moderado
III	3,50 -17,49	Alto
IV	17,5 - 52,49	Muy Alto
V	52,5 - 99,99	Muy Alto
VI	>100	Muy Alto

*Clase 0 en el sistema estándar significa: no detectable por ensayos de Segunda generación.

+ND: no detectable por IMMULITE 2000 3gAllergy.

kU/I : Subunidad catalítica que expresa unión en sitios específicos.(Anexo 8)

4.4.8 Limitaciones de las pruebas utilizadas en este estudio

- Los resultados in vitro de IgE alérgico – Específica no deben ser utilizados como guía definitiva para la elección de una dosis inicial de inmunoterapia. Antes debe realizarse un test cutáneo para demostrar la tolerancia del paciente.
- Existe la posibilidad de reacciones cruzadas dentro de una misma familia de alérgicos.

4.4.8.1 Interferencias de las pruebas utilizadas en este estudio:

Algunas propiedades del suero pueden modificar los resultados por lo que es importante considerar las siguientes características de la muestra:

- Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias.
- Muestras de pacientes que con frecuencia están expuestos a animales o productos séricos animales pueden ocasionar resultados anómalos.

4.4.8.2 Control de calidad

Se corrieron los controles positivo, negativo y el reactivo ajustador que proporciona el kit de reactivos con el objetivo de monitorizar el ensayo para asegurar así una óptima sensibilidad y especificidad para el ensayo.

4.4.8.3 Manejo específico del experimento

- Se solicitó a la Directora de la Escuela República de Bolivia la autorización para que este estudio se realice en los niños /as que asisten regularmente a este centro educativo. (Anexo 1).
- Se informó mediante una reunión con los padres de familia y la Directora del plantel los objetivos del estudio, la importancia del mismo y los requerimientos.
- Los padres de los niños / as que participaron de forma voluntaria y que cumplían con los criterios de inclusión firmaron un consentimiento informado.
- Se aplicó una encuesta anónima y codificada a los padres de familia de los niños /as que accedieron a formar parte de este estudio con el objeto de obtener datos sociodemográficos, hábitos y conocimientos. (Anexo 3).
- Se procedió a tomar una muestra de sangre venosa de acuerdo con el procedimiento establecido. (Anexo 9). Las muestras se identificarán mediante un código.
- Se abrió una ficha por paciente, en la que se registraron cada uno de los datos recolectados. (Anexo 4).
- Las muestras sanguíneas fueron trasladadas hasta el laboratorio Net-Lab donde se procedió a separar el suero.
- Una vez realizado el proceso de identificación con código de barras se realizó la prueba de screening AlaTOP.

- A los niños /as que presentaron prueba positiva o dudosa se les realizó un estudio de quimioluminiscencia que consiste en la prueba de Alergenos individuales específicos a *Dermatophagoides pteronyssinus*, caspa de perro y gato. Las pruebas se realizaron en el laboratorio Net-Lab de la ciudad de Quito.

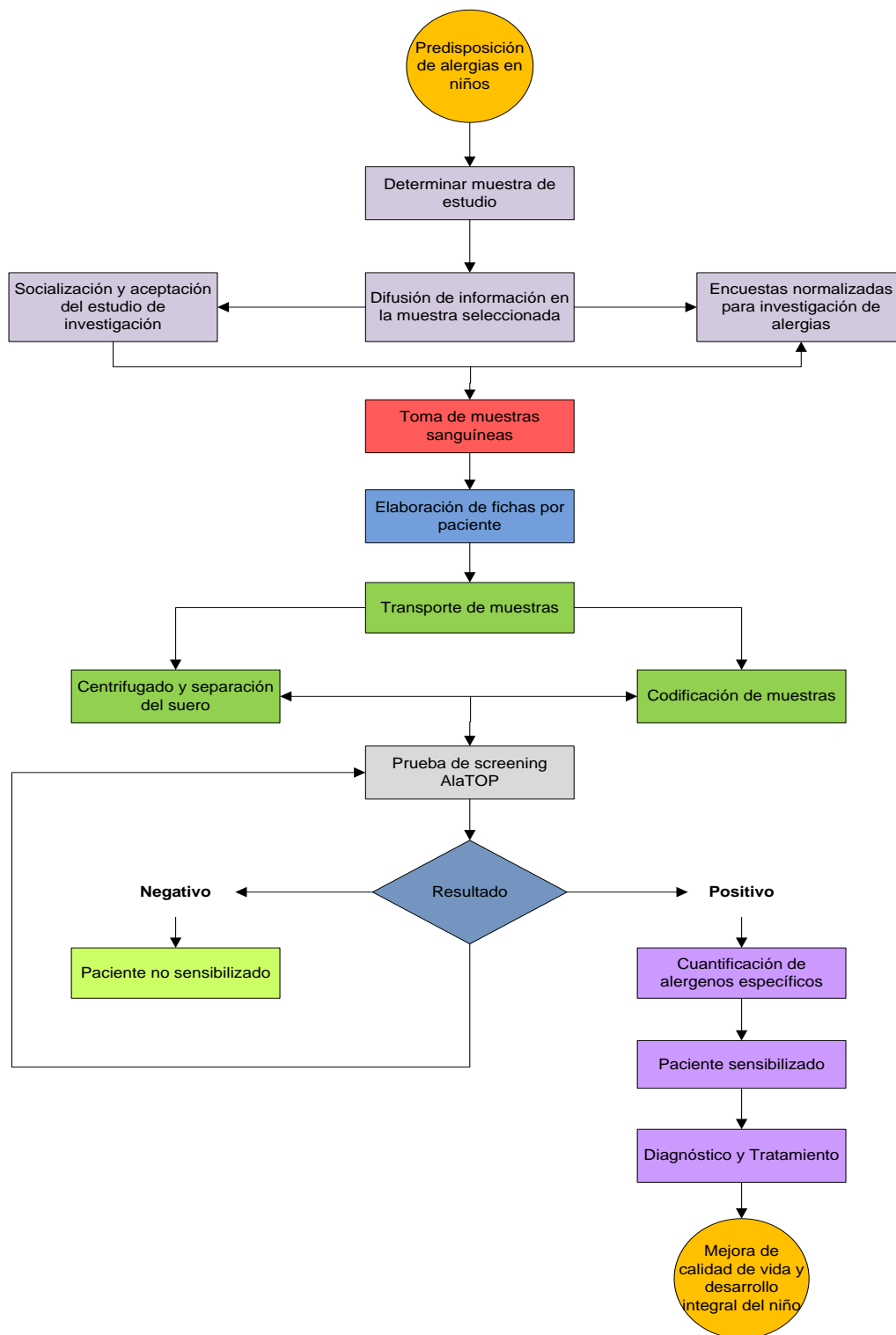


Ilustración 13: Diagrama de flujo del proyecto de investigación “Prevalencia de alergias a *Dermatophagoides pteronyssinus* , caspa de perro y gato en escolares de 5-12 años estudiantes de la escuela República de Bolivia de la ciudad de Quito mediante detección de IgE específica.(Elaborado por: Paola Pozo Rodríguez)

5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

5.1 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS

Con los resultados obtenidos tanto de la encuesta como de los ensayos de laboratorio se elaboró una ficha de datos por unidad de estudio. (Anexo 4), y una base de datos en Excel para facilitar el manejo de la información.

Se aplicó estadística descriptiva de acuerdo al tipo de variables a estudiar: proporción (%) e intervalo de confianza del 95% para la proporción. Además se realizaron pruebas de asociación como (Chi cuadrado) de Pearson.

La prevalencia se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$P_t = \frac{C_t}{N_t}$$

Donde:

Ct = Número de casos prevalentes

Nt = Población encuestada

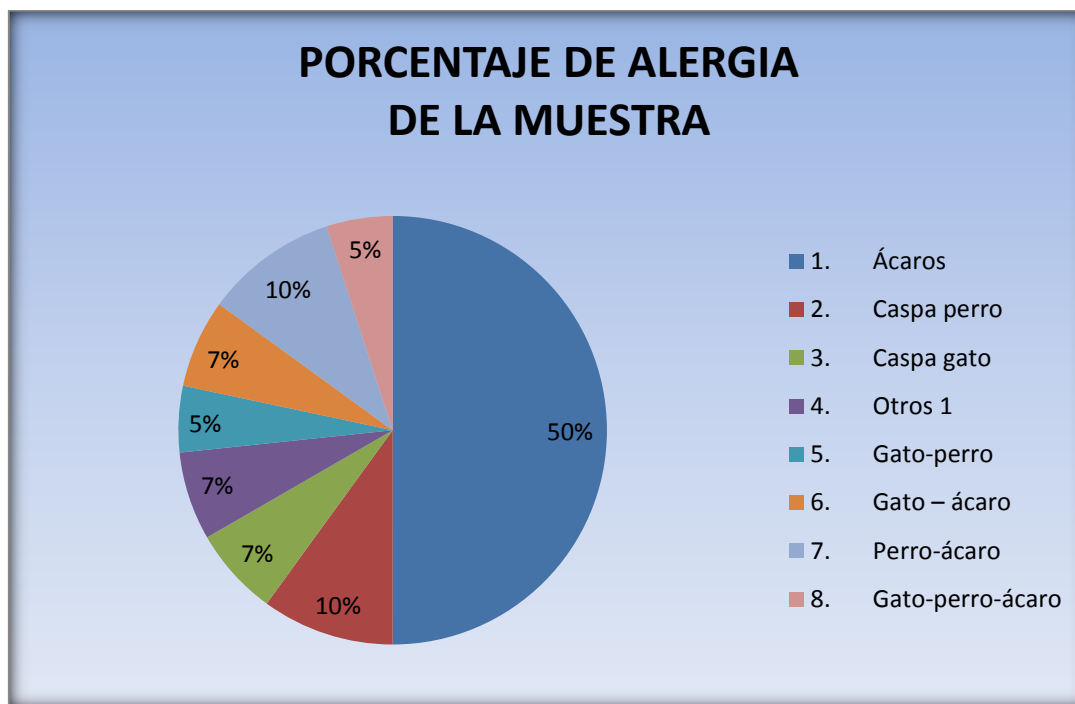
Todos los datos fueron introducidos y procesados en el programa de computación SPSS versión 11.5.

5.2 RESULTADOS

TABLA GENERAL DE PREVALENCIA A LOS ALERGENOS EN ESTUDIO

ALERGENOS	NUMERO	% TOTAL	% DE ALERGIA
1. Ácaros	30	13.82	50.00
2. Caspa perro	6	2.76	10.00
3. Caspa gato	4	1.84	6.67
4. Otros ¹	4	1.84	6.67
5. Gato-perro	3	1.38	5.00
6. Gato – ácaro	4	1.84	6.67
7. Perro-ácaro	6	2.76	10.00
8. Gato-perro-ácaro	3	1.38	5.00
TOTAL	60	27.65	100%

¹ Se refiere a ensayos de IgE Total elevada que cuando se cuantifico alérgenos específicos no coincidieron en respuesta a los alérgenos investigados en el estudio. Posiblemente son positivos para otro tipo de alérgenos inhalantes del polvo casero.



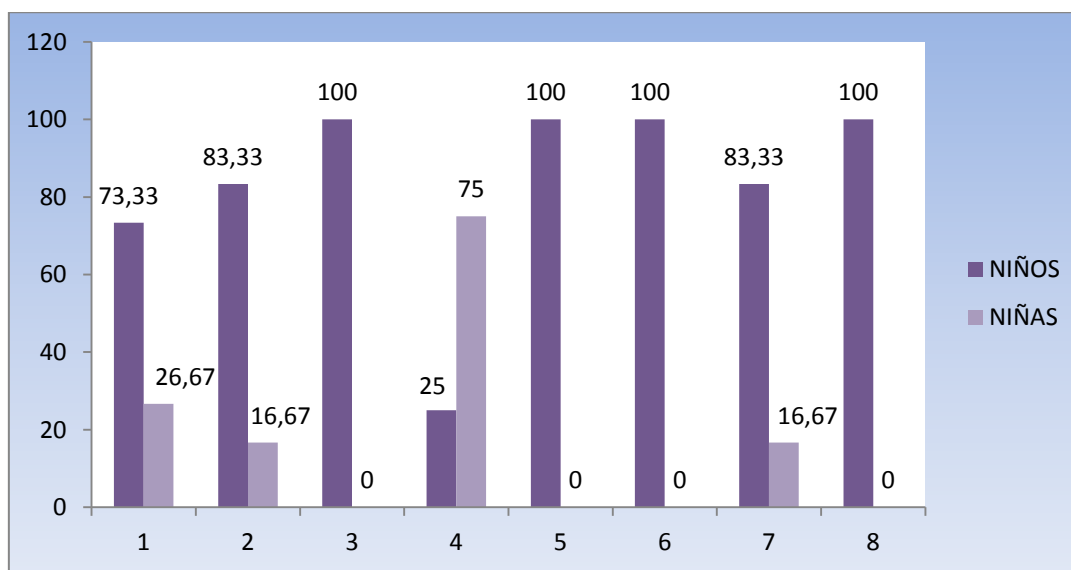
5.3 ANALISIS DE RESULTADOS TABLA GENERAL DE PREVALENCIA DE ALERGIAS

Los resultados descritos en esta tabla expresan que existen diferencias significativas en la prevalencia a los alérgenos estudiados. Se observa que la mayor prevalencia es para el alérgeno ácaros. ($\chi^2 = 78.4, p=0.000$).

Según los datos estadísticos de esta investigación los ácaros son la primera causa de alergia y la especie más prevalente es el *Dermatophagoides pteronyssinus*.

5.3.1 Prevalencia por sexo

ALERGENOS	NIÑOS		NIÑAS		TOTAL
	N°	%	N°	%	
1	22	73.33	8	26.67	30
2	5	83.33	1	16.67	6
3	4	100.00	0	0.00	4
4	1	25.00	3	75.00	4
5	3	100.00	0	0.00	3
6	4	100.00	0	0.00	4
7	5	83.33	1	16.67	6
8	3	100.00	0	0.00	3
TOTAL	47	78.33	13	21.67	60



ANÁLISIS POR SEXO:

Se encuentra diferencia de prevalencia entre niños y niñas, observándose un mayor porcentaje de alergias en niños con un 78.3% frente a las niñas con un 21.6%. ($\chi^2 = 19.3, p=0.000$).

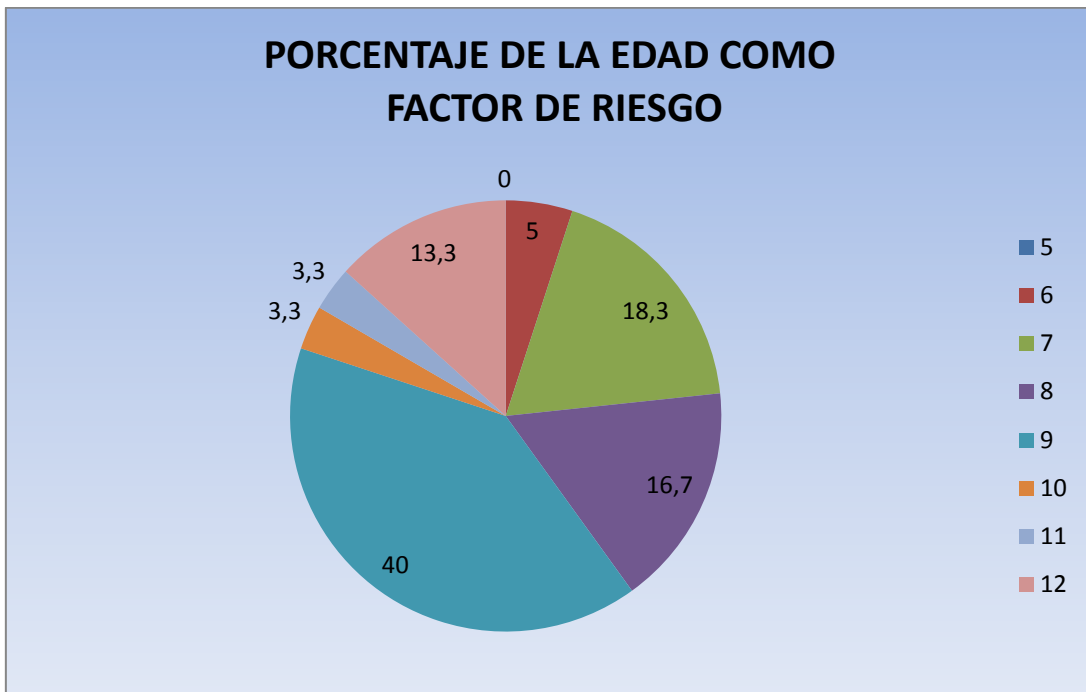
Esta mayor diferencia entre niños y niñas se refleja para el alérgeno ácaros. ($X^2 = 6.5$, $p=0.01$).

Puesto que en casos positivos para alergias a:

- Ácaros de un total de 30 el 78.3% fueron niños y el 26.6 % niñas.
- Caspa de Perro de un total de 6 el 83.3% fueron Niños y el 16.6% niñas.
- Caspa de Gato con un total de 4 el 100.0% fueron niños y el 0.00% niñas.

5.3.2 EDAD COMO FACTOR DE RIESGO PARA LA PREVALENCIA DE ALERGIAS EN ESCOLARES

EDAD	CASOS	%
5	0	0.0
6	3	5.0
7	11	18.3
8	10	16.7
9	24	40.0
10	2	3.3
11	2	3.3
12	8	13.3
TOTAL	60	100%



ANÁLISIS POR EDADES:

Las alergias están relacionadas con la edad, observándose que la edad más crítica está entre los 7- 9 años y principalmente a los nueve. Con una mayor sensibilización en esta edad para ácaros. ($\chi^2 = 42.4$, $p=0.000$)

5.3.3 Síntomas vs alergias

	Estornudos Catarro	Picor: Nariz Ojos	RINITIS DIAGNOSTICADA	TOTAL	%
Alergia a gato	1	2	0	3	9.7
Alergia a perro	1	1	1	3	9.7
Alergia a ácaro	8	5	3	16	51.6
Gato-Perro	0	1	0	1	3.2
Gato-Acaro	1	2	0	3	9.7
Perro-Acaro	1	1	1	3	9.7
Gato-Perro-Acaro	0	1	0	1	3.2
Otros	1	0	0	1	3.2
TOTAL	13	13	5		
	41.9%	41.9%	16.1%		

SINTOMAS	FRECUENCIA	%
SI	31	51.7
NO	29	48.3
TOTAL	60	100.00

ANÁLISIS SINTOMAS VS ALERGIAS:

No hubo un síntoma que sea de relevancia y que se manifieste con mayor frecuencia que otro en los individuos alérgicos del presente estudio. ($X^2 = 0.007\%$, $p=0.796$).

En cuanto a los síntomas registrados no se encontraron diferencias significativas entre estornudos – catarro (41.9%) y picazón de nariz – ojos (41.9%) en relación con la presencia de rinitis provocada por los alérgenos del estudio. ($X^2 = 4.1\%$, $p=0.127$).

Es de gran importancia resaltar que el 51.6% de los niños que presentaron síntomas estuvieron relacionados con la alergia por sensibilización a ácaros.

($X^2 = 45.1\%$, $p=0.000$).

5.3.4 Ambiente vs alergias

	A.Gato	A.Perr	A.Acar	A.Gat Perro	A.Gat Acaro	A.Perr Acaro	A.Gato A.Perro A.Acar	Otros
Fumar	2	4	20	1	2	4	1	4
Mascotas	4	5	17	3	4	5	3	1
Gato	2	2	7	1	2	2	1	0
Perro	2	3	10	2	2	3	2	1
Ga-Pe	0	0	0	0	0	0	0	0
Otros	0	0	0	0	0	0	0	0
Alfombra	0	0	7	0	0	0	0	0

ANÁLISIS:

El cuadro en el que se observa la influencia del medio ambiente y la presencia de alergias confirma que el poseer mascotas sumado al hábito de fumar por parte de uno de los progenitores y el exponer a los niños y/o niñas al humo del cigarrillo está relacionado fuertemente con el desarrollo de alergias a los alérgenos investigados, considerando solamente a los que presentaron alergias (n=60). ($X^2 = 34.5\%$, $p=0.000$).

Esto comprueba que la descamación de humanos y mascotas más los factores de humedad, temperatura, presencia de alfombras y sustancias volátiles como el humo del cigarrillo hacen que los ácaros tengan un micro hábitat propicio para su desarrollo, llegando así a la presencia de niveles críticos de estos alérgenos capaces de sensibilizar y desencadenar una respuesta alérgica.

5.4 TABLAS DE RESULTADOS EN LAS QUE SE EVALÚA LA INFLUENCIA DE FACTORES DE RIESGO DE FORMA INDIVIDUAL Y LA PRESENCIA DE ALERGIAS.

5.4.1 Exposición al humo del cigarrillo vs alergias

EXPOSICIÓN AL HUMO DEL CIGARRILLO	SI NO	ALERGIAS		
		SI	NO	
		38	99	
22	58	80		
TOTAL	60	157	217	

ANÁLISIS:

En la tabla se observa que la exposición al humo del cigarrillo no es un factor determinante para la presencia de alergias, por lo que de 137 niños /as expuestos al humo del cigarrillo 99 no las poseen.

Por lo tanto la exposición al humo del cigarrillo sin sumarse a otros factores de riesgo no está relacionada con la presencia de alergias. ($X^2 = 0.001\%$, $p=0.97$)-

El humo del cigarrillo es un desencadenante no alérgico que contribuye como agravante de la crisis de asma o rinitis alérgica ya que tiene la capacidad de permanecer en el aire durante periodos prolongados de tiempo en ambientes cerrados, representando un factor de riesgo para los niños asmáticos tanto alérgicos como no alérgicos.

5.4.2 Mascotas vs Alergia

MASCOTAS	SI NO	ALERGIAS		
		SI	NO	
		42	11	53
		18	146	164
TOTAL	60	157	217	

ANÁLISIS:

Las alergias estuvieron relacionadas con la presencia de mascotas (perro, gato) en los hogares, independientemente de otros factores ambientales. ($\chi^2 = 93.32\%$, $p=0.000$).

Los gatos y perros además de ser portados de alérgenos poseen un ciclo de descamación cutánea, brindando a los ácaros una fuente de alimento para su desarrollo. Esta es la explicación por lo que la población en estudio tiene una alta prevalencia de alergias a ácaros de polvo doméstico.

Los bajos porcentajes encontrados en relación a la prevalencia de alergia a caspa de perro y gato en los niños de este estudio se deben a que probablemente estuvieron expuestos a estos animales y por consiguiente a sus alérgenos a muy temprana edad lo que les permitió desarrollar una resistencia a la sensibilización a dichos alérgenos.

5.4.3 Alfombras vs Alergia

ALFOMBRAS	SI NO	ALERGIAS		
		SI	NO	
		7	38	45
		53	119	172
TOTAL	60	157	217	

ANÁLISIS:

La presencia de alfombra en los hogares de la población estudiada no tiene relación con la presencia de alergias. ($\chi^2 = 4.15\%$, $p=0.042$), puesto que 172 hogares refieren no poseer este tipo de tejidos que generalmente se utilizan para recubrir pisos y que poseen la profundidad adecuada para retener humedad, polvo, detritus de descamación humana y animal; convirtiéndose en un excelente micro hábitat para la reproducción y crecimiento de partículas alérgicas provenientes de los ácaros.

Sin embargo podemos observar que 53 niños que habitan estos hogares poseen alergias. Esto explica que cuando un individuo ha sido sensibilizado por un alérgeno no es relevante la ubicación o almacenamiento de partículas alérgicas, sólo es suficiente la presencia del alérgeno en su entorno para que se desencadene la reacción alérgica.

6. DISCUSIÓN

En un total de 217 niños que participaron del estudio prevalencia de alergias a *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp1) y caspa de perro y gato, estudiantes de la escuela República de Bolivia de la ciudad de Quito mediante detección de IgE específica se encontraron resultados que reflejan una prevalencia del 13,82% para el alérgeno ácaros siendo éste la primera causa de alergias para esta población.

Los resultados encontrados concuerdan con hallazgos de otras investigaciones que concluyen que el alérgeno producido por el ácaro Dp1 es el que causa mayor sensibilización en los individuos que presentan alergias a inhalantes.

Algunos artículos ¹ de estudios publicados refieren que en investigaciones realizadas en niños de seis meses a doce años de edad el ácaro *Dermatophagoides pteronyssinus* es el agente con mayor capacidad de sensibilización a niños menores de 12 años, incluyendo a los que poseen diagnóstico de asma alérgico. (21, 24, 27,28)

Bajo este contexto esta investigación demostró que los ácaros al ser alérgenos perennes presentes en el polvo doméstico, causan inflamación, hiperreactividad bronquial y son desencadenantes de crisis aguda de asma alérgico en niños.

Con respecto a la prevalencia de alergias para caspa de gato (1.84%) y perro (2.76%) tiene frecuencias menores puesto que algunos estudios indican que la exposición temprana a estos animales provee protección a los individuos. (7,15). Además en gran parte de la población ecuatoriana es común encontrar animales domésticos que comparten las viviendas, siendo el gato o el perro los más comunes

¹ Costa Rica (33% de niños sensibilizados a Dp1) ; Cuba (Describe a Dp1 como el principal alérgeno productor de rinitis alérgica) ; La sociedad Iberoamericana de Información Científica publica datos de prevalencia de sensibilización Dp1 del 24,1%.

Parece ser que estos alergenos por si solos no son capaces de generar o desencadenar una respuesta alérgica en la mayor parte de la población estudiada, pero si contribuyen como factores de riesgo y desencadenantes de la respuesta alérgica en individuos alérgicos y asmáticos. (37)

En cuanto a los datos recopilados para edad y sexo se determina que el sexo masculino en los rangos de 7- 9 años presenta más casos de alergias que el sexo femenino. Estudios epidemiológicos acerca del asma y la rinitis alérgica en la niñez afirman que esto se debe a que la morfología de las vías aéreas del sexo masculino durante la niñez posee un diámetro menor que las del sexo femenino. (41)

CONCLUSIONES

- Al término de esta investigación se encontró que el ácaro *Dermatophagoides pteronyssinus* tienen un papel prevalente del 13,82% con respecto a los alérgenos caspa de perro 2,76% y caspa de gato 1,84%.
- Existe un mayor predominio de alergias a *Dermatophagoides pteronyssinus* y caspa de perro y caspa de gato en el sexo masculino que en el femenino.
- Se encontró que los niños son más propensos a las alergias que las niñas en el rango de 7 – 9 años de edad. Lo cual demuestra que la prevalencia de alergias nasales se relaciona con la edad del individuo.
- El ácaro Dp1 provoca mayor recurrencia de síntomas que los alérgenos de la caspa de perro y gato para la población estudiada.

RECOMENDACIONES

Se recomienda que:

- Patologías como el asma y la rinitis alérgica deben ser diagnosticadas de forma precisa y oportuna para aplicar el tratamiento adecuado y mejorar la salud, calidad de vida de los niños que las padecen.
- La información de la prevalencia y el incremento de la misma durante los últimos años debería ser investigada por los organismos de salud locales para capacitar e informar a miembros de la salud sobre el diagnóstico, tratamiento y seguimiento específico de estas enfermedades, para reducir de esta forma ausentismo escolar, laboral y uno de los motivos para enormes gastos en la atención de salud pública.
- Educar a la población sobre las medidas de higiene y limpieza para de esta forma evitar la acumulación de alérgenos de ácaros domésticos para minimizar los riesgos de exposición a los mismos.
- Difundir el uso de aspiradoras con filtros Hepa ² para la limpieza periódica de los hogares que poseen alfombras, muebles y colchones con tapizados y rellenos de profundidad, así como el uso de acaricidas en las viviendas de individuos alérgicos.
- Recordar siempre que el desarrollo de técnicas de inmunoensayo para la detección de IgE alérgeno específica nos permiten conocer el grado de sensibilización y el alérgeno

² El filtro Hepa fue desarrollado por la Comisión de Energía Atómica durante la Segunda Guerra Mundial. Este tipo de filtros está compuesto de diminutas fibras de vidrio, que tejidas, forman un papel muy tupido. De este modo se crea un filtro con un tamiz muy pequeño que permite capturar partículas diminutas. Una vez que las partículas contaminantes han atravesado el filtro no pueden volver de nuevo al aire Debido a sus poros altamente absorbentes.

productor de la alergia en el individuo, no con objetivo diagnóstico sino con la finalidad de proveer información relevante sobre la concentración ambiental del alergen que permite al facultativo escoger la terapias de evasión o inmunoterapia según sea el caso.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abbas, Lichtman. *Cellular and molecular immunology*. Philadelphia. Elseiver saunders. 5ª Ed. 2005.
2. Bellanti, Joseph. *Inmunología*. México. Interamericana. 2002.
3. Carballo Ramón. “Análisis inmunológico y estructural de los alérgenos”. *Alergia Asma e Inmunología*. Rev. Asoc. Colomb. Colombia. 2000.
4. Carral, Celsa. *Impacto Clínico de las especies de ácaros en los pacientes atópicos*. Reuniones Anuales: ponencias de la edición de 2009.
5. Delves, Peter & Roitt, Iván. *Encyclopedia of immunology*. London. Academi Press. 2ª Ed. 2008.
6. Fernández, Enrique. *Alérgenos de interior*. Barcelona. MRA ediciones. 2004.
7. Fireman, Philip. *Atlas of Allergies and Clinical Immunology*. México. Mosby. 3ª ed. 2006
8. Holgate Stephen & otros. *Allergy*. México. Mosby. 3ª Ed. 2006.
9. Kay, Barry, Kaplan, Allen, Bousquet & Hol, Patrick. *Allergy y allergy disease*. Singapure. John Wiley & Sons, 2009.
10. Kuby, Janis. *Immunology*. México. Macmillan Higher Education. 2007.
11. Lessof, M.H. *Alergia, Aspectos Clínicos e Inmunológicos*. Barcelona. Reverté S.A. 2008.
12. Moral de Gregorio, A. & Pola, F. *Principales Alérgenos De Interior*. Madrid. Ergón. 2007.
13. Moreno, José. *Respuesta Inmune y Mecanismos de Autoinmunidad*. México. Limusa. 2006.
14. Navarro, Ana. *Inmunología. Asma y Rinitis*. España. Capítulo 34.
15. Ohman, JL. & Lowell FC. *Allergens of mammalian origin. properties of a major feline*. Estados Unidos. 2004.
16. Peláez, Antonio & Dávila Ignacio. *Tratado de Alergología*. Madrid. Ergón. 2007.
17. Peña Martinez J. *Inmunología*. Madrid. Pirámide. 2008.

18. Roitt, Iván, Brostoff, Jonathan & Male, David. *Inmunología*. Madrid. Harcourt. 5ª Ed. 2003.
19. Rojas William. *Inmunología*. Colombia. Corporación para Investigaciones Biológicas. 2002.
20. Stites, Daniel. *Inmunología Básica y Clínica*. México. Editorial el Manual Moderno. 2009.

Páginas electrónicas:

21. Acost, V & Sancho, ML. *Prevalencia de Sensibilización a aeroalergenos*. Internet. www.bago.com. Acceso: 08/05/2012.
22. Allergien Latinoamérica. *Prevalencia de la Rinitis Alérgica*. Internet. www.allergienlatinoamerica.com. Acceso: 04/05/2012.
23. American Academy of Allergy Asthma & Immunology. *Preparando su hogar para la batalla contra las alergias interiores*. Internet. www.preparando su hogar para la batalla contra las alergias interiores Octubre 2005 /AAAA/. Acceso: 31 Oct/2006.
24. Arévalo, Myriam. *Asma y Rinitis Alérgica en preescolares*. Internet. www.Colombiamedica.univalle.edu.co. Acceso: 12/Dic/2006.
25. Arruda, Erika. *Pruebas Diagnósticas en alergia y su utilidad clínica*. Internet. www.Cielo.com. Acceso:12/Dic/2006.
26. Artaza, Carlos. *Determinación de IgE específica en el laboratorio*. Internet. //Cuantificación de Ig E específica. Acceso: 01/Junio/ 2012.
27. Avilés, José. *Perfil de Salud Ambiental de la Niñez en el Ecuador*. Internet. http://Reprimerainfancia.org/as/img. Acceso: 20/Nov/2006.
28. Bio Med Central. *Prevalencia de Alergias en Latinoamérica*. Internet. www. BMC Pulmonary Medicine.com. Acceso: 06/05/2012.
29. Colegio Mexicano de Alergia, Asma e Inmunología. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátrica*. Internet. www. medigraphic.com. Acceso: 08/05/2012.
30. Córdova, Hernán. *Revista Colombiana de Inmunoalergia*. Internet. www.Clinicali.org/esp/2006. Acceso: 20/Nov/2006.

31. Fuentes, Yadira & Castro, Raúl. *Eficiencia de las pruebas Diagnósticas en la determinación de Alergias a ácaros en niños*. Internet. www.bw.sld.cu/vaccimonitor/vm/pdf. Acceso: 08/05/2012.
32. Gráficos Galeón. *Inmunología Clínica*. Internet. www.graficosgaleon.com. Acceso: 09/05/2012.
33. Keegy Ecuador. *Las Alergias un Problema de Salud Pública*. Internet. www.ec.keegy.com. Acceso: 06/05/2012.
34. Medical Siemens. *IMMULITE 2000 SIEMENS*. Internet. www.medicalsiemens,questdiagnostics.com. Acceso: 09/05/2012.
35. Pérez, Barron. *Sistema de Complemento*. Internet. www.infectologiapediatrica.com. Acceso: 15/09/2006.
36. Red Alergia. *Alergia la Epidemia del siglo XXI*. Internet. www.Redalergia.com. Acceso: 20/Nov/2006.
37. Rodríguez, Noel. *Alergia a animales*. Internet. www.alergia.w.s. Acceso: 07/Nov/2006.
38. Zubeldia, Manuel. *Enfermedades Alérgicas BBVA*. Internet. www.alergiafbbva.es. Acceso: 04/Sept/2006.
39. Urquiza, Héctor. *Estructura Molecular de las Inmunoglobulinas*. Internet. www.temasdebioquimica.wordpress.com. Acceso: 04/Sept/2006.
40. Negro, José. *Alergia a animales domésticos*. Internet. www.alergomurcia.com. Acceso: 04/Sept/2006.
41. Soto, Manuel. *Epidemiología del asma en Costa Rica*. Internet. www.scielo.sa.cr. Acceso: 05/Sept/2006.