

INTERNATIONAL

NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

ISSN 2038-2553

2025 • Vol. 43 • n. 2



UN VIAGGIO
LUNGO 45 ANNI:
GUARDA IL VIDEO

A 45-YEAR JOURNEY:
WATCH THE VIDEO

UN VIAJE 45 AÑOS
DE DURACIÓN:
MIRA EL VIDEO



ANNIVERSARY

NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

2025 • Vol. 43 • n. 2

DIRETTORE RESPONSABILE
EDITOR IN CHIEF • DIRECTOR EDITORIAL
Gianni Mistrello

REDAZIONE
EDITORIAL STAFF • REDACCIÓN
Lorenzo Romagnoli

PROGETTO GRAFICO
GRAPHIC DESIGN • DISEÑO GRÁFICO
Maura Fattorini

STAMPA
PRINT • IMPRENTA
Àncora Arti Grafiche
via Benigno Crespi, 30 - 20159
Milano, Italia • Milan, Italy



AMMINISTRAZIONE
ADMINISTRATION • ADMINISTRACIÓN

Lofarma S.p.A.
Viale Cassala 40, 20143
Milano, Italia • Milan, Italy
tel. +39 02 581981
fax +39 02 8322512
e-mail: redazione@lofarma.it
www.lofarma.it
www.lofarma.com

Registrazione Tribunale di Milano n. 306 dell' 1.8.1980
Pubblicazione quadrimestrale

Registration with the Court of Milan n. 306 of 1.8.1980
Four-monthly publication

Registro en el Tribunal de Milán n. 306 de 1.8.1980
Publicación cuatrimestral

Il **Notiziario Allergologico** è on-line su
The **Notiziario Allergologico** is on-line at
El **Notiziario Allergologico** está en-línea en

www.lofarma.it

COPERTINA • COVER • PORTADA



ÍNDICE

Notiziario Allergologico, 2025 Vol. 43, n. 2

EDITORIAL

102

Gianni Mistrello y Domitilla Vaglio

ACTUALIZACIONES



Prefacio de Gianni Mistrello 104

Producción *in vitro* de IgE por linfocitos de sangre periférica humana 105

Romagnani S, Maggi E, Del Prete GF, Troncone R, Ricci M

Prefacio de Gianni Mistrello 107

Ácaros del polvo doméstico: 108

antecedentes históricos y técnicas para detectar su presencia

Mistrello G, Roncarolo D, Ottoboni F

Prefacio de Enrico Compalati 113

Inmunoterapia sublingual: estado del arte y puesta al día 114

Passalacqua G, Guerra L, Pasquali M, Fumagalli F, Canonica GW

Prefacio de Gianni Mistrello 120

Aspectos normativos de los productos alergénicos 121

Falagiani P

Prefacio de Enrico Compalati 129

Estudios clínicos sobre la SLIT: importancia de la metodología 130

Compalati E

Prefacio de Gianni Mistrello 138

El microarray ISAC en el diagnóstico alergológico 139

Asero R

LOFARMA ACADEMY

Franco Frati



La inmunoterapia sublingual en la práctica real actual: comparación de experiencias 149

Sambugaro G, Sambugaro R

Notiziario Allergologico

VERSIÓN PDF

El **Notiziario Allergologico** es una publicación cuatrimestral de actualización del sector de la Alergología y disciplinas afines. Se distribuye en Italia desde hace más de cuarenta años y ahora se vuelve internacional, con un nuevo diseño gráfico que incluye la traducción de los contenidos a tres idiomas: italiano, inglés y español. El objetivo de la revista sigue siendo el mismo: promover la cultura alergológica ofreciendo a los lectores la oportunidad de obtener información a fondo y al día sobre diversos temas, con un enfoque siempre atento al futuro de este sector. Esto es posible gracias a la competencia y autoridad de los autores de los artículos publicados. El carácter divulgativo de los artículos permite que sean accesibles a un gran número de especialistas, no sólo alergólogos, sino también neumólogos, pediatras y dermatólogos.



ESPAÑOL



45 AÑOS POR NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

por Gianni Mistrello

El doble cumpleaños de Lofarma y del Notiziario Allergologico

En nuestra cultura, las celebraciones y festividades se concentran especialmente con ocasión de las repeticiones múltiples de 10. En este caso, un cumpleaños normal cobra un carácter muy especial, al coincidir con el 80º aniversario de Lofarma, Empresa a la que debemos la creación de 'Il Notiziario Allergologico', que por su parte cruza la línea de meta de los 45 años de publicación y lo hace con un número especial que incluye una selección de algunos de los artículos más destacados publicados a lo largo de sus cuarenta y cinco años de vida, y que atestiguan el espíritu que inspiró su creación. Las breves introducciones que acompañan a cada artículo también ofrecen un análisis del contexto actual en el que estos temas siguen siendo pertinentes y, en algunos casos, siguen estando en el centro del debate científico y médico.

Breves notas sobre la Empresa

Estoy convencido de que muchos lectores se unirían a nosotros en el brindis por el acontecimiento, no sólo los principales protagonistas que desgraciadamente ya no están con nosotros: en primer lugar el Dr. Centanni, uno de los pioneros de la Alergología italiana, que tras sus primeros éxitos compartió con el ing. Tito Livio Vaglio (Director del Laboratorio Farmacéutico Lofarma) la idea de especializar la Empresa (actualmente Lofarma), centrándose en la producción de extractos alérgicos para su uso tanto en el diagnóstico como en el tratamiento de las enfermedades alérgicas. Y así fue que bajo su dirección Lofarma comenzó a desarrollarse, crecer y convertirse en lo que es hoy: una Empresa importante en el panorama italiano e internacional de la alergología, siempre dispuesta a aportar al mercado productos con un fuerte impacto innovador.

La historia del Notiziario Allergologico

Volviendo al Notiziario, si el Dr. Centanni fue el inspirador, el gran animador de la iniciativa que llevó a la creación de la revista fue el

Dr. Falagiani, en aquél entonces Director Científico de Lofarma. En aquella época, la Alergología estaba en pañales, pero mucho más en ebullición que en el pasado gracias al esfuerzo de muchos investigadores, y el Dr. Falagiani tuvo la intuición de crear una herramienta fácil de consultar que ayudara a difundir la Alergología y hacerla utilizable por un número creciente tanto de especialistas como de no especialistas. El objetivo de la revista era satisfacer la curiosidad y el deseo de conocer mejor los diversos aspectos alérgicos que en esa época se iban descubriendo, ofreciendo a los lectores una oportunidad de crecimiento y enriquecimiento cultural. Con este objetivo en mente, y gracias a su entusiasmo inspirador, logró encontrar apoyo concreto en muchos expertos en la materia de la época, que se mostraron dispuestos a colaborar, aportando sus conocimientos sobre el tema con continuas actualizaciones, siempre propuestas en forma divulgativa precisamente para facilitar su comprensión. La revista pronto se convirtió en un punto de referencia en el panorama de la alergología y fueron innumerables las aportaciones de diversos expertos en la materia que, en virtud de sus conocimientos, contribuyeron a su éxito. Prueba de ello son los numerosos agradecimientos recibidos de muchos lectores a lo largo de los años, precisamente por las actividades de actualización y divulgación científica de la revista.

La primera versión gráfica y el primer formato fueron, en efecto, muy escuetos, pero ya por aquél entonces las aportaciones eran de alto nivel. Con el tiempo, tanto la faceta gráfica como el formato se han vuelto más modernos y atractivos, manteniendo intactos el espíritu y la identidad originales de la revista. Los contenidos se actualizaban paso a paso para estar al día de los nuevos descubrimientos científicos, y la revista se enriqueció con nuevas secciones. Precisamente, en ocasión de la introducción de una nueva sección (L'Immunologo - El Inmunólogo) empecé a colaborar en la revista invitado por el Dr. Falagiani. Durante años, me encargué de redactar artículos breves en los que se explicaban, de la forma más sen-



Evolución del diseño gráfico a lo largo de 45 años desde la fundación del Notiziario Allergologico.

cilla posible, las distintas técnicas analíticas e instrumentales que se estaban desarrollando y aplicando para mejorar la normalización de los extractos alergénicos en los que se basaban los productos para el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades alérgicas. Con el prematuro fallecimiento del Dr. Falagiani, el entonces Presidente de Lofarma (Rubens Vaglio) me invitó a tomar «las riendas de la revista» con el compromiso de preservar su *misión*. Y es precisamente lo que he intentado hacer a lo largo de los años y el interés que la revista sigue despertando entre la profesión médica es para mí y para el equipo editorial (antes el Dr. Ottoboni, ahora el Dr. Romagnoli) un motivo de orgullo y un fuerte incentivo para continuar esta apasionante experiencia.

En los últimos años, la llegada de las nuevas tecnologías ha provocado inevitablemente una transformación en las formas de utilizar la información. Il Notiziario Allergologico, si bien mantenga su versión impresa, ha acogido esta evolución con entusiasmo, adaptándose a los tiempos sin perder su identidad. Efectivamente, en la

actualidad la revista también está disponible en línea, ofreciendo a los lectores, especialmente a los más jóvenes, la posibilidad de consultarla de forma aún más cómoda e inmediata.

Más recientemente, también se han añadido traducciones al inglés y al español.

La decisión de renovar Il Notiziario Allergologico supuso un paso más hacia una difusión global del conocimiento y un mayor intercambio entre profesionales. La introducción de la Sección Lofarma Academy, a cargo del Dr. Franco Frati, es nuestra respuesta concreta a la necesidad de cultivar la cultura científica en las nuevas generaciones de médicos que se preparan para afrontar los retos futuros de la Alergología.

Además del recuerdo de los protagonistas, ahora dejamos que los artículos que hemos seleccionado cuenten la historia de la revista.

Buena lectura.

Gianni Mistrello, Editor de Il Notiziario Allergologico

Para Lofarma, el 2025 marca un doble hito

por **Domitilla Vaglio**



Como destacado por el Dr. Gianni Mistrello en el Editorial, este año celebramos un doble hito en la historia de Lofarma y de Il Notiziario Allergologico. El cuadragésimo quinto aniversario de la revista coincide con el octogésimo aniversario de nuestra Empresa, una trayectoria que, desde el principio, ha estado impulsada por la pasión por la Inve-

stigación, la Innovación y la Evolución en el sector médico-científico.

Lofarma siempre ha creído en la importancia de invertir en Conocimiento, Formación y Educación Médica Continua en el sector de la Alergología. Durante más de cuatro décadas Il Notiziario Allergologico ha sido un punto de referencia para todos aquellos médicos

interesados en estar al día sobre temas relacionados con las alergias.

Con este doble aniversario, celebramos pues no sólo nuestra larga historia, sino también nuestra continua visión de futuro.

Buena lectura.

Domitilla Vaglio, Presidenta de Lofarma

por Gianni Mistrello



Notiziario Allergologico

Año I • n. 11 • Septiembre 1980

El origen tanto del concepto actual de inmunoterapia específica, que se remonta a los estudios pioneros de Noon y Freeman (que trataron a personas con determinadas manifestaciones clínicas "a ciegas" administrándoles extractos acuosos de polen únicamente por vía subcutánea), como del concepto de alergia se remonta a principios del siglo pasado. El concepto de alergia, en particular, se debe primero al médico vienés Carl von Pirquet (fue el primero en observar un cambio en la capacidad de un organismo para reaccionar ante un antígeno) y después a dos médicos alemanes,

Prausnitz y Kustner (1921), con su demostración de que una sensibilización alérgica podía traspasarse, a través del suero, de un sujeto alérgico a otro sano. Tras estos primeros pasos, no se produjeron avances significativos en el tema durante muchos años; avances que, sin embargo, fueron extraordinarios tras el descubrimiento de la existencia de una nueva clase de inmunoglobulinas por parte de dos investigadores japoneses (los cónyuges Ishizaka), y de que estas inmunoglobulinas (ahora conocidas como IgE) estaban presentes en el suero de las personas alérgicas.

En este primer trabajo, que lleva la firma del prestigioso grupo de investigación florentino de la escuela del Prof. Romagnani (esto fue en 1980), se descubrió que los cultivos de linfocitos de la sangre periférica de personas alérgicas al polen de Gramineae, cuando se estimulaban *in vitro* con extracto de Gramineae, producían IgE específicas para los alérgenos que contenían, contrariamente a lo que se podía observar en los cultivos de linfocitos de personas sanas. En el estudio también se observó que la producción de IgE específicas por parte de determinadas células específicas era el resultado de su activación previa *in vivo*. No hace falta subrayar cómo tras esta observación inicial, el grupo de investigación florentino adquirió una importancia extraordinaria en el panorama alergológico mundial, primero por demostrar la existencia también en humanos (hasta entonces sólo se había observado en ratones) de dos subtipos de linfocitos; uno conocido como Th2, capaz de producir citoquinas (IL-4, IL-5 e IL-13) que favorecen la producción de IgE y, en consecuencia, los síntomas alérgicos, y el otro conocido como Th1, capaz de producir citoquinas, como la IL-12 y el interferón gamma, capaces de bloquear el efecto del subtipo Th2 e inhibir así la respuesta alérgica. Estas observaciones impulsaron una serie de investigaciones en todo el mundo que han dado lugar a un extraordinario desarrollo en la comprensión de los mecanismos patogénéticos de las enfermedades alérgicas, además de tener importantes implicaciones clínicas en su tratamiento.

**IN VITRO PRODUCTION OF IGE BY HUMAN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS
PRODUCCIÓN IN VITRO DE IGE POR PARTE DE LINFOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA HUMANA**

Romagnani S, Maggi E, Del Prete GF, Troncone R, Ricci M.

Departamento de Inmunología Clínica, Universidad de Florencia.

Clin. Exp. Immunol. **42**, 167-174, 1980.

Este grupo de investigación está a la vanguardia del estudio de la producción *in vitro* de IgE, un modelo experimental muy interesante para estudiar las alergias.

Es bien sabido que la producción de IgE (como la de todos los anticuerpos en general) es algo muy complejo y es el resultado de varios sistemas reguladores. Hay células que, aunque no participan directamente en el fenómeno inmunitario, desempeñan un papel coadyuvante en la producción de IgE al actuar sobre los linfocitos B-IgE: se trata de los linfocitos T auxiliares. Otras células actúan sobre los mismos linfocitos B-IgE desempeñando una función inhibidora: los linfocitos T supresores.

Estos linfocitos T actúan por medio de mediadores solubles, que son de tipo químico diferente al de las inmunoglobulinas: se están realizando estudios para establecer a qué subpoblaciones pertenecen los distintos linfocitos con actividades diferentes.

Por lo tanto, la producción de IgE es el resultado no sólo de una sensibilización previa, sino también del equilibrio de estas fuerzas opuestas. Es posible que existan otros sistemas de regulación que actualmente desconocemos, del mismo modo es seguro que la regulación hoy conocida es mucho más compleja de lo descrito. Estos estudios son importantes no sólo para aumentar nuestros conocimientos, sino también para sentar las bases prácticas de una nueva estrategia de tratamiento de las enfermedades alérgicas.

Efectivamente, el objetivo de la inmunoterapia es impulsar aquellos componentes celulares con una actividad supresora sobre la producción de IgE: para lograrlo, es fundamental conocer a fondo cómo funcionan estos mecanismos. Estudiar la producción *in vitro* de IgE podría ser un enfoque acertado para este problema tan importante.

En este trabajo, que es el primero de una larga y esperamos que fructífera serie de publicaciones experimentales, los autores detectan los niveles de IgE totales y específicas de las gramíneas en cultivos, durante

7 días, de linfocitos de sangre periférica de personas no alérgicas y de pacientes alérgicos a las gramíneas: se analizó tanto la producción espontánea de IgE de células no estimuladas como la de células estimuladas con activadores policlonales de células B (*Mitógeno de la hierba poke - Pokeweed Mitogen = PWM*).

Las células de las personas normales y alérgicas produjeron IgE totales (no específicas). En cambio, las IgE específicas del alérgeno sólo se detectó en los cultivos de alérgenos. Los niveles medios de IgE totales y específicas producidos no variaron significativamente en función de si las células fueron o no estimuladas con PWM.

La secuencia de producción de IgE a lo largo del tiempo en comparación con el contenido de IgE en las células al inicio del cultivo permitió establecer lo siguiente:

- 1 - parte de las IgE totales y específicas detectada en los cultivos al cabo de 7 días no se había producido *in vitro*, sino que estaba unida a receptores de membrana de basófilos y linfocitos ya al principio del cultivo;
- 2 - parte de estas IgE ya estaban preformadas y localizadas en el sitio citoplasmático: en general, las IgE preformadas constituían casi la totalidad de IgE detectadas al final del cultivo en la mayoría de los cultivos de personas normales y en algunas personas alérgicas;
- 3 - por su parte, la mayoría de los cultivos celulares de pacientes alérgicos sintetizaron IgE *in vitro*;
- 4 - como confirmación, se observó que el tratamiento de células cultivadas con sustancias inhibitoras de la síntesis de proteínas (ciclohexamida y puromicina) inhibía la neoproducción de IgE;
- 5 - también el tratamiento con mitomicina C, una sustancia que inhibe la síntesis de DNA y, por tanto, tiene actividad antimitótica, también produjo una disminución de las IgE presentes en el cultivo a partir del día 3.

Los autores concluyen que la producción espontánea de anticuerpos por parte de las células productoras de IgE en cultivo es el resultado de una activación previa ocurrida *in vivo* en el organismo: de hecho, la estimulación con un activador policlonal de linfocitos B (PWM) no aumenta esta producción. Las investigaciones futuras tratarán de establecer si es posible influir en estas células productoras de IgE mediante manipulaciones *in vitro*, y de qué manera.

* * * * *

por Gianni Mistrello



Notiziario Allergologico

Diciembre 1998 • Volumen 17 • n. 4

Los ácaros del polvo del género *Dermatophagoides*, que dominan sin oposición nuestros entornos domésticos, son una fuente importante de alérgenos ambientales, cuya inhalación, en las personas sensibilizadas y genéticamente predispuestas, puede provocar la aparición o el agravamiento de enfermedades alérgicas específicas. En el artículo que data de 1998 (escrito por mí junto con el Dr. Ottoboni, experto acarólogo de Lofarma), se presentaba una revisión de los aspectos más relevantes, empezando por el descubrimiento, en torno a los

años sesenta (gracias a tres investigadores holandeses, Voorhorst y los cónyuges Spieksma-Boezeman), de que el componente del polvo doméstico responsable de la aparición de una patología alérgica específica debía atribuirse a la presencia de determinados ácaros (*Dermatophagoides*), relativamente desconocidos hasta entonces.

Como es natural, este descubrimiento abrió el camino a una serie de innumerables estudios que, con el tiempo, han contribuido a mejorar nuestros conocimientos sobre la biología, las fuentes de alimentación y la influencia de determinados factores ambientales domésticos (principalmente la humedad y la temperatura) que pueden favorecer la proliferación de los ácaros. Estudios posteriores han destacado la importancia de las partículas fecales como factor alérgico y, en particular, el papel del componente molecular conocido hoy como Der p 1. A su vez, estas observaciones adicionales sentaron las bases para desarrollar tanto medidas de saneamiento ambiental (fundas para colchones, acaricidas...) capaces de disminuir la carga de alérgenos en el entorno doméstico, como pruebas capaces de detectar su presencia en muestras de polvo. Entre ellas se incluye, en particular, el desarrollo tecnológico de un kit "hágalo usted mismo" mediante el cual un paciente puede medir la concentración de Der p 1 en una muestra de polvo en su propia casa, relacionando la intensidad de la coloración del punto del kit con una escala de colores de referencia. En función del resultado, el paciente puede evaluar el nivel de riesgo alérgico al que puede estar expuesto. Es cierto que actualmente el uso de pruebas "hágalo usted mismo" que permiten la visualización directa sin ayuda de instrumentos de lectura se ha convertido en algo familiar para muchas personas, dado el impresionante uso de pruebas similares que se ofrecían en el periodo Covid 19, pero hasta entonces sólo existía un kit "hágalo usted mismo": el kit de embarazo.

ÁCAROS DEL POLVO DOMÉSTICO: ANTECEDENTES HISTÓRICOS Y TÉCNICAS PARA DETECTAR SU PRESENCIA

GIANNI MISTRELLO - DANIELA RONCAROLO - FABRIZIO OTTOBONI

Departamento de Investigación - Lofarma S.p.A., Milán

RESUMEN

La alergia a los ácaros del polvo doméstico afecta a millones de personas en todo el mundo. Los ácaros que se encuentran con más frecuencia en las viviendas son los pertenecientes al género *Dermatophagoides* (*pteronyssinus* y *farinae*); los podemos considerar organismos cosmopolitas porque se encuentran en todos los lugares donde existan condiciones de humedad, temperatura y nutrición compatibles con su supervivencia. Sin duda, algunos de nuestros hábitos de vida, en términos de "confort doméstico", han contribuido a crear un microclima especialmente favorable para los ácaros. Uno de los alérgenos más importantes de los ácaros (conocido como Der p 1) está presente en las partículas fecales. Se ha observado que niveles de este alérgeno superiores a 2 microgramos por gramo de polvo están asociados al riesgo de sensibilización y al desencadenamiento de síntomas agudos en pacientes alérgicos a los ácaros. Para reducir este riesgo, si no eliminarlo, deben aplicarse medidas de saneamiento ambiental, que son más eficaces cuanto más específicas sean.

Por tanto, resulta indispensable identificar nichos en el entorno doméstico que ofrezcan hospitalidad a estos parientes filogenéticamente lejanos de las arañas.

En este artículo se repasan los distintos métodos que pueden utilizarse para detectar la presencia de ácaros en el polvo doméstico, destacando las limitaciones y ventajas de cada uno de ellos. En particular, presentamos un kit de tipo "hágalo usted mismo" desarrollado recientemente en nuestros Laboratorios de Investigación que, por su facilidad de uso y asequibilidad, combinadas con su sensibilidad y especificidad, parece ser especialmente adecuado para este fin.

PALABRAS CLAVE

Ácaros – *Dermatophagoides* – Der p 1 – ELISA – Aclotest

NOT. ALLERGOL. 17: 128, 1998

La alergia a los ácaros del polvo doméstico es un trastorno que afecta a millones de personas en todo el mundo. Estimaciones recientes indican que, sólo en Italia, el fenómeno afecta a cerca del 5% de la población y aumenta continuamente.

A diferencia de otras formas de alergia como, por ejemplo, las causadas por pólenes, la alergia a los ácaros del polvo doméstico es especialmente debilitante porque, al vivir en el hogar, provocan en el paciente una sintomatología perenne que puede manifestarse como rinitis y/o conjuntivitis en las formas leves hasta llegar al asma bronquial en las formas más graves.

Recientemente, también se ha demostrado que la exposición a los ácaros del polvo doméstico (fig. 1) puede inducir una manifestación cutánea patológica, como por ejemplo la dermatitis atópica, en pacientes sensibilizados.

Uno de los primeros informes sobre el probable papel de los ácaros como causa de las patologías alérgicas se remonta a la década de 1920.

En aquella ocasión, se observó que un grupo de trabajadores que trabajaban en un almacén de trigo desarrollaron una patología asmática, cuya causa se identificó en un ácaro (*Pediculoides ventricosus*) que era un parásito del trigo. Se planteó la hipótesis de que la inhalación de partículas suspendidas en el aire, portadoras de fragmentos de ácaros muertos, fuese la causa de la aparición del trastorno manifestado por aquellos trabajadores. Esta observación, junto con otras posteriores, demostró que los ácaros presentes en los comestibles pueden causar patologías alérgicas.

Por otra parte, la importancia de los ácaros como causa probable de la alergia al llamado "polvo doméstico" no se demostró hasta varios años después, en torno a la década de 1960. Hasta entonces, los Alergólogos realizaban el diagnóstico, y en consecuencia el tratamiento de la alergia, utilizando extractos obtenidos del polvo doméstico.

Varios investigadores se pusieron a estudiar el polvo doméstico con vistas a descubrir qué componente era el responsable de la patología alérgica. Las sospechas se centraron inmediatamente en la dirección del componente orgánico del polvo; así, plumas de almohadas, caspa de mascotas, residuos de fibras textiles, tabaco, restos de mariposas, lana, bacterias, mohos, fueron algunos de los "materiales" considerados. En ningún caso fue posible demostrar una correlación con el polvo doméstico, lo que llevó al convencimiento de que el polvo doméstico contenía sus propios alérgenos peculiares, y se planteó la hipótesis de que se generaban a partir de las sustancias orgánicas allí presentes como resultado de una degradación química.

Esta teoría fue refutada en torno a los años 60, cuando dos investigadores holandeses (Voorhorst y Spieksma-Boezeman) demostraron tajantemente que el origen de la actividad alérgica del polvo doméstico era biológico e identificaron a los ácaros, del género *Dermatophagoides*, relativamente desconocidos en aquella época, como la causa de la alergenidad del polvo doméstico. Las observaciones de los dos investigadores

holandeses activaron una serie de estudios que permitieron mejorar nuestros conocimientos sobre la biología, las fuentes de alimentación de los ácaros del polvo doméstico y la influencia que determinados factores ambientales (humedad y temperatura, en particular) pueden tener en su proliferación. Así, se ha comprobado que determinados ácaros, como los del género *Dermatophagoides pteronyssinus* y *farinae*, dominan sin oposición los entornos domésticos porque en ellos encuentran condiciones ambientales favorables, como una temperatura de 20°-30°C y una humedad relativa del aire en torno al 70%. Este hábitat justifica sobradamente el carácter cosmopolita de estos ácaros; efectivamente, es evidente que dicho microclima ambiental está normalmente presente en muchos hogares y durante varios meses al año, especialmente en nuestras latitudes.

Los ácaros pertenecen a la familia Arachnidae (por tanto, están emparentados con las arañas) y debido a su tamaño (200-400 milésimas de milímetro) son invisibles a simple vista.

Un ácaro hembra tiene una vida de tres a cinco meses, dependiendo del tipo de entorno, y puede poner hasta 300 huevos. El individuo adulto maduro se desarrolla en unas tres semanas tras una fase inicial larvaria. El principal biotopo de los ácaros es el polvo que se forma en los materiales de fibra textil presentes en los hogares. Este polvo constituye una excelente fuente alimentaria, gracias a su aporte proteínico y glucídico, procedente de los residuos epiteliales continuamente eliminados por defoliación de la piel en el ser humano. Se ha calculado que el hombre produce y libera diariamente al medio ambiente alrededor de un gramo de escamas de piel, y esto es suficiente para la supervivencia y el crecimiento de miles y miles de ácaros. También se ha demostrado que la presencia de mohos fomenta su proliferación ya que pueden facilitar la eliminación del recubrimiento lipídico de las escamas de la piel, realizando una especie de predigestión que los haría especialmente atractivos para los ácaros. La ingesta de alimento la realizan mediante un aparato bucal formado por los quelíceros y el alimento pasa a continuación por el esófago, luego por el intestino medio posterior (donde tiene lugar la digestión) hasta la parte distal donde se emiten los excrementos en forma de "bolitas" fecales que, debido a su pequeño tamaño, pueden penetrar fácilmente en las vías respiratorias.

Uno de los componentes alérgicos más importantes de los ácaros se concentra en estas "bolitas fecales", concretamente el alérgeno conocido como Der p 1, una glicoproteína con actividad proteolítica que probablemente sea responsable de su capacidad para inducir alergia en los seres humanos.

Se ha demostrado que dos microgramos de Der p 1 por gramo de polvo es un nivel umbral para el riesgo de sensibilización a los ácaros. Al parecer, no existe un valor umbral de sensibilización a los ácaros para los pacientes asmáticos. Precisamente por este motivo, los niveles de alérgenos de ácaros deben mantenerse lo más bajos posible. La presencia de ácaros en las viviendas en sí no denota escasa limpieza por parte de sus habitantes, sino la existencia de una relación simbiótica natural, de la que el hombre creyó haberse librado al hacerse la ilusión de que el agua y el jabón y otros logros de la civilización basta-

Figura 1: Ejemplar ampliado de un ácaro *Dermatophagoides*; en primer plano se aprecia el impresionante aparato bucal.



ban para evitar un contacto demasiado íntimo con huéspedes indeseados. De hecho, ciertos hábitos de la vida contemporánea (colchones y sofás cómodos, muebles tapizados, alfombras mullidas, moquetas, cortinas, radiadores, ventanas aislantes...) si por una parte han contribuido a hacer cada vez más confortable el entorno doméstico, por otra han creado el microclima ideal para la supervivencia y la proliferación de los ácaros del polvo doméstico. Dadas estas premisas, la convivencia con estos seres puede parecer inevitable, y constituye el "precio a pagar" por tener "comodidades" en el entorno doméstico, pero cabe recordar que hoy en día tenemos a nuestra disposición una serie de herramientas que pueden ayudarnos a crear condiciones de vida difíciles para los ácaros, sin tener necesariamente que renunciar a nuestros hábitos "cómodos".

El uso de fundas de colchón y de almohada adecuadas, fabricadas con materiales que forman una estructura ultrafina e impiden así el paso de los ácaros del colchón al ambiente aéreo circundante, es ya una primera y sencilla acción de profilaxis ambiental que puede ayudar a reducir notablemente la carga de alérgenos en nuestros dormitorios, lugar preferido por los ácaros.

Otra opción, que forma parte de medidas preventivas más específicas, es el uso de productos con actividad acaricida. Este tratamiento permite abordar el saneamiento del entorno doméstico de forma más amplia, limitando, y puede que incluso eliminando por completo, la proliferación de los ácaros en otras zonas del hogar que puedan ofrecerles hospitalidad, como alfombras, moquetas, cortinas, sofás, sillones y otros muebles.

Actualmente existen en comercio varios productos efectivos. De ellos, los basados en benzoato de bencilo parecen ser especialmente eficaces.

Sin embargo, está claro que la descontaminación ambiental es tanto más eficaz cuanto más selectiva sea; esto significa que es aconsejable identificar los nichos de la vivienda que están infestados de ácaros, exponiendo así a sus habitantes al riesgo de sensibilización. Teniendo esto en cuenta, es sin duda útil someter el polvo doméstico, tomado directamente de la vivienda, a un análisis para poner de manifiesto la presencia de ácaros y determinar la concentración de sus alérgenos específicos.

Entre otras cosas, este análisis es de considerable ayuda para establecer el grado de eficacia de las estrategias de saneamiento ambiental puestas en práctica. Hasta hace unos años, la única técnica disponible para detectar ácaros era la observación microscópica de los ácaros del polvo. Aun reconociendo la importancia de esta metodología, cuya aplicación permitió demostrar por primera vez la presencia de ácaros en el polvo y precisar su papel como posible causa de enfermedades alérgicas, hay que recordar que actualmente es obsoleta. La observación microscópica sigue siendo una herramienta útil para el investigador que necesita, por ejemplo, reconocer las especies de ácaros predominantes en diferentes regiones geográficas o estudiar las características biológicas de los distintos ácaros o la proporción entre ácaros vivos y muertos o las diferencias entre las etapas adulta y larvaria, pero tiene, si se considera como un análisis rutinario de muestras de polvo, una serie de desventajas que la hacen poco práctica.

Las principales desventajas son:

- la preparación de la muestra que se va a examinar, así como la evaluación al microscopio, son operaciones bastante laboriosas y que requieren mucho tiempo;
- es necesario disponer de personal debidamente formado y con conocimientos básicos, sin los cuales es difícil distinguir los elementos característicos de las distintas especies y tamaños;
- no permite determinar la importancia de la carga alérgica debida a la presencia de partículas fecales.

Un método para determinar los alérgenos de los ácaros del polvo doméstico, que resulta ser muy sencillo y al mismo tiempo rápido y, por tanto, especialmente adecuado para su aplicación rutinaria, es el basado en la determinación de la concentración de un marcador, la guanina. La guanina se encuentra en los excrementos de los arácnidos en general y es el catabolito final del metabolismo de las purinas. En el polvo doméstico, excluyendo la presencia de suficientes arañas como para influir en la prueba, los ácaros parecen constituir la especie de arácnidos más representativa.

De ello se deduce que la determinación de la guanina puede considerarse una medida, aunque indirecta, de los alérgenos de los ácaros, ya que las partículas fecales de los ácaros son una fuente importante de dichos alérgenos.

El resultado de la prueba consiste en la aparición de un color característico debido a la reacción entre la guanina y un compuesto aromático de diazonio. La intensidad del color es directamente proporcional a la cantidad de guanina en el polvo y, por tanto, a la cantidad de partículas fecales. Esta intensidad se evalúa comparándola con una escala cromática que va desde un color rojizo anaranjado (correspondiente a un nivel bajo de infestación) hasta otros con tonalidades más o menos intensas de rojo, que indican, por el contrario, la presencia de un número considerable de ácaros en el ambiente, con los consiguientes riesgos de sensibilización o desencadenamiento de síntomas alérgicos para quienes viven en dicho ambiente.

El método es semicuantitativo y, gracias a su sencillez, puede ser utilizado incluso por personas no expertas, ya que no requiere utilizar ningún equipo.

Lamentablemente, la prueba tiene algunas limitaciones, en particular una cierta insuficiencia en términos de especificidad, especialmente en los niveles de positividad medios y bajos. Experimentos llevados a cabo por varios investigadores han demostrado que resultaron falsos positivos en muestras de polvo que habían resultado negativas para la presencia de ácaros y sus alérgenos, tanto por observación microscópica como mediante ELISA inmunoenzimático específico para el alérgeno Der p 1, siendo este último fácilmente detectable, si está presente, en las partículas fecales de los ácaros.

Por lo tanto, es posible, aunque la empresa productora de los test descarte ambas posibilidades, que la guanina procedente de los excrementos de otros organismos (por ejemplo, arañas o incluso pájaros) u otras sustancias (por ejemplo, ácido úrico, el catabolito final del metabolismo nitrogenado de los insectos), interfiriendo en la reacción, contribuyan a dar los falsos posi-

vos antes mencionados.

Otra limitación de la prueba es que no permite evaluar los niveles de otros alérgenos, por ejemplo, el denominado Der p 2, que está ausente en las partículas, ya que es de origen somático y, en cambio, está presente en el cuerpo de los propios ácaros. El salto tecnológico realizado hace unos años con el desarrollo de anticuerpos monoclonales específicos de alérgenos permitió desarrollar un sistema inmunoenzimático (ELISA) de dosificación de los alérgenos (por ejemplo, Der p 1 o 2, Der f 1 o 2) de ácaros presentes en el polvo doméstico, que sigue siendo el método de evaluación más fiable debido a sus notables cualidades en términos de sensibilidad y especificidad.

Consiste en fijar una cantidad apropiada de anticuerpo monoclonal (por ejemplo, anti-Der p 1) en el pocillo de una placa de microtitulación, seguida de la incubación durante un determinado período de tiempo con la muestra en polvo (generalmente un extracto acuoso obtenido añadiendo una solución apropiada a la muestra de polvo examinada). La incubación posterior con un segundo anticuerpo monoclonal (obviamente dirigido hacia un determinante diferente del reconocido por el primer anticuerpo) conjugado con biotina, seguida de la agregación de la enzima estreptavidina-peroxidasa y su sustrato correspon-

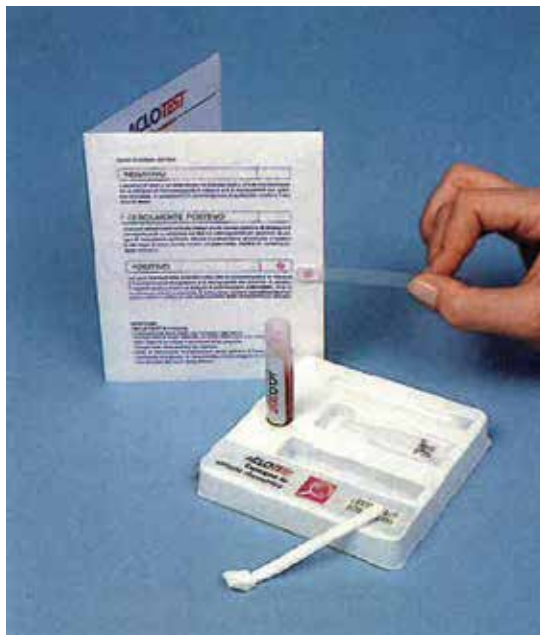
diente, da lugar al desarrollo de una reacción colorimétrica cuya intensidad se correlaciona con la cantidad de alérgeno presente en la muestra. Esta cantidad se determina por interpolación en una escala de referencia obtenida agregando cantidades conocidas de la misma. Precisamente basándose en el uso del método inmunoenzimático, un grupo internacional de investigadores, una especie de Grupo Operativo contra los ácaros, entre los que figuran los profesores Platt-Mills y Chapman (autores de numerosas e importantes publicaciones sobre el tema) bajo los auspicios de la OMS, ha establecido una relación causa-efecto entre los niveles de exposición y el "riesgo para la salud" de los seres humanos. En particular, este grupo, como conclusión del estudio, propuso que la presencia en los hogares de niveles de Der p 1 superiores a dos microgramos por gramo de polvo debería considerarse un factor importante de riesgo de sensibilización alérgica a los ácaros del polvo doméstico, mientras que los niveles de 10 microgramos por gramo constituyen un factor de riesgo de desarrollo de síntomas agudos para los pacientes ya sensibilizados a los ácaros del polvo doméstico.

Aunque el método inmunoenzimático está unánimemente reconocido como el más fiable para evaluar los niveles de alérgenos de ácaros en el polvo doméstico, no está exento de limitaciones.

Figura 2: Aclotest, el kit "hágalo usted mismo" para detectar ácaros en el polvo doméstico. Se pueden ver los distintos componentes: la tira reactiva, el dosificador, la probeta de reacción que contiene el reactivo detector en forma liofilizada y el vial que contiene la solución que se utilizará para disolver el liofilizado.



Figura 3: Aclotest: resultado de la prueba en caso de presencia de ácaros. En la tira se puede ver la mancha de color y al fondo la escala de lectura del test.



Efectivamente, realizar el test exige disponer de personal formado, utilizar material de laboratorio, incluido el instrumento necesario para efectuar la lectura (espectrofotómetro), y tiempos notablemente más largos (varias horas) con respecto al test basado en la determinación de la guanina. Además, y esto no es del todo insignificante, es indispensable someter la muestra de polvo a una extracción acuosa ya que el análisis prevé que se utilice una solución, pues no se puede realizar utilizando directamente el polvo. Esto requiere, por tanto, cierta experiencia, así como tiempo para preparar la muestra para el análisis, lo que no ocurre en el test basado en la determinación de la guanina.

Recientemente, nuestro Laboratorio de Investigación, en un intento de superar las desventajas y limitaciones asociadas al uso de los métodos descritos anteriormente, manteniendo al mismo tiempo las características de sensibilidad y especificidad propias del test inmunoenzimático, ha puesto a punto un método alternativo que se ha concretado en el desarrollo de un kit, de tipo "hágalo usted mismo", para detectar la presencia de ácaros en el polvo doméstico (fig. 2).

La rapidez de ejecución, el uso directamente del polvo en lugar de extractos acuosos preparados a partir de él, la visualización directa del resultado (sin tener que usar dispositivos de lectura), junto con su facilidad de uso, hacen que el test pueda ser fácilmente realizado y su significado interpretado incluso por el propio paciente.

El método (denominado *Aclotest*), que combina dos tecnologías diferentes (es decir, el dot-blot y la conjugación de proteínas, en este caso anticuerpos, con colorantes coloidales) se basa en el uso «en sándwich» de anticuerpos policlonales capaces de reconocer los diferentes alérgenos de los ácaros *Dermatophagoides* tanto *pteronyssinus* como *farinae*. Estos anticuerpos, cuando se fijan en la membrana (dot-blot) colocada en la tira reactiva, actúan como «agente captador» mientras que actúan como «reactivo detector» cuando se conjugan con el colorante coloidal.

El test se realiza colocando la tira reactiva en una probeta, en la que poco antes se agregan la muestra de polvo que se va a examinar y el reactivo detector.

La solución acuosa en la que se dispersa el reactivo detector realiza al mismo tiempo una función de extracción de los eventuales alérgenos de ácaros presentes en el polvo.

La aparición de una mancha de color rosa en la tira reactiva tras una hora de contacto indica la presencia de ácaros en la muestra examinada. La diferente intensidad de la mancha de color permite distinguir (relacionándola con una escala cromática) entre dos niveles cuantitativos correspondientes a dos valores diferentes de Der p 1 (fig. 3).

Un color poco intenso indica que los valores de Der p 1 se sitúan entre 0,5-2 microgramos por gramo de niveles de polvo (esto sigue significando la presencia de ácaros aunque a niveles inferiores al umbral asociado al riesgo de sensibilización), mientras que un color más intenso indica la presencia de ácaros con valores de Der p 1 muy superiores al umbral y, por tanto, con un alto riesgo de inducir patología alérgica en la persona que vive en el lugar del que procede la muestra de polvo examinada.

Por otra parte, si no aparece una señal quiere decir ausencia de ácaros o su presencia pero en niveles insignificantes. Esto está relacionado con el hecho de que el test tiene un umbral de sensibilidad que impide detectar niveles por debajo de 0,5 microgramos/por gramo de polvo.

El desarrollo de estos métodos de detección de aeroalérgenos de ácaros en el entorno doméstico puede ser de interés general para la población, pero puede llegar a ser de interés primordial para los pacientes asmáticos alérgicos y para los médicos que los tratan. Test sencillos, fáciles de usar y baratos como el *Aclotest* permiten añadir a la evaluación clínica habitual un estudio de los locales domésticos, e identificar aquellos ambientes que, cuando se habitan habitualmente durante varias horas al día, tienen más probabilidades de favorecer el desarrollo de síntomas de alergia respiratoria.

Asimismo, pueden proporcionar unos medios objetivos para evaluar la eficacia de las medidas de saneamiento ambiental, que cuando se utilizan en combinación con inmunoterapia específica, parecen ser la estrategia vencedora en el tratamiento de la alergia a los ácaros.

Bibliografía aconsejada

- Bronswijk J.E. Van - Guanine as a hygienic index for allergologically relevant mite infestations in Mattress Dust. *Exp. Appl. Acarol.* 2: 231, 1986.
- Heyman P.W. - Antigenic and structural analysis of Group 2 allergens (Der p 2 and Der f2) from house-dust mites. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83: 1055, 1989.
- Luczynska C.M. et al. - A two-site monoclonal antibody Elisa for the quantification of the major *Dermatophagoides* spp allergens, Der p 1 and Der f1. *J. Immunol. Methods* 118: 227, 1989.
- Mistrello G. et al. - Dot immunobinding assay for detection of mite antigens in house-dust samples. *J. Med. Entomol.* 35: 143, 1998
- Olsen O.T. et al. - Effectiveness of benzyl benzoate in elimination of house dust mites. *Aerobiologia* 12: 3, 1996.
- Ottoboni F., Falagiani P. and Centanni S. - Gli acari allergenici. *Boll. Ist. Sierot. Milan.* 63:5, 1984.
- Platt-Mills T.A.E. et al. - Dust mite allergens and asthma. A worldwide problem. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83: 416, 1989.
- Tovey E.R., Chapman M.D., Platt-Mills T.A.E. - Mites feces are a major source of house-dust allergen. *Nature* 289: 592, 1981.
- Verloet D. et al. - Guanine test and AgPlc in house-dust samples. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83: 293, 1989.
- Voorhost R., Spijkema-Boezeman M., Spijkema F. - Is a mite (*Dermatophagoides* spp) the producer of the house dust allergen? *Allergy und Asthma* 10: 329, 1964.

por Enrico Compalati



Notiziario Allergologico

Septiembre-diciembre 2003 • Volumen 22 • n. 3-4

En el ya lejano 2003, cuando se escribió este artículo, la SLIT acababa de recibir el «visto bueno» oficial de las sociedades científicas internacionales a través de sus respectivos documentos de consenso. La literatura científica de la época, aunque principalmente de valor exploratorio, prometía un desarrollo boyante de esta herramienta terapéutica. Sólo dos años antes, la Comunidad Europea promulgó una directiva (2001/83/CE) que encuadraba la Inmunoterapia Específica con alérgenos como un medicamento alopático, forzan-

do así la necesidad de tener pruebas sólidas de eficacia, seguridad y actividad inmunológica, esta última encaminada a modificar la evolución natural de la enfermedad alérgica y aportar ese valor añadido frente a los fármacos convencionales, que sigue siendo hoy el principal objetivo de este tratamiento. Así pues, la literatura posterior se ha enriquecido en gran medida con pruebas experimentales confirmatorias y, al mismo tiempo, con observaciones en la «práctica real», fundamentales para establecer el beneficio real percibido de la inmunoterapia, la satisfacción de los pacientes, el efecto a largo plazo y ese valor terapéutico útil para los «responsables de la toma de decisiones» en el ámbito de la política sanitaria.

Sin embargo, curiosamente cabe destacar que seguían existiendo temas dignos de ulterior investigación, como los que el artículo señalaba como áreas de necesaria investigación hace ya 22 años. A saber, una mejor comprensión de los mecanismos de acción de los distintos tipos de inmunoterapia; unas relaciones dosis-respuesta que no pueden generalizarse, ya que dependen estrictamente de las formulaciones y las características de los extractos; la caracterización de los extractos en ausencia de normas analíticas comunes; y la capacidad preventiva eficaz sobre el desarrollo del asma en los riniticos; la adherencia terapéutica que, especialmente en el caso de las SLIT, puede ser un factor crítico, pero que puede mejorarse mediante la implantación de «Programas de Apoyo al Paciente», la adopción de nuevas tecnologías electrónicas y el desarrollo de productos terapéuticos que permitan un uso flexible y ampliamente tolerado por el paciente.

La continua difusión de la SLIT en todo el mundo y el «atractivo» que tiene en los mercados emergentes permiten afirmar que sigue representando una herramienta terapéutica moderna, a la altura de la versión inyectable, que se enmarca cada vez más como un aliado del mundo de los biológicos, incluso para aquellos pacientes que sufren patologías graves. En este sentido es muy conveniente seguir investigando para añadir valor a la inmunoterapia en el ámbito de la política sanitaria.

INMUNOTERAPIA SUBLINGUAL: ESTADO DEL ARTE Y PUESTA AL DÍA

GIOVANNI PASSALACQUA - LAURA GUERRA - MERCEDES PASQUALI
FEDERICA FUMAGALLI - GIORGIO WALTER CANONICA

*Clínica de Enfermedades Respiratorias y Alergología
Departamento de Medicina Interna - Universidad de Génova*

RESUMEN

La inmunoterapia sublingual (SLIT) actualmente se acepta como una alternativa viable a la vía subcutánea, tanto en adultos como en niños, con base en estudios clínicos controlados y en datos posteriores a la comercialización. En los dos últimos años han aparecido nuevos estudios que han aclarado nuevos aspectos del tratamiento. Un estudio de metaanálisis confirmó la eficacia clínica de la SLIT en la rinitis, otorgándole la categoría de evidencia 1A. Al mismo tiempo, también se ha demostrado su eficacia en la conjuntivitis alérgica y se ha demostrado que la SLIT reduce la IL-13, por lo que fomenta el cambio TH2-TH1. Por primera vez se ha confirmado formalmente que la SLIT es eficaz a largo plazo, como la terapia de inyección, y que puede prevenir la aparición de nuevas sensibilizaciones. La adhesión terapéutica siempre se ha considerado un punto crítico de la SLIT, pero datos recientes han demostrado que en realidad la adherencia es excelente. En conclusión, los datos que respaldan la SLIT aumentan continuamente y se van aclarando nuevos aspectos. Sin embargo, quedan varios puntos dudosos, como el problema de la dosificación óptima, el de la prevención del asma en sujetos riniticos y el de la definición clara de los mecanismos. Éstas serán probablemente las directrices de futuros estudios.

PALABRAS CLAVE

Inmunoterapia sublingual - Asma - Rinitis - Seguridad - Adherencia

1. Introducción y antecedentes históricos

Se entiende por inmunoterapia específica (AIT) o vacunación alérgeno-específica la administración de dosis gradualmente crecientes de alérgeno, hasta llegar a una dosis de mantenimiento, que luego se administra en intervalos regulares. El objetivo de la AIT es desensibilizar al paciente frente a al contacto posterior con el alérgeno de que se trata, con vistas a reducir los síntomas (1). Por razones históricas, la AIT siempre se ha administrado por vía subcutánea, aunque no faltan informes anecdóticos de administración oral o bronquial (2, 3). En 1986 aparecieron los primeros informes oficiales de efectos secundarios graves (algunos mortales) debidos a la AIT (4). Estos informes supusieron un gran impulso para el estudio de las vías no inyectables (oral, sublingual, intranasal, bronquial). La vía sublingual (SLIT) pareció inmediatamente muy prometedora y, de hecho, en los años siguientes se abandonaron gradualmente las vías oral y bronquial en favor de la SLIT (3). La historia de la SLIT en los documentos oficiales se resume en la Tabla 1 (1, 5-7).

Es interesante destacar que en el transcurso de tan solo 10 años, la comunidad científica internacional ha aceptado la SLIT como alternativa a la subcutánea, para su uso en la práctica clínica habitual (7). Esto es el resultado de un gran número de estudios clínicos aleatorizados y controlados, estudios de vigilancia posteriores a la comercialización, así como de los resultados de estudios de laboratorio y farmacocinéticos. En este artículo no nos ocuparemos detalladamente de todos los estudios clínicos de eficacia y seguridad, de los que existen amplias revisiones a las que remitimos (2, 3, 8), sino que examinaremos los resultados más recientes sobre el tema y las orientaciones futuras.

2. Eficacia clínica

La eficacia clínica de la SLIT, entendida como una reducción de los síntomas y del consumo de fármacos, está bien documentada en 25 estudios aleatorizados y controlados (Tabla 2). De ellos, sólo 3 dieron resultados dudosos o negativos (9-11), y este porcentaje es muy similar al observado para la vía in-

NOT. ALLERGOL. 2003; 22: 94-99

Tabla 1. La SLIT en documentos oficiales

DOCUMENTO	AÑO	JUICIO
Position Paper EAACI	1993	«Prometedora... Se necesitan más datos... Riesgo de absorción demasiado rápida del alérgeno»
Position Paper BSACI	1993	NO CONSIDERADA
Position Paper OMS	1998	«Alternativa válida a la AIT subcutánea para el adulto... Se necesitan más datos de seguridad para el niño...»
Position Paper EAACI	1998	IDEM
Documento ARIA	2001	«Se puede administrar en la práctica clínica habitual tanto con adultos como con niños...»

Tabla 2. Estudios de SLIT controlados y aleatorizados (para una bibliografía detallada, véase el elemento bibliográfico 6)

AUTOR- AÑO	RANGO- EDAD	PACIENTES A/ P *	ALÉRGENO	DURACIÓN	DOSIS ACUMULADA	PATOL. **
Tari, 1990	5-12	30/28	Ácaros	18 meses	365 STU	R/A
Sabbah, 1994	13-51	19/29	Gramíneas	17 semanas	4.500 IR	R
Feliziani, 1995	14-48	18/16	Gramíneas	3,5 meses	25 BU	R
Troise, 1995	17-60	15/16	Parietaria	10 meses	105 BU	R
Hirsch, 1997	6-16	15/15	Acan	1 año	570 mg Der p 1	R/A
Passalacqua, 1998	15-46	10/9	Ácaros (monoide)	2 años	10.000 AU	R
Vourdas, 1998	7-17	33/31	Olivo	2 años	4 mg Ole e 1	R/A
Clavel, 1998	8-55	62/28	Gramíneas	6 meses	28 mcg Phl p 5	R/A
Horak, 1998	16-48	18/16	Abedul	4 meses	250 STU	R
Hordijk, 1998	18-45	30/27	Gramíneas	6 meses	300.000 BU	R/A
Bousquet, 1999	15-37	15/15	Ácaros	2 años	104.000 IR 4,2 mg Der p 1	A
Passalacqua, 1999	15-42	15/15	Parietaria	8 meses	265 BU 16 mcg Par j 1	R/A
Pradaliér, 1999	6-25	59/61	Gramíneas	4 meses	11000 IR 0,9 mg Phi p 5	R/A
La Rosa, 1999	6-14	20/21	Parietaria	6 meses	75.000 IR 52 mg Par j 1	R/A
Purello, 1999	14-50	14/16	Parietaria	8 meses	200 BU 12 mcg Par j 1	R/A
Pajno, 2000	8-15	12/12	Ácaros	2 años	360 mcg Der p 1A	
Guez, 2000	6-51	24/18	Ácaros	2 años	90.000 IR 2,2 mg Der p 1	R
Caffarelli, 2000	4-14	24/20	Gramíneas	3 meses	37.000 AU	R/A
Ariano, 2001	19-50	10/10	Ciprés	8 meses	250.000 RU	R/A
Bahceciliér, 2001	7-15	8/7	Ácaros	6 meses	7.000 IR 0,56 mg Der p 1	R/A
Voltolini, 2001	15-52	24/13	Árboles mixtos	24 meses	250.000 RU 0,9 mg Phl p 5/ mes	R
Lima, 2002	16-48	24/22	Gramíneas	18 meses	90.000 IR 2,2 mg Der p 1	R
Mortemousque, 2003	6-60	26/19	Ácaros	24 meses	variable	C
André, 2003	6-55	48/51	Ambrosia	7 meses	57 mcg Der p 1	R
Ippoliti, 2003	5-12	47/39	Ácaros	6 meses	7.000 IR 0,56 mg Der p 1	R/A

*A/P = Activos/Placebo **R=Rinitis A=Asma C=Conjuntivitis

yectable (12). Por lo que respecta a la rinitis alérgica, un reciente metaanálisis de la *Cochrane Collaboration* (13) confirmó con amplios márgenes que la SLIT es claramente más eficaz que el placebo y, por lo tanto, la evidencia experimental debe clasificarse como IA (resultantes de numerosos estudios aleatorizados y controlados). Los estudios relativos al asma son menos numerosos y, por lo tanto, todavía no permiten realizar un metaanálisis fiable, pero los resultados comunicados en los estudios clínicos por el momento son positivos (14-18). Recientemente, se publicó un estudio aleatorizado y controlado que confirmó la eficacia clínica de la SLIT incluso en la conjuntivitis alérgica aislada por ácaros (19). Cabe señalar que nunca se ha realizado un estudio equivalente con la AIT inyectable. El estudio más reciente disponible (20) realizado con 99 pacientes alérgicos a *Ambrosia* confirmó los resultados anteriores, informando formalmente de que la eficacia depende, al menos en parte, de la dosis. La comparación entre SLIT y AIT inyectable siempre ha sido uno de los puntos más controvertidos de la cuestión y, de hecho, se han hecho algunos estudios al respecto (21-24). Sin embargo, hay que tener en cuenta que una comparación objetiva entre dos métodos diferentes de administración sólo puede proporcionar respuestas fiables si se realiza con doble ciego y con doble encubrimiento (*double blind, double dummy*). En la actualidad, sólo se dispone de dos estudios que cumplan este criterio. El primero (25) se llevó a cabo con 20 pacientes alérgicos a las gramíneas y confirmó que no había diferencias significativas entre los dos tratamientos en lo que respecta a la eficacia clínica, aunque este estudio carecía de un grupo de control con placebo. El segundo estudio con doble encubrimiento, actualmente en fase de publicación (26), incluye también al grupo placebo y demuestra, en una población de pacientes alérgicos al abedul, que la SLIT y la AIT subcutánea son estadísticamente equivalentes y superiores al placebo. En este estudio se destaca la mejora del perfil de seguridad de la SLIT.

3. Confianza

Se sabe que la AIT subcutánea conlleva el riesgo de reacciones sistémicas graves o mortales, como se documenta ampliamente en la literatura. Se puede reducir este riesgo ajustándose cuidadosamente a las recomendaciones de seguridad, pero no se puede eliminar (27, 28). Por el contrario, durante 15 años de experimentaciones clínicas con las vías locales, nunca se notificaron acontecimientos adversos graves o potencialmente mortales ni casos de anafilaxia. Con la SLIT, los efectos secundarios más frecuentes son gastrointestinales (picor oral, náuseas, dolor abdominal), que son transitorios y pueden controlarse fácilmente reduciendo la dosis. Por otra parte, nunca se han notificado efectos secundarios sistémicos graves y la incidencia de efectos sistémicos es la misma en los pacientes tratados y en los tratados con placebo, y también en los adultos en comparación con los niños (29). Ciertamente, los estudios clínicos controlados proporcionan dato riguroso sobre la seguridad, pero una información más completa y fiable procede de los estudios de vigilancia postcomercialización, que analizan los efectos se-

cundarios notificados por los pacientes en una situación más conforme a la realidad. Existen dos estudios de este tipo, uno pediátrico (30) y otro de adultos (31). Ambos confirman que la incidencia total de los efectos secundarios notificados no supera el 10% de los pacientes. Prácticamente todos los efectos adversos son leves y nunca llevan a interrumpir el tratamiento. Cabe destacar que en los niños no se observan cambios en los mediadores mastocitarios a nivel sublingual, incluso en el caso de que se declaren síntomas locales (32). Por último, la AIT sublingual no parece causar efectos secundarios locales, tampoco en pacientes con síndrome de alergia oral (33).

4. Mecanismos de acción y farmacocinética

El estudio de los mecanismos de acción de las AIT no inyectables no ha hecho más que empezar, ya que hasta ahora los objetivos principales de los estudios eran básicamente clínicos. Desde la perspectiva de la inmunología básica, en un estudio *in vitro ex vivo* se demostró que la SLIT (34) reduce la proliferación de clones de linfocitos T específicos de alérgenos. *In vivo*, se observó que la AIT sublingual reducía la expresión de la molécula de adhesión CAM-1 en el epitelio nasal y conjuntival y la infiltración concomitante de células inflamatorias (35, 36). Un reciente estudio controlado abierto con 10 niños confirmó la reducción de la molécula ICAM-1 en el epitelio nasal junto con una menor respuesta a la metacolina (37). Un estudio pediátrico de Ippoliti y colegas también mostró una reducción de los niveles plasmáticos de IL-13, lo que confirma el posible efecto de la SLIT sobre el equilibrio linfocitario TH1/TH2 (38). El efecto sobre la reactividad bronquial inespecífica puede considerarse una prueba indirecta de un efecto antiinflamatorio. Efectivamente, la reactividad bronquial inespecífica observada en los asmáticos alérgicos se sustenta, al menos en parte, en la inflamación bronquial. A este respecto, además del estudio ya mencionado de Silvestri y colegas (37), existe otro abierto realizado con pacientes alérgicos a las gramíneas en el que se demostró una reducción significativa de la respuesta a la metacolina tras tres años de SLIT estacional (39). Más recientemente, un estudio aleatorizado de doble ciego confirmó en pacientes pediátricos que la SLIT para *Parietaria* es capaz de anular el aumento de la reactividad inespecífica durante la estación polínica (40). En cuanto a la farmacocinética de los alérgenos, es interesante señalar que no existen datos sobre la absorción de la AIT subcutánea a pesar de casi un siglo de uso clínico. En cuanto a las vías mucosas, ya existían algunos datos, aunque controvertidos, en animales (41).

Muy recientemente, se han realizado estudios farmacocinéticos en humanos, utilizando un alérgeno radiomarcado purificado y evaluando su absorción y progresión mediante centelleografía y cromatografía plasmática (42, 43). Se observó que:

- a) no hay absorción sublingual directa;
- b) parte del alérgeno radiomarcado persiste durante mucho tiempo adherida a las mucosas nasal y bucal;
- c) el alérgeno modificado (alergoide monomérico) puede ser absorbido intacto en circulación (43).

El hecho de que la vía oral pura (alérgeno tragado inmediata-

mente) no sea eficaz, mientras que la vía sublingual sí lo es, y la persistencia del alérgeno a nivel de la mucosa sugieren que el contacto con la mucosa es una fase crítica para el mecanismo de acción.

5. Aspectos controvertidos y perspectivas futuras

Uno de los aspectos aún poco claros de la SLIT es el de la dosis óptima. Efectivamente, de la revisión de los estudios publicados sólo puede deducirse que la SLIT es eficaz con dosis entre 3 y 400 veces superiores a las utilizadas en la AIT subcutánea, pero aún no está claro qué dosis es la mejor. Por otra parte, es cierto que a medida que aumenta la dosis aumentan los efectos secundarios, al menos los gastrointestinales (44). Sin embargo, un estudio reciente de André y colegas (45) demostró que existe cierta relación directa entre la dosis y los efectos clínicos (cuanto mayor es la dosis, más notable es la mejoría de los síntomas). Uno de los posibles argumentos en contra de la SLIT se refiere a la adherencia al tratamiento (*compliance*), ya que la vacuna es manejada directamente por el paciente en su domicilio. En realidad, con la vía subcutánea (que teóricamente debería tener una adherencia del 100%), la tasa de interrupción debida a la aparición de efectos secundarios es muy alta y, por lo tanto, la adherencia dista mucho de ser óptima (46, 47). Dada la excelente tolerabilidad de la SLIT, cabe esperar una buena adherencia. Este problema se ha abordado recientemente en un estudio multicéntrico dedicado específicamente a la medición cuantitativa de la adherencia, realizado con comprimidos alérgenos monoméricos (Lais, Lofarma). Se contactó con los pacientes por teléfono sin previo aviso y se les pidió que contaran los comprimidos que quedaban en el blíster. Un programa informático, basado en la fecha de inicio de la terapia, contabilizaba el número previsto de comprimidos restantes y, por tanto, las dosis olvidadas. Actualmente se dispone de datos de 35 pacientes y la adherencia es superior al 95% (48), independientemente del tipo de alérgeno y de la pauta de administración. También con vistas a mejorar la adherencia y facilitar que los pacientes tomen la terapia, una perspectiva futura es utilizar una única dosis desde el principio del tratamiento, evitando la fase de aumento gradual. Esto es posible,

una vez más, gracias al buen perfil de seguridad de la SLIT. Un trabajo reciente con dosis de mantenimiento desde el principio confirmó esta posibilidad: en 4 grupos de pacientes tratados con 3 dosis diferentes, una de ellas alta desde el principio, no se observaron cambios significativos en la incidencia de efectos secundarios (49). Se sabe que la AIT inyectable mantiene los efectos clínicos incluso años después de interrumpir el tratamiento (50). Recientemente, esta propiedad peculiar también se demostró para la SLIT en un estudio prospectivo de 10 años con 60 niños asmáticos tratados con SLIT para los ácaros del polvo (51).

Sin duda, esta importante observación requiere una ulterior confirmación, por lo que el tema del efecto duradero será sin duda objeto de estudio en los próximos años.

Ciertamente, el efecto preventivo sobre la aparición del asma en pacientes riniticos, que es bien conocido para la vía inyectable, queda por demostrar para la SLIT (52). Por otra parte recientemente se ha informado de que la SLIT también puede prevenir la aparición de nuevas sensibilizaciones cutáneas (53): 5,9% en los pacientes tratados durante tres años frente al 35% en el grupo de control.

6. Conclusiones

Actualmente se sigue utilizando ampliamente la SLIT en muchos países europeos y su uso rutinario ha sido validado en los documentos oficiales más recientes. Sus indicaciones no difieren de las de la vía inyectable y valen las mismas recomendaciones para su prescripción. La prescripción siempre debe hacerla un especialista, tras establecer con precisión el diagnóstico, valorar la relación coste/beneficio y tras informar y educar al paciente sobre su uso y los posibles efectos secundarios. Tras un periodo inicial de escepticismo, la comunidad científica internacional se está dando poco a poco cuenta de las posibilidades terapéuticas reales de la SLIT (3, 54), aunque siguen existiendo opiniones contrarias o críticas (55). También es cierto que quedan por aclarar algunos puntos importantes: la dosis óptima, los mecanismos de acción y la capacidad preventiva de cara al asma. Sin duda, estos aspectos serán objeto de futuros estudios clínicos e inmunológicos básicos.

Bibliografía aconsejada

- 1) Allergen immunotherapy. Who Position Paper. Bousquet J, Lockey RF, Malling HJ (Edts). Allergy 1998;54 (suppl. 52): 1-81.
- 2) Kagi MK, Wütrich B. Different methods of local allergen immunotherapy. Allergy 2002; 57:379-388.
- 3) Canonica GW, Passalacqua G. Noninjection routes for immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2003; 111:437-448.
- 4) Committee on Safety of Medicines. Desensitizing vaccines. Brit Med J 1986; 293:948.

- 5) Malling H, Weeke B. Immunotherapy. Position Paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. Allergy 1993;48 (suppl 14) :9-35.
- 6) Malling HJ, Abreu Nogueira L, Alvarez-Cuesta E et al. EAA-CI/ESPACI Position paper on local immunotherapy. Allergy 1998; 54:833-844.
- 7) Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA). WHO Position paper. Bouquet J, Kalthav N, Van Cauwenberge P (Edts). J Allergy Clin Immunol 2001;108 (suppl 5):5147-344.

- 8) Passalacqua G, Baena-Cagnani C, Berardi M, Canonica GW. Oral and sublingual immunotherapy in paediatric patients. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3(2): 139-145.
- 9) Hirsch T, Sahn M, Leupold W. Double blind placebo-controlled study of sublingual immunotherapy with house dust mite extracts in children. *Pediatr Allergy Immunol* 1997; 8:21-27.
- 10) Guez S, Vatrinet C, Fadel R, André C. House dust mite sublingual swallow immunotherapy in perennial rhinitis: a double-blind placebo-controlled study. *Allergy* 2000; 55:369-375.
- 11) Lima MT, Wilson D, Pitkin L et al. Grass pollen sublingual immunotherapy for seasonal rhinoconjunctivitis: a randomized controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2002; 32:507-514.
- 12) Malling HJ. Allergen-specific immunotherapy in allergic rhinitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001; 1:43-46.
- 13) Wilson DR, Torres LI, Durham SR. Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis (Cochrane review). *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(2): CD002893.
- 14) Bousquet J, Scheinmann P, Guinépain MT et al. Sublingual swallow immunotherapy (SLIT) in patients with asthma due to house dust mites: a double-blind placebo-controlled study. *Allergy* 1999;54:249-260.
- 15) Purello D, Ambrosio F, Gangemi S, Isola S et al. Sublingual immunotherapy: a double blind placebo controlled trial with *Parietaria judaica* extract standardized in mass units in patients with rhinoconjunctivitis, asthma or both. *Allergy* 1999; 54:968-973.
- 16) Pradaliere A, Basset D, Claudel A et al. Sublingual-swallow immunotherapy (SLIT) with a standardized five-grass-pollen extract (drops and sublingual tablets) versus placebo in seasonal rhinitis. *Allergy* 1999; 54:819-828.
- 17) Pajno GB, Morabito L, Barberio G, Parmiani S. Clinical and immunological effects of longterm sublingual immunotherapy in asthmatic children sensitized to mite: a double-blind study. *Allergy* 2000;55:842-849.
- 18) Pajno GB, Vita D, Parmiani S, Caminiti L, La Grutta S, Barberio G. Impact of sublingual immunotherapy on seasonal asthma and skin reactivity in children allergic to *Parietaria* pollen treated with fluticasone dipropionate. *Clin Exp Allergy* (in press)
- 19) Mortemousque B, Bertel F, De Casamayor J, Verin P, Colin J. House-dust mite sublingual-swallow immunotherapy in perennial conjunctivitis: a double-blind, placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy* 2003; 33:464-469.
- 20) André C, Perrin-Fayolle M, Grosclaude M et al. A double-blind placebo-controlled evaluation of SLIT with a standardized ragweed extract in patients with seasonal rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131:111-118.
- 21) Ongari S, Domeneghetti P, Parmiani S. Comparison among drugs, injective IT and sublingual IT in grass allergic patients. *Allergy* 1995;50(26):358.
- 22) Bernardis P, Agnoletto M, Puccinelli P, Parmiani S, Pozzan M. Injective vs sublingual immunotherapy in *Alternaria tenuis* allergic patients. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1996; 6:55-62.
- 23) Piazza I, Bizzarro N. Humoral response to subcutaneous, oral and nasal immunotherapy for allergic rhinitis due to *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Ann Allergy* 1993; 71:461-469.
- 24) Mungan D, Misirligil Z, Gurbuz L. Comparison of the efficacy of subcutaneous and sublingual immunotherapy in mite sensitive patients with rhinitis and asthma: a placebo-controlled study. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82:485-490.
- 25) Quirino T, Iemoli E, Siciliani E, Parmiani S, Milazzo F. Sublingual vs injective immunotherapy in grass pollen allergic patients: a double blind, double dummy study. *Clin Exp Allergy* 1996; 26:107-111.
- 26) Khinchi MS, Poulsen LK, Carat F, André C, Hansen AB, Malling HJ. Clinical efficacy of sublingual and subcutaneous birch pollen allergen specific immunotherapy. A randomized placebo controlled, double blind, double dummy study. *Allergy* 2003 (in press).
- 27) Lockey RF, Benedict LM, Turkeltaub PC, Bukantz SC. Fatalities from immunotherapy (IT) and skin testing (ST). *J Allergy Clin Immunol* 1987; 79:660-677.
- 28) Reid MJ, Lockey RF, Turkeltaub PC, Platts-Mills TA. Survey of fatalities from skin testing and immunotherapy 1985-1989. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92:6-15.
- 29) André C, Vatrinet C, Galvain S, Carat F, Sicard H. Safety of sublingual swallow immunotherapy in children and adults. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 121:229-234.
- 30) Di Rienzo V, Pagani A, Parmiani S, Passalacqua G, Canonica GW. Post-marketing surveillance study on the safety of sublingual immunotherapy in children. *Allergy* 1999; 54:1110-1113.
- 31) Lombardi C, Gargioni S, Melchiorre A et al. Safety of sublingual immunotherapy in adults: a post marketing surveillance study. *Allergy* 2001; 56:889-892.
- 32) Marcucci F, Sensi L, Frati F et al. Sublingual tryptase and ECP in children treated with grass pollen sublingual immunotherapy (SLIT): safety and immunologic implications. *Allergy* 2001; 56:1091-1095.
- 33) Lombardi C, Canonica GW, Passalacqua G. Sublingual immunotherapy is clinically safe in patients with oral allergy syndrome. *Allergy* 2000; 55:677-678.
- 34) Fanta C, Bohl B, Hirt W et al. Systemic immunological changes induced by administration of grass pollen extract via oral mucosa during SLIT. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 120:218-224.

- 35) Passalacqua G, Albano M, Riccio AM et al. Clinical and immunological effects of a rush sublingual immunotherapy to *Parietaria* species: a double blind placebo controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104:964-968.
- 36) Passalacqua G, Albano M, Fregonese L et al. Randomised controlled trial of local allergoid immunotherapy on allergic inflammation in mite induced rhinoconjunctivitis. *Lancet* 1998; 351:629-632.
- 37) Silvestri M, Spallarossa D, Battistini E et al. Changes in inflammatory and clinical parameters and in bronchial hyperreactivity asthmatic children sensitized to house dust mites following sublingual immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2002; 12:52-59.
- 38) Ippoliti F, De Sanctis W, Volterrani A et al. Immunomodulation during sublingual therapy in allergic children. *Pediatr Allergy Immunol* 2003; 14:216-221.
- 39) Lombardi C, Gargioni S, Venturi S, Zoccali P, Canonica GW, Passalacqua G. Controlled study of preseasonal immunotherapy with grass pollen extracts in tablets: effect on bronchial hyperreactivity. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2001; 11:41-45.
- 40) Pajno GB, Passalacqua G, La Grutta S, Barberio G. Effects of SLIT on bronchial hyperreactivity in children with asthma. 60th Meeting of the American Academy of Allergy Asthma and Immunology. Denver 2003. CDROM: 259.
- 41) Falagiani P, Mistrello G. Pharmacokinetics of allergens after local administration. *Allergy* 1997;52(33):17-21.
- 42) Bagnasco M, Mariani G, Passalacqua G, Motta C, Bartolomei M, Falagiani P, Mistrello G, Canonica GW. Absorption and distribution kinetics of the major *Parietaria* allergen administered by noninjectable routes to healthy human beings. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100: 13-18.
- 43) Bagnasco M, Passalacqua G, Villa G et al. Pharmacokinetics of an allergen and a monomeric allergoid for oromucosal immunotherapy in allergic volunteers. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:54-60.
- 44) La Rosa M, Ranno C, André C, Carat F, Tosca MA, Canonica GW. Double blind placebo-controlled evaluation of sublingual swallow immunotherapy with standardized *Parietaria judaica* extract in children with allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104:425-432.
- 45) André C, Perrin-Fayolle M, Grosclaude M et al. A double-blind placebo-controlled evaluation of SLIT with a standardized ragweed extract in patients with seasonal rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131:111-118.
- 46) Lower T, Hensy J, Mandik L, Janosky J, Friday GA Jr. Compliance with allergen immunotherapy. *Ann Allergy*. 1993; 70:480-482.
- 47) Cohn JR, Pizzi A. Determinants of patient compliance with allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 91:734-737
- 48) Lombardi C, Gani F, Landi Met al. Systematic assessment of the compliance with sublingual immunotherapy (INSIT study). XXII Congress EAACI. Paris. June 2003. Abstract book:3
- 49) Grosclaude M, Bouillot P, Alt R et al. Safety of various dosage regimens during induction of sublingual immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129:248-253.
- 50) Passalacqua G, Canonica GW. Long lasting efficacy of specific immunotherapy. *Allergy* 2002; 57:275-276.
- 51) Di Rienzo V, Marcucci F, Puccinelli P et al. Long-lasting effect of sublingual immunotherapy in children with asthma due to house dust mite: a ten-year prospective study. *Clin Exp Allergy* 2003; 33:206-210.
- 52) M ller C, Dreborg S, Ferdousi HA et al. Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study). *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 109:251-256.
- 53) Marogna M, Spadolini I, Massolo A, Canonica GW, Passalacqua G. Randomized controlled open study with SLIT in real life: efficacy, safety, prevention and adherence. XXII Congress EAACI. Paris. June 2003. Abstract book: 754.
- 54) Douglass J, O'Heir R. Specific allergen immunotherapy: time for alternatives? *Clin Exp Allergy* 2002;32: 1-3.
- 55) Nelson HS. Advances in upper airway disease and allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111: S793-798.

por Gianni Mistrello



Notiziario Allergologico

Junio-septiembre 2004 • Volumen 23 • n. 2-3

Los extractos alérgicos (alérgenos) utilizados tanto con fines diagnósticos como terapéuticos por muchos años han sido ignorados por el *corpus* jurídico en tema sanitario; su proceso de registro comenzó, al menos en Italia, en 1991 con el reconocimiento de que estos productos entraban plenamente en la definición de medicamentos. En este artículo, el Dr. Falagiani (Director Científico de Lofarma hasta su prematuro fallecimiento), tras repasar la normativa que regula en general el registro de medicamentos en Italia y en Europa, centra su atención en los aspectos reguladores de los Alérgenos, un tema (estamos en 2004) poco conocido incluso por los más expertos del sector. La historia comienza con el entonces Ministerio de Sanidad, que, tomando nota de la situación existente, intentó regular estos medicamentos particulares, promulgando un decreto (D.M. del 13 de diciembre de 1991) que permitía a las empresas fabricantes seguir produciéndolos y

comercializándolos, siempre que se hubieran producido antes del 1 de octubre de 1991, y a condición de que presentaran ante el citado Ministerio una solicitud de A.I.C. (autorización de comercialización), que exigía la presentación de un expediente muy voluminoso. Este tratamiento particular (al menos en lo que respecta a las terapias) por parte del Ministerio, que era diferente de la vía de registro exigida para los medicamentos normales, también se justifica por el hecho de que las terapias se producían sobre la base de una receta individual para un determinado paciente (*named patient*). Sin embargo, como señalado por el autor, esto no impedía que las susodichas Empresas fueran inspeccionadas periódicamente por las Autoridades Sanitarias para comprobar el cumplimiento de las Normas de Correcta Fabricación (GMP-BPF-NCF) de los medicamentos producidos y el control de su calidad, con arreglo a la directriz *Note for Guidance on Allergen Products* de la época. Naturalmente, esta directriz se actualiza continuamente al ritmo de los avances tecnológicos y el expediente correspondiente se adapta a ella paso a paso. En cuanto al problema de la emisión de la A.I.C., cabe mencionar que aún hoy siguen sin cumplirse las esperanzas de las Empresas de ver colmadas sus expectativas. A raíz de la última Resolución (DG 2130/201), la AIFA (que desde entonces ha tomado el relevo del Ministerio de Sanidad en la gestión del problema) ha solicitado ulteriores cumplimientos a las Empresas Productoras. Sobre la base de una evaluación inicial, la AIFA permitió seguir comercializando *ope legis* productos que cumplieran los requisitos exigidos. En cuanto a la expedición de la A.I.C. correspondiente, se está a la espera de que concluya la fase transitoria. A día de hoy, la AIFA especifica de todas maneras que los tipos de medicamentos alérgicos comercializados en Italia son los siguientes:

- a) Medicamentos cuya comercialización se autoriza *ope legis* en virtud de D.M. de 13 de diciembre de 1991;
- b) Medicamentos con una normal A.I.C. (sólo afecta a determinados alérgenos);
- c) Medicamentos comercializados de conformidad con el artículo 5 del Decreto Legislativo 219/2006 como *Named Patient Product* (NPP).

ASPECTOS NORMATIVOS DE LOS PRODUCTOS ALERGÉNICOS

PAOLO FALAGIANI

Director Científico - Lofarma S.p.A., Milán

RESUMEN

Se revisan las principales normativas por las que se rige el registro de medicamentos en Italia y Europa. Más concretamente, se describe la estructura del expediente de registro según el formato de Notice to Applicants - Notificación a los solicitantes.

Está en marcha un proceso de armonización de los requisitos que deben cumplir los medicamentos y de los procedimientos de control para su registro, conocido como ICH, que llevará a la unificación entre Europa, Japón y Estados Unidos. A continuación examinamos la situación de los productos alérgicos en Italia, antes y después de los decretos de 1991, y en los distintos países europeos, así como las particularidades que los diferencian de las especialidades medicinales normales.

En cuanto a la calidad de los productos alérgicos, la definen las recientes Directrices Europeas, la Note for Guidance on Allergen Products - Nota de orientación sobre productos alérgicos y la Farmacopea.

Por último, examinamos la situación normativa de los productos alérgicos en EE.UU., que difiere sustancialmente de Europa en que allí se registran los productos intermedios y la preparación de las inmunoterapias corre a cargo directamente de los alergólogos.

En las conclusiones, se espera que se confirme el doble canal de producción y distribución, de los productos registrados y de los preparados individualmente, para estos productos con vistas a satisfacer las necesidades terapéuticas presentes y futuras de los Alergólogos.

PALABRAS CLAVE

Productos alérgicos - Autorización de comercialización (registro) - Decretos - Directrices - Farmacopea - ICH.

Not. Allergol 2004; 23: 60-66

1. Introducción

Los alérgenos son productos muy especiales en comparación con los fármacos normales. En primer lugar, tienen una característica que los hace únicos. Tienen actividad inmunológica, y por tanto "farmacológica" en sentido amplio, solamente para las personas con sensibilización alérgica, mientras que en las personas normales se pueden considerar como proteínas normales. Por tanto, es natural que su toxicidad, cuando se estudia mediante pruebas normales en animales de laboratorio no sensibilizados, sea prácticamente nula, hasta el punto de que la Farmacopea, como veremos más adelante, sólo la exige para los extractos de mohos destinados a la administración parenteral.

Otra característica que los hace muy diferentes de los fármacos normales es la complejidad de su estructura química. Como se obtienen por extracción a partir de fuentes alérgicas complejas (pólenes, ácaros, esporas de hongos, epitelios de animales, etc.), contienen una gran cantidad de proteínas, pequeños péptidos y pigmentos. Con técnicas especiales de purificación, es posible eliminar la mayoría de los pequeños péptidos y pigmentos, que no tienen eficacia inmunológica. Lo que queda es una mezcla de proteínas muy heterogénea. A modo de ejemplo, basta pensar que un extracto de polen de *Phleum pratense* contiene 9 alérgenos diferentes conocidos, el de *Dermatophagoides pteronyssinus* 11, el de epitelios de gato 7, el de *Alternaria alternata* 9. De esta heterogeneidad se deriva también la complejidad de los procesos analíticos y de normalización

de estos productos.

Para enmarcar mejor la posición normativa específica de los productos alérgicos, es conveniente conocer algunos antecedentes sobre el registro de fármacos.

2. Registro de fármacos en Italia y en Europa (1)

2.1 Italia hasta 1991

La legislación farmacéutica en Italia estuvo regulada durante más de cincuenta años por el *Regio Decreto* de marzo de 1927, completado posteriormente por el *Testo Unico delle Leggi Sanitarie* de julio de 1934. Estas leyes establecían la obligación de obtener autorización del Ministerio de Sanidad tanto para producir como para comercializar productos farmacéuticos. También estipulaban qué documentos había que aportar para obtener la autorización: en otras palabras, había que demostrar la calidad, la seguridad y la eficacia.

2.2 Europa

En 1965 empezó una larga andadura legislativa sobre los fármacos a escala europea. La CEE 65/65 fue la primera directiva que estableció criterios para la aceptación de fármacos por parte de los Estados miembros. En ella se afirma el principio fundamental que debe regir la concesión de la autorización de comercialización de fármacos: debe basarse exclusivamente en criterios técnicos (demostración de calidad, seguridad y eficacia) y no en conveniencias políticas, económicas o de cualquier índole nacional. Se han publicado Directivas posteriores, tanto para mejorar el nivel



de producción farmacéutica como, sobre todo, para armonizar las políticas de los Estados miembros. Se creó la figura de la "persona cualificada", que dentro de la empresa farmacéutica representa a la persona responsable de la calidad del producto y que actúa como su garante, eliminando la necesidad de realizar nuevos controles en el momento de la importación en otros Estados miembros (Directiva 75/319). Se establecieron procedimientos comunitarios de registro como el «procedimiento multiestatal», que consiste en la posibilidad de reconocimiento mutuo por otros países de la Comunidad Europea (CE) sobre la base de la misma documentación (expediente) presentada para la primera autorización, completada con un informe de evaluación (Directivas 75/319 y 83/570). Se creó una estructura reguladora supranacional, compuesta por expertos de las estructuras normativas nacionales de la CE, denominada CPMP (*Committee for Proprietary Medicinal Products* - Comité de especialidades farmacéuticas), que gestionó el procedimiento multiestatal y que actualmente sigue siendo el órgano consultivo en ámbito farmacéutico de la CE (Directiva 75/319).

2.3 El expediente según la *Notice to Applicants*

También en la línea de la armonización entre los distintos Estados miembros de la CE, tuvo gran importancia la creación de una plantilla normalizada para la preparación de los expedientes de registro, conocida como *Notice to Applicants* (NTA) (Directiva 83/570).

El expediente de acuerdo con la *Notice to Applicants* se compone de la siguiente manera:

Parte I: Presenta los datos administrativos de la empresa farmacéutica que solicita la Autorización de Comercialización (AIC) y los tres *Expert Report* - Informes de Expertos para cada una de las siguientes partes.

Parte II: Presenta la información sobre la naturaleza química del fármaco, su proceso de producción (y sus validaciones) y el control de calidad, todo ello de conformidad con las *Good Manufacturing Practices* (GMP) - Buenas Prácticas de Fabricación (BPF).

Parte III: Presenta la información farmacológica, de farmacocinética, así como los resultados de las pruebas toxicológicas en animales, que obligatoriamente deben llevarse a cabo de conformidad con las *Good Laboratory Practices* (GLP) - Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

Parte IV: Presenta los resultados de las pruebas clínicas para determinar la eficacia y seguridad del fármaco. Deben realizarse de acuerdo con las *Good Clinical Practices* (GCP) - Buenas Prácticas Clínicas (BPC), ya elaboradas en 1977 bajo el nombre de *Proposed Regulation* por el *Federal Register* de la *Food and Drug Administration* (FDA) en EE.UU., y convertidas en obligatorias en Europa en 1991 (Directiva 91/507) y en Italia en 1992 (OM 27.04.1992).

Con base en las GCP, los estudios clínicos deben ajustarse a los siguientes criterios:

- I) Ética: necesidad de obtener la autorización del Comité de Ética pertinente y el consentimiento informado de los participantes, así como de garantizar su protección durante todo el estudio;
- II) Responsabilidades: indicación clara de las obligaciones del promotor, de los médicos que realizan el estudio y de los supervisores que verifican su progreso;
- III) Gestión de datos: indicación de los criterios de recogida, tratamiento y almacenamiento de los datos, respetando la privacidad;
- IV) Estadísticas: deben indicarse los métodos estadísticos que se utilizarán para procesar los resultados, especificando los criterios que llevaron al diseño del estudio y a establecer el

número de pacientes que inscribir;

- V) Calidad: debe indicarse el sistema de aseguramiento de calidad para toda la gestión de los datos del estudio.

El expediente de registro es el núcleo de la solicitud de Autorización de Comercialización (en Italia *Autorizzazione all'Immissione in Commercio* - AIC habitualmente denominada Registro), que se puede presentar a una Autoridad competente para conseguir la autorización de comercialización en un País concreto según el procedimiento nacional, o a la Agencia Europea para la Evaluación de Medicamentos (*European Medicines Evaluation Agency*, EMEA) para conseguir la autorización europea según el procedimiento centralizado (Reglamento CEE 2309/93). El procedimiento centralizado de la EMEA es el único permitido para los fármacos de alta tecnología, por ejemplo los obtenidos mediante la técnica del ADN recombinante o los anticuerpos monoclonales o sus derivados. A partir de julio de 2003, la estructura del expediente de registro debe ajustarse a un nuevo formato, denominado *Common Technical Document* (CTD) - Documento Técnico Común (DTC), que conlleva cambios formales sustanciales en comparación con la *Notice to Applicants*.

2.4 El proceso de armonización ICH

En la actualidad, las principales zonas geográficas del mundo disponen de legislaciones autónomas sobre la inspección de los centros de producción farmacéutica y el registro de medicamentos. Esto significa que las empresas farmacéuticas con mercados mundiales tienen que someterse a inspecciones por parte de todos los Estados en los que quieren exportar sus productos y hacer registros por separado, con expedientes a menudo diferentes. Por ejemplo, una empresa europea que quiera exportar un medicamento a EE.UU. tiene que solicitar, y pagar, una inspección de la FDA para comprobar que el medicamento se produce de acuerdo



con las normas de fabricación (GMP) vigentes en EE.UU. Además, tendrá que solicitar la autorización de comercialización a la FDA presentando un expediente que cumpla la normativa estadounidense. Si, por ejemplo, también quiere llevar su medicamento a Japón, tendrá que repetir el mismo procedimiento con ese país. Cuando haya discrepancias entre las normativas de un país y las de otro, obviamente surgen conflictos. Además, esta situación conlleva un aumento muy fuerte de los costes de registro. Para dar una idea de las dimensiones financieras de la investigación y el desarrollo farmacéuticos, baste decir que el coste medio internacional del desarrollo de un nuevo medicamento, desde el inicio de la investigación hasta el mostrador de la farmacia (incluidas las moléculas que abortan por diversas razones), actualmente ronda los 830 millones de dólares. Para armonizar las normativas y los procedimientos, y fomentar así la globalización de los mercados, se emprendió un proyecto de colaboración entre Europa, Japón y Estados Unidos. Este proyecto prevé, a través de un diálogo permanente entre las autoridades y las industrias farmacéuticas, determinar unas Directrices y unos requisitos aceptables para las tres partes en el diálogo. Este proceso, que recibe el nombre de "*International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*" - Conferencia Internacional sobre la armonización de los requisitos técnicos para el registro de productos farmacéuticos de uso humano", abreviado con las siglas ICH, comenzó en 1991 con una conferencia entre las tres partes, que posteriormente se repitió cada dos años. En el marco de este proyecto se crearon varios comités de expertos (*ICH Steering Committee* - Comités Directivos de la ICH) que elaboraron Directrices que los distintos Estados aplicaron de inmediato. A modo de ejemplo, podemos citar la Directriz

sobre pruebas de estabilidad (*Stability Testing of New Drug Substances and Products*), que establece cuáles deben ser las condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad, tiempo), cuáles deben ser los criterios de selección de lotes para analizar, cuáles deben ser los criterios de evaluación de la degradación y la actividad residual y, en consecuencia, qué información debe figurar en la etiqueta. Por ejemplo, un medicamento que no requiera condiciones especiales de temperatura para su transporte y almacenamiento (por ejemplo, 2-8°C) tiene que haber superado indemne una estabilidad acelerada en un entorno de 40°C±2°C con una humedad relativa (HR) del 75%±5%. Sólo si cumple esta Directriz de la ICH, la estabilidad de los medicamentos es aceptada, para su autorización, por todos los organismos reguladores. Por supuesto, el área de influencia de la ICH se extenderá rápidamente a otras zonas geográficas, creando al final una armonización casi mundial.

2.5 El DL italiano n° 178 (2)

En Italia, las únicas leyes sanitarias vigentes hasta 1991 eran el mencionado Real Decreto de marzo de 1927 y el Texto Único de julio de 1934, aunque la ley establece que es obligatorio que cada Estado miembro cumpla las Directivas europeas en cualquier caso. El 19 de mayo de 1991 se promulgó en Italia el Decreto Legislativo (DL) n° 178, titulado "*Recepimento delle direttive della Comunità economica europea in materia di specialità medicinali*" - Transposición de las directivas de la Comunidad Económica Europea sobre especialidades medicinales", por el que se acogen las Directivas europeas 65/65, 75/319 y 83/570. Reorganiza todas las normas relativas a la autorización de producción, importación y comercialización de especialidades medicinales, amplía las responsabilidades del director técnico de la empresa fabricante e incrementa las

sanciones administrativas, pecuniarias y penales para quienes infrinjan estas normas. El DL n° 178, art. 25.4, prevé la posibilidad de que se produzcan y comercialicen medicamentos no autorizados "*a petición del médico, por escrito y sin que le haya sido impuesto, que se comprometa a utilizar los productos en sus propios pacientes o en los del centro al que esté asignado, bajo su responsabilidad directa y personal*". Además, el DL n° 178 establece disposiciones especiales en el Artículo 20 para determinados medicamentos, incluidos los alérgenos, que se definen por primera vez, como veremos más adelante (3.2).

3. Situación normativa de los alérgenos en Italia

3.1 La situación hasta 1991

Hasta 1991 (año de entrada en vigor del DL n.178), los alérgenos en Italia habían sido completamente ignorados por el corpus jurídico en tema sanitario. Sin embargo, muchas empresas han operado, y muchas siguen operando, produciendo alérgenos o importándolos de empresas matrices extranjeras. Estas empresas siempre han sido, y siguen siendo, inspeccionadas periódicamente por el Ministerio de Sanidad (actualmente Ministerio de Salud) para comprobar el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación (GMP) tanto en la producción como en el control de calidad de los alérgenos. En los casos favorables, estas visitas de inspección dieron lugar a decretos que autorizaban la producción de alérgenos. Por lo tanto, nos encontramos ante una situación insólita en la que la producción de un fármaco está autorizada, pero el propio fármaco no cuenta con una autorización de comercialización (AIC) específica. La explicación radica en que, aunque los alérgenos son una categoría especial de fármacos, no pueden considerarse «medicamentos» y por otra parte no son «especialidades

medicinales». Veamos las definiciones de «medicamento» y de «especialidad medicinal» (según el DL nº 178).

Definición de medicamento: «*Se entiende con medicamento toda sustancia o composición que se presente como poseedora de propiedades curativas o profilácticas de enfermedades en seres humanos o animales, así como toda sustancia o composición destinada a ser administrada a seres humanos o animales con el fin de establecer un diagnóstico médico o de restablecer, corregir o modificar las funciones orgánicas en seres humanos o animales*». Como se puede ver, los alérgenos, ya sea para el diagnóstico in vivo (por ejemplo, pruebas de punción) o para la inmunoterapia, entran plenamente en esta definición.

Definición de especialidad medicinal: «*Son especialidades medicinales los medicamentos previamente preparados y*

comercializados con una denominación especial y en un envase especial». Los alérgenos producidos en Italia no entran en esta definición. De hecho, las inmunoterapias siempre se personalizan con el nombre del paciente (*named-patient*), incluso cuando contienen un alérgeno estándar (por ejemplo, mezcla de pólenes de gramíneas o *Dermatophagoides*), y especialmente las mezclas de dos o más alérgenos que se preparan con base en una receta médica. No se trata de una mera diferencia formal, sino que es sustancial. Efectivamente, la personalización de las vacunas implica una vigilancia activa por parte de la empresa, con asunción de responsabilidad, sobre la exactitud de las prescripciones (por ejemplo, se intercepta y se comunica al médico una solicitud de terapia de mantenimiento para un paciente que nunca pidió la terapia inicial), la trazabilidad del producto, etc. Una vía completamente distinta a la de las especialidades medicinales, de los que la empresa fabricante pierde todo rastro una vez que se ha producido la entrega al mayorista farmacéutico. Esta situación particular de los productos alérgenos ha justificado un tratamiento especial por parte de las autoridades.

3.2 Alérgenos en el DL nº 178

Como se informó anteriormente, el 29 de mayo de 1991 se promulgó el DL nº 178, en el que se mencionaban por primera vez los alérgenos. Merece la pena leer literalmente lo que dice el Art. 20.2: «*También están sujetos a la reglamentación de este decreto los alérgenos, es decir, los medicamentos destinados a detectar o inducir una determinada alteración específica adquirida de la respuesta inmunológica a un agente alérgico*». Se pueden tener perplejidades sobre esta definición. De hecho, no está claro por qué los alérgenos deberían «inducir una determinada alteración adquirida...». Si

el autor se hubiera referido a los alérgenos para inmunoterapia, el término correcto habría sido «*modificar una determinada alteración adquirida...*». En cualquier caso, esta definición no ha sido creada por el legislador italiano, sino que es la traducción de la definición que figura en las Directivas europeas.

Es importante señalar que el DL nº 178 define dos categorías particulares de fármacos, los alérgenos, como ya se ha mencionado, y los radiofármacos. Estos últimos se definen en el Art. 21: «*A los efectos del presente Decreto, se entenderá por radiofármaco todo medicamento que, cuando esté listo para su uso, incluya uno o varios radionucleidos (isótopos radiactivos) incorporados con fines sanitarios*». ¿Qué tienen en común los alérgenos y los radiofármacos? Básicamente, el hecho de que tengan características muy especiales que los diferencian de otros medicamentos. Así pues, este decreto reconoce que las peculiaridades técnicas de estas dos categorías de medicamentos, aunque muy diferentes entre sí, hacen que deban tratarse por separado, incluso a nivel normativo y, como veremos a continuación, regulador.

3.3 Alérgenos en el Decreto 13.12.1991

Pocos meses después de la entrada en vigor del DL nº 178, concretamente el 13.12.1991, el Ministerio de Sanidad promulgó un Decreto dedicado específicamente a estas dos categorías particulares de fármacos, titulado «*Disposiciones sobre radiofármacos y alérgenos*» (3). Este decreto representa una especie de «condonación» para las dos categorías de fármacos que habían sido ignoradas por la legislación anterior. Cabe destacar que el Decreto de 13.12.1991, que hace referencia expresamente al DL n.178, establece tres conceptos muy importantes en su parte introductoria:

I) una indicación sobre la «*convenien-*

Figura 1: Paul-Ehrlich-Institut hasta la década de 1980 (izquierda) y sede actual (derecha) (créditos de pei.de)





cia de proporcionar a las empresas productoras y comercializadoras de alérgenos y radiofármacos instrucciones destinadas a garantizar la adecuación de la producción y del comercio de estos productos a la normativa del decreto legislativo mencionado»;

II) el reconocimiento de que «este Ministerio ha expedido varias autorizaciones para la producción de alérgenos y radiofármacos»;

III) la declaración de que «para evitar los riesgos asociados a la indisponibilidad de medicamentos considerados necesarios, debe permitirse, bajo determinadas condiciones, la ulterior venta y uso de radiofármacos y alérgenos, a la espera de las determinaciones que se adopten sobre las solicitudes de autorización de comercialización de dichos productos».

En otras palabras, el Decreto 13.12.1991 pide a los fabricantes que informen de qué productos estaban ya en producción y comercio el 1 de octubre de 1991, y sólo a éstos les permite continuar en producción y comercio más allá del 1 de enero de 1992. Se trata, por tanto, de un reconocimiento de la situación existente y de la correspondiente condonación. Además, este decreto obligaba a las empresas a presentar, dentro del 30 de abril de 1992, expedientes que describieran la producción y el control de calidad de los productos alérgénicos, uno por cada una de las 13 familias de alérgenos (alimentos vegetales y animales, pólenes de gramíneas, yerbas y árboles, ácaros, micófitos, insectos, derivados epiteliales, polvos ambientales, veneno de himenópteros, bacterias, alérgenos de origen químico). En cuanto a las partes fármaco-toxicológicas y clínicas, el Decreto estipula que pueden ser elaboradas de forma común, para los distintos tipos de productos, por parte de todas las empresas interesadas.

Durante los primeros meses de 1992,

todas las empresas productoras de alérgenos estuvieron muy ocupadas preparando expedientes. Al final, toda la documentación constaba, para cada empresa, de 9 cajas de documentos para cada una de las 13 familias de alérgenos, lo que suponía un total de 117 cajas. Esta documentación fue entregada por todas las empresas al Ministerio dentro de los plazos de ley.

4. Situación normativa de los alérgenos en Europa

Es necesario hacer un breve preámbulo sobre la práctica alergológica en los distintos países europeos. En los países mediterráneos (Italia, Francia, España, Portugal, Grecia), los Alergólogos intentan investigar el diagnóstico alergológico lo más a fondo posible y, en consecuencia, adaptar la inmunoterapia al paciente. Por lo tanto, el uso de vacunas personalizadas, a menudo con mezclas de dos o más alérgenos, está bastante extendido (hoy en día mucho menos, debido a la afirmación de las terapias sublinguales). En los países del centro y norte de Europa (Alemania, Bélgica, Países Bajos, Dinamarca, Suecia, Noruega, Finlandia), los alergólogos utilizan terapias estándar con un único alérgeno, o mezclas de alérgenos de la misma familia (por ejemplo, gramíneas, abedul-aliso). Gran Bretaña merece un análisis aparte. En este país la alergología está a un nivel muy bajo. Hasta hace unos años, no existía una Escuela de Postgrado en Alergología (la primera se creó hace pocos años en Londres). En 1986 se produjo un acontecimiento que cambió el curso de las cosas. El *Committee for Safety of Medicines*, presionado por un parlamentario, publicó sin piedad en el *British Medical Journal* una lista de todas las reacciones graves de la inmunoterapia (en aquel momento sólo inyectable) que se habían

producido en los años anteriores, y recomendó restricciones muy severas en el uso de la propia inmunoterapia, con consecuencias para la práctica inmunológica en Gran Bretaña fáciles de imaginar, cuantificables en un descenso de más del 90% de la práctica de la inmunoterapia. Por tanto, podemos considerar que Europa está dividida en dos partes: Europa mediterránea y Centro-Norte de Europa. En Francia, el uso de vacunas personalizadas (denominadas «*Allergènes Préparés Spécialement pour un Individu*», APSI) está tan extendido que es la única forma reembolsada por el Sistema Nacional de Salud. En consecuencia, el Ministerio de Sanidad francés, que cuenta con una agencia que se ocupa específicamente de los productos alergológicos, promulgó una ley que exige el registro de los productos intermedios (denominados «*bulk*») con los que los fabricantes preparan las vacunas personalizadas, APSI (4). Este procedimiento se sigue tanto para las vacunas compuestas de mezclas de alérgenos como para las vacunas de un solo componente, es decir, las vacunas estándar.

En España se promulgó un Real Decreto parecido al DL italiano n° 178, pero no fue seguido por el Decreto 13.12.1991 (5) equivalente. En España, al igual que en Italia, se concede una autorización ministerial para la producción de alérgenos, pero no una autorización para comercializar el producto acabado. En Portugal y Grecia no hay fabricantes de productos alérgénicos, por lo que se importan.

Por lo que respecta al Centro-Norte de Europa, hay que hacer un análisis separado para Alemania, donde coexisten tanto vacunas para Inmunoterapia personalizadas no registradas como vacunas estándar registradas. En cambio, los extractos de diagnóstico in vivo (por ejemplo, las pruebas de punción) se registran en su totalidad. Estos productos no es-



tán autorizados por el Ministerio de Sanidad, sino por el Paul-Ehrlich-Institut, un prestigioso instituto afincado cerca de Frankfurt y especializado en hemoderivados, vacunas y alérgenos (Fig. 1). En los demás países del Centro-Norte de Europa, sólo se utilizan vacunas registradas, producidas y controladas de acuerdo con las *Nordic Guidelines* (6). La autorización de comercialización (registro) se concede sobre la base de expedientes parecidos a los exigidos para las especialidades medicinales (elaborados con arreglo a la *Notice to Applicants*, actualmente *Common Technical Document*). La preparación de estos expedientes requiere un gran esfuerzo por parte de las empresas, tanto técnico como financiero, por lo que el procedimiento de registro sólo se aplica a los productos alergológicos más utilizados y, por tanto, de mayor volumen de negocio.

Analizando en su totalidad la producción de alérgenos en Europa, se desprende que el 70-80% de las vacunas para inmunoterapia se producen y comercializan de forma personalizada (*named-patient*), mientras que el 20-30% restante están registradas; por lo tanto, se producen de forma estándar similar a las especialidades farmacéuticas (*industrially prepared*) y se distribuyen a través de las farmacias (7).

5. Normativa de calidad y Farmacopea

5.1 La Directriz *Note for Guidance on Allergen Products*

En febrero de 1991, se creó a nivel europeo un grupo de trabajo sobre control y normalización de alérgenos en el ámbito del *Committee for Proprietary Medicinal Products* (CPMP), formado por expertos de organismos reguladores, entre ellos el Dr. Carlo Pini del *Istituto Superiore di Sanità italiano*. Elaboraron una Directriz, la *Note for Guidance on Allergen Product*, que recibió la aprobación final por parte

del CPMP en marzo de 1996 (8). En la Introducción, se indica que los productos alérgenos se dividen en dos categorías: los alérgenos producidos industrialmente (para diagnóstico e inmunoterapia) y comercializados con envases estándar, y los alérgenos producidos sobre la base de una receta individual para un determinado paciente (*named-patient*). La *Note for Guidance* sólo se aplica a los alérgenos preparados industrialmente. En el documento se analizan los aspectos principales de la calidad de los alérgenos.

-Control de las materias primas

Para todas las materias primas, se tiene que describir con precisión el método de recolección o cultivo. En cuanto a los pólenes, hay que mantener bajo control el tenor de plomo, resultante de la contaminación vehicular, y de pesticidas. La contaminación por pólenes extraños debe limitarse al 1% para las mezclas de pólenes y al 0,5% para los pólenes aislados. Por lo que respecta a los micófitos, debe procurarse evitar el uso de especies productoras de micotoxinas y, cuando sea inevitable, es necesario comprobar el eventual contenido de dichas micotoxinas mediante pruebas de mutagenicidad. Para los ácaros, se recomienda evitar el uso de proteínas de origen animal en el sustrato nutritivo. Los alérgenos epiteliales de los animales deben recogerse de sujetos sanos, libres de infestaciones parasitarias y que no hayan sido tratados recientemente con antiparasitarios u otros fármacos.

-Descripción de los procesos de producción

La producción debe describirse claramente utilizando también diagramas (flujogramas). Se tienen que describir todas las fases: trituración y extracción de materias primas, filtración, clarificación, diálisis, concentración, fraccionamiento, esterilización, liofilización, etc.

-Reproducibilidad entre lotes (*batch to batch consistency*)

El fabricante debe demostrar que es capaz de producir varios lotes del mismo alérgeno con un buen nivel de reproducibilidad. Para llevar a cabo los controles necesarios, se recomienda utilizar un estándar interno (*in-house reference*, IHR), que cada vez se comparará con el lote examinado. Habida cuenta del papel que desempeña la IHR como patrón de comparación, habrá que determinar con precisión su actividad biológica, con análisis de SDS-PAGE, inhibición de IgE, etc.

-Controles de productos intermedios y acabados

Es necesario determinar la actividad alérgica total de cada lote con pruebas de inhibición de IgE. La actividad alérgica debe situarse entre el 50% y el 200% de la declarada. El rango 50-200% puede parecer excesivo para quienes no son profesionales del sector; en realidad, la respuesta de estos sistemas inmunológicos varía en función del logaritmo de la dosis aplicada, por lo que este rango es razonablemente limitado. En algunos casos, el alérgeno se modifica químicamente de tal manera que se altera su actividad biológica, como en el caso de los alergoides, por lo que puede resultar imposible determinar la actividad alérgica en el producto acabado. En estos casos, se permite determinar la actividad alérgica en el producto intermedio inmediatamente antes de la modificación química. También puede ser el caso de las vacunas absorbidas (retardo), para las que, de todas maneras, se tiene que documentar su efectiva adsorción.

-Estabilidad

Debe documentarse la estabilidad del producto y, en el caso de las vacunas retardo, la adsorción durante el periodo de validez (*shelf-life*) del producto. La actividad alérgica al final del periodo de validez no debe ser inferior al 30% de la declarada. La estabilidad puede probarse para cada familia taxonómica



(por ejemplo, gramíneas, betuláceas, compuestos), y los resultados se pueden extrapolar de los demás miembros de la familia. En los casos ya descritos en los que no es posible determinar la actividad alérgica en los productos acabados (por ejemplo, los alérgoides), es aceptable que la estabilidad se determine en los productos en una fase anterior a la modificación química.

-Pruebas de tolerabilidad (*safety*) y pruebas de eficacia

Para estas pruebas también se acepta el principio de extrapolación entre alérgenos pertenecientes a la misma familia taxonómica.

5.2 La Farmacopea Europea

La Farmacopea Europea ha introducido una monografía sobre los productos alérgicos, que a grandes rasgos se inspira en la mencionada Directriz *Note for Guidance on Allergen Products* (9). Aquí también hay recomendaciones sobre cómo recoger las materias primas alérgicas, el uso de estándares internos (aquí llamados IHRP, *in-house reference preparations*) y sobre pruebas analíticas para analizar la composición antigénica y la potencia alérgica. También en este caso se afirma el intervalo de tolerancia del 50-200%, tanto para la potencia alérgica total como para los componentes alérgicos individuales. En cuanto al estudio de la toxicidad (*abnormal toxicity*), sólo se recomienda para los alérgenos obtenidos a partir de micófitos y por administración parenteral, excluyendo el prick test. Por último, se describen los requisitos para un etiquetado correcto:

- potencia biológica y/o contenido en proteínas y/o relación peso/volumen de extracción;
- vía de administración y uso recomendado;
- condiciones de conservación;
- si presente, el nombre y la concentración del conservante antimicrobiano;

- para los preparados liofilizados, el nombre, la composición y el volumen del líquido que debe añadirse para la reconstitución, el período de validez después de la reconstitución;
- cuando proceda, una indicación de que el preparado es estéril;
- cuando proceda, el nombre del adsorbente (por ejemplo, hidróxido de aluminio o fosfato de calcio).

6. La anomalía estadounidense

En Estados Unidos, la práctica de la inmunoterapia tiene una escala considerable. En 2001, se calcula que los pacientes que recibieron inmunoterapia fueron entre 1,9 y 2,7 millones, predominantemente (78%) por parte de los 3400 alergólogos y en menor medida (9%) por parte de los 2600 otorrinolaringólogos (10).

En Estados Unidos, la preparación de las vacunas no la realizan las empresas, sino los propios alergólogos en sus consultas, mezclando distintas cantidades de extractos concentrados, denominados *bulk*. Las empresas del sector proporcionan los *bulk*, que deben estar registrados en la *Food and Drug Administration* (FDA). Una situación normativa diametralmente opuesta a la europea, donde las vacunas personalizadas (*named-patient*) quedan automáticamente excluidas del procedimiento de registro, así como del ámbito de aplicación de la *Note for Guidance* (véase 5.1). Además, es difícil entender cómo esta práctica alergológica puede ser aceptada por las autoridades sanitarias, ya que la preparación de las vacunas (que son soluciones o suspensiones inyectables estériles) se realiza en entornos que carecen de las características farmacéuticas indispensables para la elaboración de medicamentos.

La práctica alergológica en Estados Unidos también difiere de la de Europa en el gran número de alérgenos diferentes

que ponen en las vacunas: 7-8 e incluso más, mientras que como se sabe en Europa nos limitamos a 2-3 alérgenos de familias diferentes.

7. Conclusiones

La calidad de los productos alérgicos ha mejorado enormemente en los últimos 20 años, gracias a los avances tecnológicos, a la creación de grupos de trabajo específicos (*Committee for Allergen Standardization, CPMP working group*) y al establecimiento de reuniones periódicas entre expertos de empresas y organismos normativos (*Paul-Ehrlich Seminar*, que ya va por su undécima edición). En ámbito normativo, como hemos visto, existen anomalías con respecto a las especialidades medicinales, anomalías debidas tanto a las peculiaridades técnicas de estos productos como al gran número de alérgenos que es necesario poner a disposición de los Alergólogos. Efectivamente, el proceso de registro es extremadamente exigente desde el punto de vista operativo (preparación del expediente, realización de estudios clínicos según las GCP) y, por consiguiente, desde el punto de vista financiero, por lo que sólo puede utilizarse para los productos alérgicos más consumidos y vendidos (gramíneas, *Parietaria*, *Dermatophagoides*, abedul, *Ambrosia* y pocos más).

Esta circunstancia ha creado de facto un doble canal de producción y distribución en Europa: los productos alergológicos preparados industrialmente, que suelen distribuirse a través de las farmacias, y los productos preparados individualmente (*named-patient*, o APSI en Francia), que suelen enviarse directamente al hospital/médico que los prescribe o al paciente. Cabe destacar que estas categorías de productos, en términos de calidad, no se deben considerar de primera o de segunda división, respectivamente. Efectivamente, tanto los procedimientos



de producción como los de control de calidad son los mismos (11).

A nivel normativo, las dos categorías siguen caminos diferentes en algunos países, ya que la primera está registrada y la segunda no, a excepción de Francia, que cuenta con una legislación *ad hoc* para los productos alergénicos preparados de forma individual (APSI). Algunos organismos normativos no están entusiasmados con este doble canal. Por otra parte, no cabe duda de que cualquier imposición de registro para todos los productos alergológicos (como en los países del Centro-Norte, excepto Alemania) conllevaría inevitablemente la desaparición de una gran parte de los catálogos alergológicos, con consiguiente empobrecimiento de la calidad de los

servicios profesionales de alergología.

Esta situación particular y políticamente controvertida llevó a las empresas europeas del sector a asociarse en el *European Allergen Manufacturers Group* (EAMG), cuyo objetivo no es tanto ejercer presión política como dar a conocer las características de los productos alergológicos, promover Directrices y dialogar con las autoridades. La esperanza de muchos es que se pueda conseguir un régimen normativo especial para todos aquellos productos que, por sus características, no pueden registrarse según los procedimientos normales previstos para los medicamentos. También se espera que se tenga debidamente en cuenta la labor responsable de supervisión que las empresas de alérgenos desempeñan sobre la corrección de

las prescripciones y la trazabilidad de los propios productos, supervisión que técnicamente no puede traspasarse a los canales habituales de distribución de medicamentos, como las farmacias.

La resolución de estos temas controvertidos puede ser el trampolín para el esperado relanzamiento de la inmunoterapia específica, recientemente también llamada «vacunación antialérgica». Efectivamente, la eficacia de la inmunoterapia tanto en la enfermedad alérgica en acto como en la prevención de su progresión (de mono a polisensibilización y de rinitis a asma) actualmente está reconocida por Directrices respetadas, elaboradas en el ámbito de la OMS (12, 13) y por metanálisis (14-16), pero sigue ampliamente infrautilizada en la práctica médica.

Bibliografía

1. Tabusso G. La registrazione dei farmaci. In: *Economia e normativa del farmaco*. Lucioni C e Minghetti P (Eds). UTET 1998; p. 185-204.
2. Decreto Legislativo 29 maggio 1991, n.178. Recepimento delle direttive della Comunità economica europea in materia di specialità medicinali. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana* 15.06.1991.
3. Decreto 13 dicembre 1991. Disposizioni sui radiofarmaci e sugli allergeni. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana* 19.12.1991.
4. Avis aux demandeurs d'autorisation nominative pour la préparation et la délivrance des allergènes préparés spécialement pour un seul individu (APSI). Décret n° 2004-188 du 23.03.2004.
5. Real Decreto 288/1991 por el que se regulan los medicamentos inmunológicos de uso humano. Ministerio Spagnolo della Salute, 8 marzo 1991.
6. Nordic Guidelines, NLN. Registration of allergen preparations, Nordic Council of Medicines, Publication No.23, 2nd edition. Uppsala, Sweden, 1989.
7. May S, Haustein D. Die individuelle Rezeptur in der spezifischen Immunotherapie. Notwendigkeit und fehlerquellen (Named patient products in specific immunotherapy. Necessities and sources of error). *Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz* 2001;44:719-723.
8. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). Note for Guidance on Allergen Products. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Human Medicines Evaluation Unit. CPMP/BWP/243/96. London, 13 March 1996.
9. European Pharmacopoeia 4th Edition 2002. Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe (EDQM). Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France 2001.
10. Esch RE. Specific immunotherapy in the USA: General concept and recent initiatives. *Arbeiten aus dem Paul-Ehrlich-Institut*, Band 94. 10th International Paul-Ehrlich-Seminar, Lübeck 2002. Druck- und Verlagshaus Sperlich. Pag 17-23.
11. Kroon AM. The EAMG position on the regulation of existing products for treatment with special reference to named patient products (NPPs). *Arbeiten aus dem Paul-Ehrlich-Institut*, Band 94. 10th International Paul-Ehrlich-Seminar, Lübeck 2002. Druck- und Verlagshaus Sperlich, pp 7-16.
12. Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102(4 Pt 1):558-562.
13. Allergic rhinitis and its impact on asthma. ARIA Workshop Report 2001. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(5 suppl):147-334.
14. Abramson MJ, Puy RM, Weiner JM. Is allergen immunotherapy effective in asthma? A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151(4):969-974.
15. Abramson MJ, Puy RM, Weiner JM. Allergen immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(4):CD001186.
16. Wilson DR, Torres LI, Durham SR. Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(2):CD002893.

por Enrico Compalati



Notiziario Allergologico

Año 2010 • Volumen 28 • n. 3

Han pasado unos 15 años desde que se escribió este artículo y, al releerlo, me ha impresionado la vigencia y actualidad de los argumentos expuestos de manera resumida.

Ciertamente, el trabajo realizado entre ese ayer y la actualidad ha permitido investigar cuestiones metodológicas específicas y aportar más elementos para mejorar la realización de estudios clínicos sobre la Inmunoterapia Específica. Por mencionar algunos ejemplos, la definición de las estacionalidades y de los niveles de polen significativos para una exposición adecuada, la importancia de la relevancia clínica

de los efectos encontrados, la validación de las cámaras de exposición a alérgenos, la identificación de nuevos marcadores biológicos y un mejor perfilado de los sujetos incluidos, la gestión adecuada de los «datos faltantes», el uso de tecnologías electrónicas para mejorar la recogida de datos, la monitorización remota y la prevención de desviaciones y abandonos del protocolo. En esta última dirección se ha encaminado también la última edición de las directrices de GPC-BPC (ICH-E6-R3), adaptadas a los tiempos y cada vez más orientadas hacia un enfoque «basado en el riesgo» para cada fase de los procesos de estudio, con vistas a proteger la integridad de los datos y la seguridad y dignidad de los pacientes. También cabe mencionar la entrada en vigor, en enero de 2022, del Nuevo Reglamento Europeo sobre Ensayos Clínicos (nº 536/2014), que proporciona un paradigma innovador, armonizado, transparente y más eficiente, a nivel de la UE, en cuanto a los aspectos administrativos y las normas a seguir, insistiendo junto con las GCP-BPC en aumentar la calidad y la responsabilidad de los elementos de realización de la investigación clínica, si bien con importantes reflejos en términos económicos. Se hace hincapié especialmente en los requisitos que deben cumplir los Investigadores, actores fundamentales en este escenario, que para participar garantizando altos estándares de calidad deben necesariamente demostrar una formación, cualificación y experiencia adecuadas, contar con unas instalaciones adecuadas al efecto y un estricto cumplimiento de los protocolos, ya que el resultado de un estudio está dependiente estrechamente del cumplimiento de estos requisitos previos.

Por último, ya destaqué en su momento lo importante que era ir más allá de una visión basada únicamente en la información adquirida en el contexto de modelos experimentales, que, si bien son fundamentales como «prueba de concepto», no permiten evaluar la denominada «validez externa» de un enfoque curativo. Pasar pues del concepto de «eficacia» al de «efectividad», como también se ha relanzado más recientemente en favor del uso de grandes bases de datos sanitarios, registros, estudios observacionales independientes y «ensayos pragmáticos».



Estudios clínicos sobre la SLIT: importancia de la metodología

Enrico Compalati

Clinica de Enfermedades
Respiratorias y Alergología
Departamento de Medicina Interna,
Universidad de Génova

Clinical Trials on SLIT: the importance of the methodology

Not Allergol 2010; vol. 28: n.3: 113-120.

ESTUDIOS CLÍNICOS Y METAANÁLISIS: MÁRGENES DE MEJORA

La inmunoterapia específica es una práctica que consiste en administrar extractos alérgicos (o vacunas) a las personas alérgicas para conseguir una hiposensibilización hacia el alérgeno en sí (1), y reducir así los síntomas en caso de exposición natural. Debido a su perfil de seguridad favorable, la inmunoterapia sublingual (SLIT) ha suscitado el interés progresivo de investigadores y médicos en las últimas décadas como alternativa viable a la inmunoterapia subcutánea tradicional (SCIT - *Subcutaneous Immunotherapy*) para el tratamiento de la alergia respiratoria (2).

En el pasado se ha estudiado ampliamente la eficacia de la SLIT. En la última década, debido al gran número de estudios clínicos aleatorizados (RCT) disponibles, se han realizado revisiones sistemáticas con metaanálisis para examinar los efectos de la SLIT en una población más amplia (3). Estos trabajos han demostrado un beneficio global

RESUMEN

Palabras clave y acrónimos:

- SLIT • inmunoterapia sublingual • metodología • estudios clínicos
- proyecto de estudios, calidad de la evidencia

El objetivo de este artículo es argumentar y debatir cuestiones clave planteadas recientemente en relación con los nuevos enfoques para la realización de estudios clínicos sobre la inmunoterapia sublingual (SLIT - Sublingual Immunotherapy). La eficacia clínica de la SLIT en la alergia respiratoria está respaldada por numerosos estudios clínicos aleatorizados, con doble ciego, y confirmada por metaanálisis. No obstante, las limitaciones referentes a la ejecución y a la actividad de descripción y redacción editorial (reporting) de algunos estudios pueden explicar las dificultades para asignar un papel adecuado a la SLIT en el contexto de las Directrices para el tratamiento de las patologías alérgicas. Este tema llevó a los comités científicos internacionales a debatir y alcanzar un consenso cuyos fundamentos deberían respetarse al redactar el proyecto del estudio, su ejecución y la correspondiente actividad de redacción de informes - reporting. Se constató que debía prestarse especial atención a los aspectos metodológicos. Para garantizar la solidez de los resultados, se han sugerido indicaciones sobre: selección de pacientes, evaluación de referencia, análisis estadístico, selección de criterios de valoración primarios y secundarios y los tipos de vacunas alérgeno-específicas. Al informar sobre estudios clínicos, se recomienda encarecidamente seguir la lista de comprobación CONSORT, junto con medidas especiales para reducir la probabilidad de distorsión (bias). Dado que la seguridad es un aspecto fundamental, también es deseable disponer de clasificaciones uniformes de los acontecimientos adversos para respaldar evaluaciones fiables en ámbito global. Se necesitan estudios clínicos con metodología y características rigurosas, que se extiendan a todos los alérgenos más importantes, para proporcionar pruebas claras de los efectos de la SLIT a corto plazo y de aquellos que modifican la patología. Por último, se espera que se realicen estudios clínicos para estudiar la eficacia real de este tratamiento en contextos de la vida real.



significativo en comparación con el placebo. No obstante, algunas discrepancias entre los resultados y la dificultad para excluir posibles *bias* de publicación hicieron dudar de su fiabilidad (4). Por otro lado, no es de extrañar que puedan existir diferencias entre revisiones publicadas en años diferentes, que examinen escenarios clínicos distintos, que incluyan estudios diferentes, con métodos diferentes aplicados para extrapolar y analizar los datos. Además, también se encontraron resultados coherentes, lo que indica que no caben juicios generalizados (5). Lo interesante es que todos los metaanálisis mostraron una heterogeneidad significativa entre los estudios incluidos, que puede explicarse por su variabilidad clínica y metodológica (3). Sin embargo, no existen pruebas sustanciales ni formales de que las posibles fuentes de heterogeneidad clínica puedan afectar realmente al ciclo de tratamiento en un periodo de seguimiento relativamente corto. Por el contrario, la limitación metodológica de algunos estudios clínicos, especialmente los realizados con población pediátrica y aquellos más antiguos, se puede considerar como un aspecto negativo fundamentado. Estas observaciones se confirman en un metaanálisis reciente sobre la SLIT contra el polen de gramíneas, en el que la tasa de abandonos de los estudios individuales, que puede interpretarse como un sustituto de la calidad metodológica, influyó significativamente en la estimación global del efecto (6). Por otra parte, tras una cuidadosa evaluación, incluso los estudios publicados que no alcanzaron sus

objetivos finales mostraron limitaciones significativas (7).

A pesar de la existencia de pruebas sólidas procedentes de algunos estudios clínicos de fase III de amplio alcance, realizados con comprimidos de SLIT para la rinitis alérgica al polen de gramíneas, las susodichas razones explican el intento de las comunidades científicas de apoyar, con recomendaciones específicas, la adherencia a medidas particulares enfocadas a garantizar la calidad metodológica en la realización y el reporting de futuros estudios clínicos sobre la SLIT (7, 8, 9).

LA METODOLOGÍA DE LOS ESTUDIOS CLÍNICOS SOBRE LA SLIT

La evaluación y el tratamiento de los trastornos alérgicos se ven sustancialmente afectados por la variabilidad de la respuesta clínica individual y la exposición a los alérgenos, así como por la subjetividad de la evaluación de los síntomas. Por estas razones, deben adoptarse estudios clínicos de superioridad, de doble ciego y controlados con placebo, para estudiar la eficacia de la SLIT siguiendo los principios de las normas de Buenas Prácticas Clínicas (GCP) y las directrices aceptadas por las instituciones normativas gubernamentales (EMA, FDA). Debido al tamaño variable pero, globalmente pequeño de la muestra, de todas maneras estos estudios no son adecuados para proporcionar información fiable en cuanto al aspecto de la seguridad. Por lo tanto, los estudios clínicos de confirmación deberían basarse en estudios controlados a largo plazo y en observacio-

nes posteriores a la comercialización.

En lo que respecta a la planificación, realización y, por último, el reporting de los estudios clínicos sobre la SLIT (tabla 1), pueden tenerse en cuenta numerosas consideraciones específicas. A continuación, deseamos resumir y argumentar las principales cuestiones planteadas en recientes mesas redondas de expertos y en comités internacionales de debate (9).

ASPECTOS METODOLÓGICOS

Debe garantizarse la metodología rigurosa de realización de RCT con medidas que minimicen el riesgo de distorsión en el enmascaramiento de la asignación y de una aleatorización centralizada no previsible, utilizando bloques de permutación, generados por ordenador, con una lista específica dentro de cada centro en el caso de estudios multicéntricos. Debe informarse de una descripción clara de las estratificaciones, ajustes y procedimiento en ciego en relación con los participantes, los investigadores y los analistas, durante toda la duración del estudio (figura 1).

Los criterios de inclusión y exclusión deben cumplirse estrictamente y describirse detalladamente.

Los estudios clínicos deben realizarse según los principios del análisis por intención de tratar *Intention-to-treat* (ITT) y deben notificarse todas las desviaciones de la asignación o los abandonos, de acuerdo con el diagrama de flujo *CONSORT* (10). Los análisis por protocolo *per-protocol* son a veces plausibles debido a que la duración de los estudios de inmunoterapia puede ser larga y con



correspondientes numerosos abandonos inevitables.

Los intentos de evitar una distorsión debida a los abandonos son fundamentales para mantener los beneficios de la aleatorización. Si la tasa de abandonos supera el 20% de los pacientes aleatorizados, hay que tener mucho cuidado al analizar los resultados.

Los análisis post hoc y de subgrupos, que sólo son válidos si se planifican de antemano, tienen un valor exploratorio y los resultados no son adecuados para extraer conclusiones generalizadas; más bien, deben confirmarse en experimentaciones diseñadas expresamente.

Evaluación basal

Es necesario prever un eventual periodo de observación basal (al menos 1 temporada para los pólenes) con vistas a incluir a pacientes que desarrollen un número adecuado de síntomas antes de ser aleatorizados y excluir a aquellos sin un aumento claro de la sintomatología durante la temporada, o a pacientes con síntomas fuera de temporada (11).

Los recuentos de pólenes son fundamentales y los efectos clínicos de la SLIT se tienen que registrar a lo largo de toda la temporada. Sin embargo, la imprevisibilidad y la variabilidad de la exposición pueden limitar el valor de la información obtenida a partir de un periodo basal de referencia. Además, la evaluación de la sintomatología antes del inicio del tratamiento en estos pacientes no siempre es factible, ya que un ciclo con SLIT suele comenzar al menos 8 semanas antes del inicio de la temporada (12). Para garan-

Tabla 1 Cuestiones que deben tenerse muy en cuenta al realizar estudios clínicos	
Aspectos de la metodología	• Aleatorización/enmascaramiento de la asignación/procedimiento en ciego; • Cálculo de la potencia del estudio; • Análisis por intención de tratar Intention-To-Treat (ITT); • Análisis de sensibilidad y análisis de abandonos; • Selección no distorsionada de los resultados; • Medidas promedio del efecto con medida de la varianza; • Efecto placebo; • Importancia clínica de los resultados.
Evaluación basal	• Recuento de pólenes, evaluación de los niveles en interiores; • Temporadas no superponibles.
Características de los pacientes	• Diagnóstico apropiado; • Nivel basal de los síntomas; • Gravedad de los síntomas; • Comorbilidades; • Mono y polisensibilización; • Ninguna inmunoterapia en los 5 años anteriores.
Objetivo principal	• Puntuaciones de síntomas + fármacos como resultados primarios; • Resultados secundarios; • Resultados exploratorios y sustitutos.
Vacunas alérgeno-específicas	• Normalizadas; • Eficacia conocida y contenido de los alérgenos mayores en unidades de masa; • Descripción de los regímenes de dosificación.
Seguridad	• Codificación uniforme de los eventos adversos (MedDRA).
Seguimiento	• Duración adecuada para el resultado principal; • Procedimiento abierto para estudios a largo plazo.
Reporting	• De conformidad con la lista de control CONSORT.

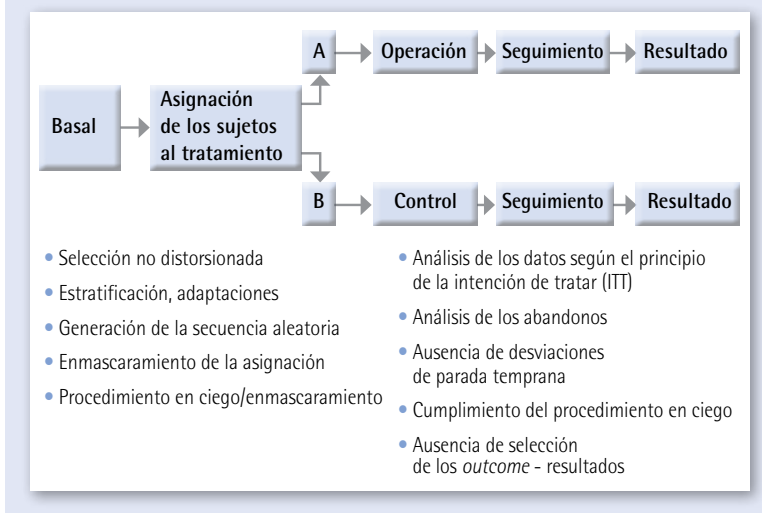
tizar temporadas compatibles y bien definidas, los estudios deben incluir lugares similares. En el caso de los estudios multicéntricos realizados a gran escala en distintas ubicaciones geográficas, con una gran variabilidad de los recuentos de pólenes y de las temporadas, es necesario normalizar

los datos para las dos semanas se pico. En cuanto a la alergia a los ácaros, los datos basales de referencia se tienen que evaluar junto con las fluctuaciones medidas en serie de los niveles de alérgenos en interiores, esto a lo largo de la duración del estudio. Se sugieren medidas de



Figura 1

Características a las que ajustarse durante el estudio para garantizar una metodología adecuada



prevención ambiental, aunque su papel es objeto de debate. Cabe prever una reducción gradual de los niveles de ácaros en el transcurso de los estudios.

Características de los pacientes

Puesto que es fundamental que se documente el papel causal de los alérgenos, en pacientes elegibles para los estudios se tiene que confirmar con precisión a nivel cutáneo o serológico la sensibilización mediada por IgE. El inicio y la duración de los síntomas deben estar relacionados con la sensibilización durante al menos 2 años consecutivos. Esta relevancia clínica se puede evaluar eventualmente mediante pruebas de provocación específicas en los casos especialmente poco claros. La patología se tiene que clasificar por

gravedad y duración según las directrices más recientes: ARIA para la rinitis alérgica y GINA (*Global Initiative for Asthma*) para el asma (13, 14). Dado que en la vida real la mayoría de los pacientes alérgicos están polisensibilizados, es sumamente importante diferenciar con precisión a las personas mono y polisensibilizadas, teniendo en cuenta también las reacciones cruzadas entre alérgenos. Los pacientes monosensibilizados, o los pacientes polisensibilizados a alérgenos no reactivos cruzados y sin estacionalidades solapadas, son ideales para un estudio de un solo alérgeno. Además, es necesario examinar detenidamente las comorbilidades para evitar resultados engañosos y definir con mayor precisión a los pacientes «difíciles» (SCUAD - *Severe Chronic Upper Airway Diseases*).

En los 5 años anteriores los pacientes no deben haber recibido ciclos de inmunoterapia.

Objetivo principal

Dado que la definición de marcadores sustitutivos de la eficacia clínica para la inmunoterapia sigue siendo objeto de debate, habitualmente los estudios suelen adoptar la reducción de los síntomas totales (a nivel nasal, ocular y bronquial) individuales y la reducción de la medicación de socorro tomada. Los síntomas suelen medirse en una escala de 4 puntos (de 0 - ausente, a 3 - grave), de forma retrospectiva o instantánea, y los promedios se relacionan de forma diaria, semanal, mensual o estacional. Un enfoque alternativo es el uso de una escala analógica visual (*Visual Analog Scale* - VAS).

Dado que los síntomas y el uso de fármacos de socorro son dos criterios de valoración estrechamente relacionados, su asociación en una única puntuación puede resultar ventajosa, pero actualmente todavía no existe ningún método normalizado. Es importante que exista un enfoque común a la hora de asignar diferentes valores a las distintas categorías farmacológicas.

Como resultados secundarios deben utilizarse las puntuaciones de los síntomas individuales, las valoraciones generales del paciente o del médico en la respuesta al tratamiento, los días sin síntomas o sin medicación, las evaluaciones objetivas como el flujo inspiratorio nasal máximo, la rinometría, la función pulmonar, la variación de la reactividad bronquial específica (BHR) y los parámetros sanguíneos.

Recomendaciones recientes sugieren



prestar especial atención a la evaluación de los resultados comunicados por los pacientes (*Patients' Reported Outcomes* - PROs) (15). El efecto sobre la calidad de vida, investigado mediante cuestionarios específicos e inespecíficos validados, refleja de hecho un impacto de la patología que no se detecta por los síntomas específicos de un órgano o el uso de fármacos.

Para una declaración de eficacia en el asma, deben realizarse unos RCT diseñados específicamente. Los síntomas bronquiales deben utilizarse como resultado primario, en combinación con el VEMS (volumen espiratorio forzado en 1 segundo) o el PEF (flujo espiratorio máximo). El control del asma, el número de exacerbaciones, el consumo de esteroides inhalados, la calidad de vida y la reactividad bronquial parecen ser resultados secundarios apropiados. Además, dado que el asma grave no controlada se considera una contraindicación para la inmunoterapia, es necesario llevar a cabo una monitorización estricta de la seguridad.

En algunos estudios clínicos, los criterios de valoración exploratorios pueden tomar en consideración los cambios progresivos en la prueba de provocación con alérgenos, los cambios en las pruebas cutáneas, las inmunoglobulinas específicas, los parámetros inmunológicos, la reactividad bronquial inespecífica, el esputo inducido y la exhalación de óxido nítrico.

Cálculo de la potencia, medición de los efectos y duración del estudio

Se sabe que los estudios pequeños son potencialmente engañosos debido al riesgo de sobrestimar el alcance del efecto de la intervención o de no notar los efectos mo-

destos (riesgo de error estadístico de tipo II). Recientes estudios clínicos de fase III han demostrado que un número de 150-200 pacientes por grupo es adecuado para un ensayo controlado aleatorizado con doble ciego (16). Hay que hacer un cálculo a priori adecuado sobre la base del resultado primario, para estimar los índices de variabilidad y la intensidad esperada del efecto, con vistas a garantizar la eventualidad de mostrar una diferencia con respecto al control. Una estimación del porcentaje de abandonos proporcionará al final el número necesario de pacientes que inscribir. En cuanto a la interpretación de los resultados, no basta con utilizar únicamente los valores de *p* para evaluar la significación estadística, sino que se requieren medidas promedio con intervalos de confianza. Se seleccionó arbitrariamente un efecto al menos un 20% superior al del placebo como cut-off fiable para evaluar la relevancia clínica. Además, cuando se dispone de datos basales de referencia, se sugiere calcular la mejoría relativa producida por la SLIT y por el placebo en comparación con esos datos. Un método válido consiste en medir el «área bajo la curva» para todo el periodo de tiempo. Se debe adaptar la duración del estudio al resultado principal. Para los estudios que exploran la sintomatología, el seguimiento a corto plazo es suficiente, pero para evaluar los efectos a largo plazo y modificadores de la patología, cabe considerar por lo menos 2-3 años.

Efecto placebo

Debido a los efectos secundarios locales significativos y duraderos (hasta 2 semanas) de la SLIT, en comparación con la preparación con placebo, puede verse comprometida la adecuada realización en ciego de los estudios.

Por otra parte, ni la histamina ni otras sustancias provocan los mismos efectos que el alérgeno en la mucosa oral. Por lo tanto, no son útiles para simular una preparación activa. Actualmente este tema está sin resolver y es necesario tenerlo en cuenta al evaluar la eficacia, ya que puede producir una distorsión, *bias*.

Vacunas

En los estudios clínicos, es deseable que se utilicen vacunas estandarizadas con eficacia y caducidad conocidas, con indicado su contenido de alérgenos mayores en unidades de masa (microgramos por mililitro) (17). A menudo se etiquetan las vacunas en unidades de potencia biológica basada en pruebas cutáneas con referencia a un estándar propio intraempresarial, pero la medición precisa de los alérgenos mayores es un objetivo deseable. Se deben notificar cuidadosamente la dosis diaria, semanal y acumulativa, expresada en microgramos, de los alérgenos principales. Algunos estudios de *dose-finding* con vacunas de pólenes de gramíneas han mostrado que la eficacia de la SLIT depende realísticamente de la dosis, y parece que se requiera una dosis diaria de mantenimiento de entre 15 y 25 µg de alérgeno mayor no modificado. En el caso de los alergoides, incluso dosis más bajas pueden ser adecuadas debido a su biodistribución favorecida. Sin embargo, es necesario de forma urgente establecer la dosis óptima para lograr la máxima eficacia, sin efectos secundarios, también para todos los demás alérgenos relevantes.

Se tienen que preferir las vacunas con un solo alérgeno, pero en el caso de las mezclas, si se combinan sólo deben utilizarse alérge-



nos homólogos de estabilidad comprobada. Cada estudio debe informar del protocolo de inducción utilizado, especificando el número de dosis por semana y el régimen de mantenimiento adoptado (coestacional, preestacional, perenne) con periodos de referencia detallados.

SEGURIDAD: HABLAR EL MISMO IDIOMA

La prueba de tolerabilidad debe proceder de observaciones realizadas en la fase antecedente a la comercialización, pero deben confirmarse continuamente en la vida real mediante un sistema de control posterior a la comercialización.

La evaluación de la literatura existente sugiere la necesidad de normalizar la forma de clasificar y notificar los acontecimientos adversos.

Las reacciones adversas se deben codificar utilizando el MedDRA (*Medical Dictionary for Regulatory Activities*), y durante el primer mes de tratamiento es necesario registrar a diario el perfil de seguridad. El MedDRA actualmente es el único enfoque reconocido internacionalmente para clasificar los acontecimientos adversos desde los estudios de fase I hasta los de monitorización (18).

Recientemente, la importancia de una clasificación y definición uniformes de las reacciones adversas a la inmunoterapia impulsó a los grupos de trabajo europeos y americanos, respaldados por la Organización Mundial de Alergia, a elaborar un documento a compartir (19). Por otra parte será crucial el papel que tendrá la fase de implementación local.

ESTUDIOS CLÍNICOS A LARGO PLAZO Y PREVENTIVOS

Se ha demostrado que la SLIT tiene efectos adicionales en comparación con el tratamiento farmacológico, como la eficacia a largo plazo tras su interrupción, la prevención de nuevas sensibilizaciones y la reducción del riesgo de desarrollar asma en niños con rinitis alérgica. Sin embargo, en la actualidad estas pruebas se derivan de unos pocos estudios, que no están totalmente exentos de defectos metodológicos. La confirmación de tales efectos debe ser una prioridad para futuros estudios diseñados adecuadamente. Dado que requieren evaluaciones prolongadas en el tiempo, con un riesgo probable de altas tasas de abandono, especialmente en los grupos asignados a placebo, es conveniente planificar fases prolongadas de seguimiento (3-6 años). Dado que no es ético mantener el procedimiento en ciego durante muchos años, el modo abierto parece ser la mejor opción. Los efectos de la intervención deben evaluarse utilizando el mismo resultado primario que se ha comentado anteriormente y medirse, incluso después, en los mismos periodos de referencia. Para examinar el aspecto de la nueva sensibilización, es imprescindible realizar pruebas de diagnóstico con las mismas técnicas y los mismos extractos.

INFORMES DE LOS ESTUDIOS CLÍNICOS

En el metaanálisis sobre la SLIT, no se ha podido excluir la posibilidad de un *bias* de publicación. Este fenómeno tiene su origen en la tendencia a tratar de forma diferente

la comunicación de resultados experimentales positivos y los negativos o no concluyentes. Se recomienda encarecidamente que los investigadores comuniquen los resultados de todos los estudios realizados, independientemente de sus resultados. Las políticas editoriales de las revistas científicas deberían contribuir a evitar un *bias* de selección, desalentando la aceptación de estudios no registrados previamente en bases de datos específicas o en comités reguladores (FDA, EMA),

Debe indicarse claramente la financiación del estudio. Además, es importante que los resultados se comuniquen tanto numéricamente como con la ayuda de gráficos, para mejorar la transparencia y los análisis post-hoc. También hay que evitar la tendencia a seleccionar resultados favorables.

La *CONSORT statement* representa el conjunto mínimo de recomendaciones para el reporting de los RCT. Ofrece a los autores una forma uniforme de redactar los informes sobre sus hallazgos, facilitando su descripción completa y transparente y apoyando su análisis crítico e interpretación.

CONCLUSIÓN

El modelo de estudio de superioridad, aleatorizado y controlado con placebo proporciona una estimación del efecto absoluto de la terapia, pero no es especialmente adecuado para examinar la relevancia clínica de dicho efecto. Múltiples factores condicionan la validez externa (generalizabilidad) de los RCT: características de los pacientes, condición de estudio, regímenes de tratamiento, costes, adherencia, comorbilidades y tratamientos concomitantes.



Por razones prácticas, los RCT no siempre pueden tener plenamente en cuenta estos factores. Por estas razones, el término «*efficacy*» (eficacia en los estudios clínicos) se ha distinguido del término «*effectiveness*» (eficiencia en la práctica clínica). Los estudios sobre el perfil de la eficacia (estudios explicativos) determinan si una intervención produce el resultado previsto en circunstancias ideales. Los estudios observacionales suelen utilizarse para demostrar los efectos en el mundo real. Sin embargo, está ampliamente documentado que estos modelos experimentales tienden a sobrestimar los resultados. Los estudios de eficiencia en la práctica clínica (estudios pragmáticos) son una herramienta valiosa, ya que se caracterizan por hipótesis y diseños formulados sobre la base de condiciones de la práctica clínica habitual y de resultados fundamentales para la toma de decisiones clínicas, manteniendo aquellos aspectos que garantizan la validez interna del estudio (aleatorización, enmascaramiento).

En cuanto a la SLIT, tras las demostraciones concluyentes de eficacia clínica, el examen de la eficiencia será un punto clave. De hecho, en esta última influyen a fondo múltiples factores. En particular, la falta de adherencia al tratamiento puede ser un gran inconveniente. Dado que el tratamiento se realiza principalmente en casa, el riesgo de interrupción por parte del paciente se puede considerar realista. La adhesión al tratamiento es mucho mejor en los RCT con respecto a la vida real, de ahí la necesidad de realizar estudios en la vida real para poder llevar a cabo este tipo de evaluación, posiblemente acompañados de análisis fármaco-económicos. Recientemente se ha

Tabla 2	Mensajes importantes
	La metodología de muchos estudios sobre la SLIT ha sido considerada bastante insuficiente, hasta los recientes estudios destacados realizados a gran escala.
	La eficacia clínica de la SLIT está bien definida para la rinoconjuntivitis por pólenes de gramíneas, pero se necesitan más estudios para otros alérgenos y para el asma. Es necesario realizar numerosos estudios con niños.
	Es una prioridad que la metodología sea rigurosa a la hora de diseñar estudios clínicos. Hay que intentar evitar los errores estadísticos y las distorsiones en la realización, interpretación y comunicación de los estudios.
	Los puntos de la lista de control <i>CONSORT</i> proporcionan un apoyo importante. Es fundamental utilizar el diagrama de flujo, que permite visualizar el progreso de todos los participantes en el estudio.
	Se recomienda encarecidamente un resultado primario que refleje tanto la gravedad de los síntomas como la administración de medicación de socorro.
	Las medidas funcionales y los marcadores sustitutivos no pueden sustituir a los resultados clínicos primarios, pero pueden aportar pruebas de apoyo. Los resultados comunicados por los pacientes, como la calidad de vida, son cada vez más importantes.
	Son fundamentales la normalización y caracterización de las vacunas, con respecto al contenido exacto del alérgeno principal.
	Es necesario monitorizar cuidadosamente la seguridad de los estudios desde los de la fase I hasta aquellos posteriores a la comercialización, utilizando una clasificación y una nomenclatura uniformes y normalizadas de los eventos adversos.
	La adherencia al ciclo de SLIT puede ser una cuestión crucial, digna de mayor conocimiento a fondo. Es necesario implementar estrategias para mejorar la adherencia.
	La evaluación de la eficacia en relación con los costes en estudios clínicos y farmacoeconómicos es importante para situar correctamente la SLIT en el contexto de las directrices.

demostrado que la carga económica de los ciclos de SLIT puede afectar a la adherencia al tratamiento. Por otra parte, los costes de un tratamiento se señalan cada vez más como un aspecto relevante a tener en cuenta en el balance entre efectos deseables e indeseables de las intervenciones médicas (20). Por último, los análisis rigurosos fruto de estudios pragmáticos en contextos reales y de estudios de seguridad, junto con las pruebas sobre los resultados comunicados por los pacientes (PRO), respaldarán las recomendaciones adecuadas e informadas en el contexto de unas directrices compartidas.



Bibliografia

1. Bousquet J, Malling HJ, Lockey RF. World Health Organization Position Paper. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. *Allergy* 1998;53(Suppl. 54):1-15.
2. Passalacqua G, Canonica GW. Sublingual immunotherapy: update 2006. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006;6(6):449-454.
3. Compalati E, Penagos M, Tarantini F, Passalacqua G, Canonica GW. Specific immunotherapy for respiratory allergy: state of the art according to current meta-analyses. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2009;102(1):22-28.
4. Nieto A, Mazon A, Pamies R, Bruno M, Navarro M, Montanes A. Sublingual immunotherapy for allergic respiratory diseases: An evaluation of meta-analyses. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(1):157-161.
5. Compalati E, Canonica GW, Passalacqua G, Baena-Cagnani CE. Considerations about the evaluation of the SLIT meta-analyses. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(2): 509.
6. Di Bona D, Plaia A, Scafidi V, Leto-Barone MS, Di Lorenzo G. Efficacy of sublingual immunotherapy with grass allergens for seasonal allergic rhinitis: a systematic review and meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(3):558-566.
7. Casale TB, Canonica GW, Bousquet J, Cox L, Lockey R, Nelson HS, Passalacqua G. Recommendations for appropriate sublingual immunotherapy clinical trials. *J Allergy Clin Immunol* 2009 ;124(4):665-670.
8. Canonica GW, Bousquet J, Casale T et al. Sub-lingual immunotherapy: World Allergy Organization Position Paper 2009. *Allergy* 2009 ;64 Suppl 91:1-59.
9. Bousquet PJ, Brozek J, Bachert C et al. The CONSORT statement checklist in allergen-specific immunotherapy: a GA2LEN paper. *Allergy* 2009 ; 64(12):1737-1745.
10. Schulz KF, Altman DG, Moher D, for the CONSORT Group. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Ann Intern Med* 2010;152 (11):726-732.
11. Canonica GW, Baena-Cagnani C, Bousquet J, Bousquet PJ, Lockey RF, Malling HJ, Passalacqua G, Potter P, Valovirta E. Recommendations for standardization of clinical trials with Allergen Specific Immunotherapy for respiratory allergy. A statement of a World Allergy Organization (WAO) taskforce. *Allergy* 2007;62:317-324.
12. Calderon MA, Birk AO, Andersen JS, Durham SR. Prolonged preseasonal treatment phase with Grazax sublingual immunotherapy increases clinical efficacy. *Allergy* 2007; 62(8):958-961.
13. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, van Wijk RG, Ohta K, Zuberbier T, Schünemann HJ; Global Allergy and Asthma European Network; Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation Working Group. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(3):466-476.
14. Global Initiative for Asthma, National Institute of Health, National Heart Lung and Blood Institute. Global strategy for asthma management and prevention. NHLBI/WHO workshop report no. 02- 9. Bethesda, NHLBI, 200.
15. Braidó F, Bousquet PJ, Brzoza Z, Canonica GW, Compalati E, Fiocchi A, Fokkens W, Gerth van Wijk R, La Grutta S, Lombardi C, Maurer M, Pinto AM, Ridolo E, Senna GE, Terreehorst I, Todo Bom A, Bousquet J, Zuberbier T, Baiardini I, Braidó F, Bousquet PJ, Brzoza Z. Specific recommendations for PROs and HRQoL assessment in allergic rhinitis and/or asthma: a GA(2)LEN taskforce position paper. *Allergy*. 2010;65(8):959-968.
16. Durham SR. Sublingual immunotherapy: what have we learnt from the, big trials? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008; 8(6):577-584.
17. Bousquet PJ, Demoly P, Passalacqua G, Canonica GW, Bousquet J. Immunotherapy: clinical trials-optimal trial and clinical outcomes. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2007;7 (6):561-566.
18. Brown EG, Wood L, Wood S. The medical dictionary for regulatory activities (MedDRA). *Drug Saf* 1999;20:109 -117.
19. Cox L, Larenas-Linnemann D, Lockey RF, Passalacqua G. Speaking the same language: The World Allergy Organization Subcutaneous Immunotherapy Systemic Reaction Grading System. *J Allergy Clin Immunol* 2010 Mar;125(3):569-574.
20. Atkins D, Best D, Briss PA et al. Grading quality of evidence and strength of recommendations. *Bmj* 2004;328(7454):1490-1494.

por Gianni Mistrello



Notiziario Allergologico

Año 2013 • Volumen 31 • n. 2

Con el descubrimiento de la existencia de los anticuerpos IgE (por mérito de los cónyuges Ishizaka, en 1967) y su papel en la sensibilización y en desencadenar los síntomas alérgicos, se hizo posible el diagnóstico de la alergia, y por tanto la identificación de las personas alérgicas, gracias al desarrollo de pruebas específicas *in vitro* mediante la detección de niveles específicos de IgE en el suero (RAST, o ELISA) o *in vivo* en la piel (prick). Estas pruebas se basaban y siguen basándose en el uso de extractos alérgicos, y con el tiempo se ha producido una mejora progresiva y continua de su normalización por parte de las Empresas Productoras. La extensión de las nuevas tecnologías (SDS-PAGE e inmunoblot) al campo de la alergología puso de manifiesto que los extractos de alérgenos utilizados consistían en un mosaico de moléculas (alérgenos) y, con base en la frecuencia de reconocimiento por parte de sueros de personas alérgicas, algunas moléculas resultaron ser clínicamente más

relevantes (alérgenos mayores) y otros menos (alérgenos menores). Estas pruebas han allanado el camino para el desarrollo de nuevas herramientas de diagnóstico basadas en el uso de alérgenos individuales obtenidos mediante la aplicación de la tecnología del DNA recombinante, también en el campo de la alergología. La disponibilidad de alérgenos individuales en forma recombinante, obtenidos de diversas fuentes alérgicas (pólenes, ácaros, epitelios de animales, alimentos...) ha revolucionado el diagnóstico de la alergia, ahora conocido como Diagnóstico por componentes moleculares (*Component Resolved Diagnosis* - C.R.D.).

Este artículo sobre el diagnóstico molecular que data de 2013 lleva la firma del Dr. Asero, alergólogo sumamente experto y referencia en el mundo de la alergología por sus innumerables publicaciones, me siento honrado de haber contribuido a algunas de ellas. Siempre atento a las novedades en el campo de la alergología, el autor destaca, al tiempo que subraya la importancia, como primer nivel de investigación, de la prueba cutánea clásica basada en la utilización de extractos alérgicos, las ventajas de las nuevas herramientas de diagnóstico como el microarray ISAC (actualmente hay otras herramientas aún más sofisticadas) propuestas en aquella época. En concreto, se basa en un inmunoensayo miniaturizado de fase sólida que permite determinar simultáneamente IgE específicas frente a un número cada vez mayor de alérgenos individuales, producidos en su mayoría en forma recombinante. El uso del diagnóstico molecular ha permitido y permite salir del laberinto de los pacientes multipositivos, ya que se logra distinguir entre alergias verdaderas y reacciones cruzadas, en las que uno o más alérgenos pueden estar presentes incluso en especies taxonómicamente distantes. El artículo va acompañado de numerosas tablas en las que se describen los alérgenos de diversas fuentes alérgicas causantes posibles reacciones cruzadas. Está claro que para el alergólogo, esta distinción es importantísima para establecer un tratamiento adecuado o, en el caso de una alergia alimentaria, para excluir determinados alimentos de la dieta del paciente. Entre los aspectos interesantes que el autor quería destacar (y que creo que también son válidos hoy en día) recuerdo la invitación a no abusar del diagnóstico molecular (por ejemplo, podría no tener sentido en los casos de personas que el prick haya indicado como monosensibles) y sobre todo que la prueba la debe recetar un especialista que tenga las habilidades necesarias para interpretar correctamente los resultados.



El microarray ISAC en el diagnóstico alergológico

Riccardo Asero

Ambulatorio de Alergología,
Clínica San Carlo, Paderno Dugnano (MI)

Diagnosis of allergic diseases by ISAC microarray.

Not Allergol 2013; vol. 31: n.2: 65-74.

INTRODUCCIÓN

Durante más de un siglo, el diagnóstico de la alergia se ha basado en el uso de extractos alergénicos para pruebas *in vivo* e *in vitro*. Estos extractos han ido mejorando progresiva y continuamente con el paso del tiempo en términos de purificación, sensibilidad y normalización, hasta el punto de que se puede afirmar con certeza que la mayoría de los extractos alergénicos actuales contienen la mayoría de las proteínas alergénicas, al menos en lo que se refiere a los alérgenos respiratorios. Hoy en día, una prueba cutánea *in vitro* o *in vivo* positiva o negativa con un extracto de una fuente de alérgeno respiratorio tiene una sensibilidad y un valor predictivo que a menudo se aproxima al 100%. En el ámbito de las alergias alimentarias, la situación es menos brillante debido a la extrema labilidad de algunos alérgenos y al hecho de que algunas proteínas alergénicas están presentes en cantidades muy limitadas en las respectivas fuentes alergénicas, con el

Palabras clave y acrónimos

- Alérgenos • Reactividad cruzada • IgE específicas • Microarray
- Diagnóstico alergológico

RESUMEN

Uno de los principales problemas asociados al uso de extractos alergénicos para el diagnóstico *in vivo* e *in vitro* es la presencia de reactividad cruzada entre moléculas alergénicas conservadas filogenéticamente.

Estas reacciones cruzadas pueden darse entre pólenes de la misma familia botánica y de familias botánicas distintas, entre pólenes y alimentos de origen vegetal, entre inhalantes perennes (micófitos, ácaros, epitelios), entre inhalantes perennes y alimentos, y entre alimentos aparentemente no relacionados entre ellos. Los avances en biología molecular han permitido identificar, secuenciar y sintetizar *in vitro* un número cada vez mayor de proteínas alergénicas. Actualmente, la micromatriz ISAC, una prueba inmunoenzimática basada en una tecnología moderna de microchip, permite la determinación simultánea de IgE específicas frente a 112 alérgenos. El objetivo de este artículo es proporcionar algunas indicaciones para un uso correcto y una correcta interpretación de los resultados de esta nueva herramienta diagnóstica

riesgo de estar presentes en una concentración insuficiente en el extracto de diagnóstico final. A pesar de estos méritos innegables, los extractos alergénicos conllevan un defecto imposible de eliminar: se trata de mezclas de proteínas alergénicamente relevantes y otra no relevantes y, lo que es más importante, cada extracto contiene, en la mayoría de los casos, más de una proteína alergénica. En consecuencia,

los extractos pueden presentar cierta variabilidad en relación con la concentración de las proteínas alergénicas individuales entre un lote y otro y, sobre todo, una prueba positiva *in vivo* o *in vitro* obtenida utilizando un extracto alergénico no nos dice qué proteínas presentes en la fuente alergénica son responsables de la sensibilización. Esto es ciertamente un problema si se tiene en cuenta que



algunos alérgenos están presentes en forma homóloga en numerosas fuentes distintas de alérgenos y, por lo tanto, son ampliamente reactivos de forma cruzada. La reactividad cruzada inmunológica está asociada a la presencia de proteínas filogenéticamente conservadas, ampliamente presentes en el medio ambiente, que tienen epítomos homólogos. Como es natural, si el paciente está sensibilizado a una única fuente alérgica o a un número limitado de fuentes alérgicas, las deficiencias antes mencionadas del diagnóstico basado en extractos pasan en segundo plano y no influyen en las decisiones clínicas en términos de precisión diagnóstica y consiguiente posterior prescripción de inmunoterapia específica. Por otra parte, si el paciente está sensibilizado a varias fuentes de alérgenos, por ejemplo a más de 4 pólenes distintos (1), la cuestión se complica bastante, sobre todo teniendo en cuenta que los calendarios polínicos de las diferentes fuentes de alérgenos a menudo se solapan. Se puede argumentar que el principal problema para el alergólogo que se enfrenta a un paciente polisensibilizado es la posibilidad de co-reconocimiento de alérgenos de reacción cruzada presentes en distintas fuentes de alérgenos, y que su tarea es identificar los alérgenos sensibilizantes primarios.

INHALANTES ESTACIONALES

Entre los alérgenos inhalantes esta-

cionales (Figura 1), los fenómenos de reactividad cruzada son bastante complejos y se producen a diferentes niveles:

- a) proteínas presentes en las especies individuales de polen;
- b) proteínas homólogas presentes en especies distintas de polen;
- c) los denominados panalergenos.

Reactividad cruzada entre proteínas presentes en el ámbito de especies individuales de polen

Estas reactividades cruzadas simplifican enormemente la tarea del alergólogo al poder disponer de marcadores de sensibilización primaria a una familia determinada de pólenes. Por ejemplo, el polen de *Phleum pratense* contiene todos los alérgenos relevantes de los cientos de especies de gramíneas, y el polen de *Artemisia vulgaris* puede utilizarse como representante de las aproximadamente 13.000 especies de plantas pertenecientes a la familia *Compositae* (2). Del mismo modo, el polen de abedul representa los pólenes de la familia *Fagales* (entre los que figuran abedul, avellano, aliso, haya, roble y carpe), el polen de *Cupressus arizonica* representa todas las *Cupressaceae* (*Cupressus spp.*, además de *Cryptomeria japonica* y *Thuja spp.*), y el polen de olivo representa todas las *Oleaceae* (incluidos fresno y aligustre), etc.

Hay algunas excepciones a esta regla. Por ejemplo, la artemisa y la ambrosía forman parte de la familia *Compositae*, pero tienen alérgenos mayores distintos, por lo que es necesario probarlos

ambas en fase diagnóstica. Igualmente, el grupo Ambrosia incluye diferentes especies (*A. artemisiifolia*, *A. trifida*, *A. maritima*), pero los alérgenos mayores no son completamente reactivos de forma cruzada (3), razón por la cual el polen que debe utilizarse en ámbito diagnóstico debe ser el de la planta realmente presente en una determinada zona geográfica.

Reactividad cruzada entre proteínas homólogas presentes en especies polínicas distintas

En cuanto a las posibles reacciones cruzadas entre diferentes especies botánicas, el ejemplo más conocido es el de la reactividad cruzada entre el alérgeno mayor del polen de abedul (Bet v 1, una proteína relacionada con la patogénesis «*pathogenesis-related protein*» del grupo 10) y las proteínas homólogas que se encuentran en un gran número de alimentos de origen vegetal; en (4) se puede encontrar una revisión de este tema, pero también existen reacciones cruzadas en otros casos. Por ejemplo, quienes practican la alergología clínica saben perfectamente que en el 30% de los pacientes sensibles al polen de gramíneas, las pruebas cutáneas con polen de olivo son positivas incluso en zonas en las que el polen de olivo está ausente; de hecho, se ha observado una reactividad cruzada entre los alérgenos del grupo 11 del polen de gramíneas y el alérgeno mayor del polen de olivo (5). Igualmente, los pacientes alérgicos al polen de gramíneas reaccionan con frecuencia al polen



de *Plantago lanceolata*, mientras que la sensibilización a este último en ausencia de reactividad a las gramíneas es excepcional; este fenómeno se ha atribuido a la reactividad cruzada entre las proteínas alergénicas de las dos especies (6). La historia de la identificación de la reactividad cruzada entre el polen de ambrosía y el de artemisa es más compleja. Ambas plantas pertenecen a la familia botánica *Compositae* con alérgenos mayores distintos, pero la presencia de alérgenos de reacción cruzada distintos de los panalergenos se identificó hace ya 15 años (7), y bastante recientemente se ha observado cierto grado de reactividad cruzada entre los alérgenos mayores y menores de ambos pólenes. Amb a 6 y Art v 3 son homólogos (8), al igual que Amb a 4 y Art v 1 (9), y Amb a 1 y Art v 6 (10). Es interesante destacar que el co-reconocimiento Amb a 6/Art v 3 parece ser unidireccional, ya que sólo se observa en personas sensibilizadas principalmente a la ambrosía, pero no en las sensibilizadas principalmente a la artemisa (8). En cuanto al co-reconocimiento Amb a 1/Art v 6, parece ser bidireccional y probablemente es la causa principal del co-reconocimiento entre ambrosía y artemisa, al menos en el norte de Italia (Citterio S, et al. En preparación).

Reactividad cruzada entre panalergenos

a) Polcalcinas

Las polcalcinas son proteínas fijadoras de calcio presentes en prácticamente

Figura 1

Aeroalérgenos estacionales

Componente alergénico	Alérgeno Fuente	Nombre latino	Grupo de proteínas
nCyn d 1	Césped Bermuda	<i>Cynodon dactylon</i>	Grupo hierba 1
rPhl p 1	Hierba timotea	<i>Phleum pratense</i>	Grupo hierba 1
rPhl p 2	"	"	Grupo hierba 2
nPhl p 4	"	"	
rPhl p 5	"	"	Grupo hierba 5
rPhl p 6	"	"	
rPhl p 7	"	"	Polcalcina
rPhl p 11	"	"	
rPhl p 12	"	"	Profilina
rAln g 1	Aliso	<i>Alnus glutinosa</i>	Proteína PR-10
rBet v 1	Abedul	<i>Betula verrucosa</i>	Proteína PR-10
rBet v 2	"	"	Profilina
rBet v 4	"	"	Polcalcina
rCor a 1.0101	Polen de avellano	<i>Corylus avellana</i>	Proteína PR-10
nCry j 1	Cedro japonés	<i>Cryptomeria japonica</i>	
nCup a 1	Ciprés	<i>Cupressus arizonica</i>	
nOle e 1	Olivo	<i>Olea europaea</i>	
nOle e 7	"	"	Proteína de transferencia de lípidos (nsLTP)
rOle e 9	"	"	
rPla a 1	Plátano	<i>Platanus acerifolia</i>	
nPla a 2	"	"	
rPla a 3	"	"	Proteína de transferencia de lípidos (nsLTP)
nAmb a 1	Ambrosia	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	
nArt v 1	Artemisa	<i>Artemisia vulgaris</i>	
nArt v 3	"	"	Proteína de transferencia de lípidos (nsLTP)
rChe a 1	Cenizo	<i>Album de Chenopodium</i>	
rMer a 1	Mercurial anual	<i>Mercurialis annua</i>	Profilina
rPar j 2	Albahaquilla	<i>Parietaria judaica</i>	Proteína de transferencia de lípidos (nsLTP)
rPla l 1	Llantén (inglés)	<i>Plantago lanceolata</i>	
nSal k 1	Salicornia	<i>Salsola kali</i>	

Panel ISAC actual, 2013



Figura 2

Inhalantes perennes

Componente alergénico	Alérgeno Fuente	Nombre latino	Grupo de proteínas
rAlt a 1	Alternaria	<i>Alternaria alternata</i>	Enolasa
rAlt a 6	"	"	
rAsp f 1	Aspergillus	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
rAsp f 3	"	"	Superóxido dismutasa de Mn
rAsp f 6	"	"	
rCla h 8	Cladosporium	<i>Cladosporium herbarum</i>	
rBlo t 5	Ácaros del polvo doméstico	<i>Blomia tropicalis</i>	
nDer f 1	"	<i>Dermatophagoides farinae</i>	
rDer f 2	"	"	
nDer p 1	"	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	Tropomiosina
rDer p 2	"	"	
rDer p 10	"	"	
rLep d 2	Ácaro de almacén	<i>Lepidoglyphus destructor</i>	
rBla g 1	Cucaracha	<i>Blattella germanica</i>	
rBla g 2	"	"	
rBla g 5	"	"	Tropomiosina
nBla g 7	"	"	
rCan f 1	Perro	<i>Canis familiaris</i>	
rCan f 2	"	"	Lipocalina
nCan f 3	"	"	Lipocalina
rCan f 5	"	"	Albúmina sérica
rEqu c 1	Caballo	<i>Equus caballus</i>	Arginina esterasa
nEqu c 3	"	"	Lipocalina
rFel d 1	Gato	<i>Felis domesticus</i>	Albúmina sérica
nFel d 2 Gato	"	"	Uteroglobina
rFel d 4 Gato	"	"	Albúmina sérica
nMus m 1	Ratón	<i>Mus musculus</i>	Lipocalina

todas las especies de polen. Los pacientes sensibilizados a las polcalcinas reaccionan invariablemente *in vivo* e *in vitro* con todas las especies de polen. La polcalcina de *Phleum pratense*, Phl p 7, parece ser la más reactiva de todo el grupo (11). Las dos polcalcinas actualmente disponibles con fines de diagnóstico *in vitro* (Phl p 7 y Bet v 4, la polcalcina del polen de abedul) son excelentes marcadores de sensibilización a este grupo de proteínas en las personas polisensibilizadas al polen (12).

b) Profilinas

Las profilinas son proteínas estructurales presentes en el citoesqueleto de todas las especies vegetales, incluido el polen y los alimentos vegetales. Su elevada homología hace que el paciente sensibilizado sea positivo para la mayoría de los extractos de polen (13, 14), con la posible excepción de la parietaria y el ciprés, que parecen presentar un menor grado de homología (15, 16). Actualmente se comercializan cuatro profilinas para el diagnóstico *in vitro* de la alergia mediante microarrays ISAC: Phl p 12 (profilina del *Phleum*), Bet v 2 (del abedul), Mer a 1 (de *Mercurialis annua*) y Hev b 8 (del látex de caucho natural, *Hevea brasiliensis*). Los dos primeras están disponibles para el diagnóstico *in vitro* singleplex mediante ImmunoCAP. También está disponible comercialmente un extracto de polen de palmera datilera enriquecido en profilina (50 µg/ml de proteína) para uso

in vivo, que ha mostrado excelentes resultados en términos de sensibilidad y especificidad (16).

REACTIVIDAD CRUZADA
EN EL ÁMBITO DE LOS
INHALANTES PERENNES

Micófitos

En los micófitos se han identificado por lo menos dos proteínas alergénicas de reacción cruzada: la enolasa y la superóxido dismutasa de manganeso. La enzima glicolítica enolasa está presente en muchos micetos y muestra una considerable reactividad cruzada entre *Cladosporium herbarum*, *Alternaria spp.*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium citrinum*, *Fusarium solani* y *Rhodotorula mucilaginosa* (17). La superóxido dismutasa de manganeso ha sido identificada como uno de los principales alérgenos en *Aspergillus fumigatus* y parece ser capaz de producir reacciones cruzadas con enzimas homólogas presentes en diversos procariotas y eucariotas, como *Saccharomyces cerevisiae*, el látex de caucho natural e incluso los seres humanos (4). Evidentemente, los pacientes alérgicos a micófitos sensibilizados a la enolasa darán positivo *in vivo* e *in vitro* con todos los micófitos que se prueban habitualmente. Afortunadamente, incluso en el caso de los micófitos disponemos de genuinos marcadores de sensibilización como Alt a 1 para *Alternaria*, Asp f 1 para *Aspergillus* y Cla h 8 para *Cladosporium* que nos permitirán realizar

Figura 3

Alérgenos de himenópteros, látex, Anisakis

Componente alergénico	Alérgeno Fuente	Nombre latino	Grupo de proteínas
rApi m 1	Veneno de abeja	<i>Apis mellifera</i>	Fosfolipasa A2
nApi m 4	"	"	Melittina
rPol d 5	Veneno de avispa papelera	<i>Polistes dominulus</i>	Veneno, Antígeno 5
rVes v 5	Veneno de avispa común	<i>Vespula vulgaris</i>	Veneno, Antígeno 5
rAni s 1	Anisakis	<i>Anisakis simplex</i>	Tropomiosina
rAni s 3	"	"	
rHev b 1	Látex	<i>Hevea brasiliensis</i>	
rHev b 3	"	"	
rHev b 5	"	"	Profiliina
rHev b 6.01	"	"	
rHev b 8	"	"	
nMUXF3	Epítipo del azúcar de la bromelina	"	

un diagnóstico correcto y prescribir el tratamiento inmunoterapéutico adecuado para ese paciente concreto. También disponemos de un marcador de sensibilización a la enolasa, Alt a 6 de *Alternaria*, que nos permitirá explicar la polisensibilización del paciente (Figura 2).

Ácaros

Los ácaros contienen varios alérgenos de reacción cruzada. Los alérgenos del grupo 1, las proteasas de cisteína Der p1 y Der f1 provocan la síntesis de IgE tanto específica de la especie como de reacción cruzada (con la exclusión del

alérgeno mayor de *Blomia tropicalis*, Blo t 1), mientras que los alérgenos del grupo 2 Der p 2 y Der f 2 presentan reacción cruzada con el alérgeno de grupo de *Euroglyphus maynei*. La tropomiosina de ácaros (Der p 10 y Der f 10) es un panalérgeno de invertebrados altamente conservado desde el punto de vista filogenético que presenta reacciones cruzadas entre crustáceos, moluscos, cefalópodos, gusanos (por ejemplo, *Anisakis*) e insectos (por ejemplo, cucarachas) (Figura 2).

Animales

Las albúminas séricas de mamíferos



Figura 4

Alérgenos alimentarios de origen animal

Componente alérgénico	Alérgeno Fuente	Nombre latino	Grupo de proteínas
nGal d 1	Clara de huevo	<i>Gallus domesticus</i>	Ovomucoide
nGal d 2	"	"	Ovoalbúmina
nGal d 3	"	"	Conalbúmina/ Ovotransferrina
nGal d 5	Yema de huevo/carne de pollo	"	Livetina/Albúmina sérica
nBos d 4	Leche de vaca	<i>Bos domesticus</i>	Alfa-lactoalbúmina
nBos d 5	Leche de vaca	"	Beta-lactoglobulina
nBos d 6	Leche y carne de vaca	"	Albúmina sérica
nBos d 8	Leche de vaca	"	Caseína
nBos d lactoferrin	Leche de vaca	"	Transferrina
rGad c 1	Bacalao	<i>Gadus callarias</i>	Parvalbúmina
nPen m 1	Gambas	<i>Penaeus monodon</i>	Tropomiosina
nPen m 2	"	"	Arginina quinasa
nPen m 4	"	"	Proteína sarcoplásmica de unión al Ca

(Fel d 2 para el gato, Can f 3 para el perro, Equ c 3 para el caballo, pero también de bovinos, cerdos y roedores) en gran medida reaccionan de forma cruzada (18-20), hasta el punto de que los pacientes sensibilizados a estos alérgenos pueden dar positivo *in vivo* e *in vitro* a varios mamíferos (21). También las lipocalinas, alérgenos cutáneos, salivales y urinarios presentes en los mamíferos, a pesar de un nivel reducido de homología de secuencia, pueden a veces presentar reacciones cruzadas (22) (Figura 2).

REACTIVIDAD CRUZADA ENTRE ALIMENTOS

Como es natural, las reacciones cruzadas también afectan a los alérgenos alimentarios. Por lo que se refiere a los alimentos de origen vegetal, los estudios *in silico* e *in vitro* han demostrado que frente a un número enorme de alérgenos potenciales, la sensibilización se produce hacia un número muy limitado de familias de alérgenos en cuyo ámbito se producen los fenómenos de reactividad cruzada (23-26). En los ali-

mentos de origen vegetal existen básicamente 3 alérgenos de alta reacción cruzada; las profilinas (29-32), PR-10 (*proteínas relacionadas con la patogénesis del grupo 10*, homólogas del alérgeno mayor del polen de abedul, Bet v 1) (28-30), y LTP (*proteínas de transferencia de lípidos*, PR-14) (31). La mayoría de las reacciones cruzadas que se producen en el ámbito de las otras familias son bastante inconstantes y deben evaluarse caso por caso. Cabe destacar las reacciones cruzadas entre los alérgenos del látex de caucho natural y los alimentos vegetales. Por lo que se refiere a los alimentos de origen animal, las principales reacciones cruzadas suelen producirse entre peces vertebrados, debido al co-reconocimiento del alérgeno mayor parvalbúmina (Gal d 1 en el caso de la merluza), entre moluscos, cefalópodos y crustáceos, debido a la sensibilización a la tropomiosina antes mencionada, entre huevos de diferentes especies de pájaros y leche de vaca y de cabra (Figuras 4 y 5).

EL MICROARRAY ISAC IMMUNO SOLID PHASE ALLERGEN CHIP

La última versión de esta herramienta de diagnóstico de Thermo-Fisher/Phadia se basa en una moderna tecnología de microchip y consiste en una plataforma inmunoenzimática miniaturizada que permite la determinación simultánea de IgE específicas para múltiples proteínas alérgénicas recom-



binantes (en su mayoría) y naturales, y prevé 112 alérgenos. Es verosímil que con el tiempo veamos nuevas actualizaciones y modificaciones basadas en los últimos descubrimientos en el sector de la alergoinmunología. Los alérgenos disponibles actualmente en las pruebas de diagnóstico, junto con la fuente alérgica de la que proceden y su significado biológico, se ilustran en las Figuras 1-5.

CÓMO UTILIZAR CORRECTAMENTE EL MICROARRAY

Teniendo en cuenta los costes nada desdeñables de cada determinación ISAC, que, dependiendo de la situación territorial, pueden lastrar el bolsillo del paciente o las finanzas regionales, la prescripción de una prueba de este tipo debe seguir un camino diagnóstico extremadamente ordenado. Sería un despilfarro intolerable exigir un análisis de este tipo para una persona que en las investigaciones rutinarias *in vivo* resulta que está monosensibilizada a una única fuente alérgica, incluso cuando esa fuente alérgica incluye numerosos alérgenos (como en el caso de las gramíneas), ya que la «*inmunoterapia personalizada a medida*» todavía no existe (y probablemente nunca existirá dados los costes para registrar alérgenos individuales para uso terapéutico) y la inmunoterapia se realiza utilizando extractos en los que (por lo menos eso se espera) están representados todos



Figura 5

Alérgenos alimentarios de origen vegetal

Componente alérgico	Alérgeno Fuente	Nombre latino	Grupo de proteínas
rAna o 2	Anacardo	<i>Anacardium occidentale</i>	Proteína de almacenamiento, globulina 11S
rBer e 1	Nuez de Brasil	<i>Bertholletia excelsa</i>	Proteína de almacenamiento, albumina 2S
rCor a 1.0401	Avellana	<i>Corylus avellana</i>	Proteína PR-10
rCor a 8	"	"	Proteína de transferencia de lípidos (nsLTP)
nCor a 9	"	"	Proteína de almacenamiento, globulina 11S
nJug r 1	Nuez	<i>Juglans regia</i>	Proteína de almacenamiento, albumina 2S
nJug r 2	Nuez	<i>Juglans regia</i>	Proteína de almacenamiento, globulina 7S
nJug r 3	Nuez	<i>Juglans regia</i>	Proteína de transferencia de lípidos (nsLTP)
nSes i 1	Semillas de sésamo	<i>Sesamum indicum</i>	Proteína de almacenamiento, albumina 2S
rAra h 1	Cacahuete	<i>Arachis hypogaea</i>	Proteína de almacenamiento, globulina 7S
rAra h 2	"	"	Proteína de almacenamiento, conglutina
rAra h 3	"	"	Proteína de almacenamiento, globulina 11S
nAra h 6	"	"	Proteína de almacenamiento, conglutina
rAra h 8	"	"	Proteína PR-10
rAra h 9	"	"	Proteína de transferencia de lípidos (nsLTP)
rGly m 4	Soja	<i>Glycine max</i>	Proteína PR-10
nGly m 5	"	"	Proteína de almacenamiento, Beta conglucina
nGly m 6	"	"	Proteína de almacenamiento, glicina
nFag e 2	Trigo sarraceno	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Proteína de almacenamiento, albumina 2S
rTri a 14	Trigo	<i>Triticum aestivum</i>	Proteína de transferencia de lípidos (nsLTP)
rTri a 19.0101	"	"	Omega-5-gliadina
nTri a aA_TI	"	"	

La figura continúa



Figura 5

Alérgenos alimentarios de origen vegetal

Componente alérgénico	Alérgeno Fuente	Nombre latino	Grupo de proteínas
nAct d 1	Kiwi	<i>Actinidia deliciosa</i>	
nAct d 2	"	"	Proteína tipo taumatina
nAct d 5	"	"	Proteína PR-10
rAct d 8	"	"	Proteína PR-10
rApi g 1	Apio	<i>Apium graveolens</i>	Proteína PR-10
rMal d 1	Manzana	<i>Malus domestica</i>	Proteína PR-10
rPru p 1	Melocotón	<i>Prunus persica</i>	Proteína PR-10
rPru p 3	"	"	Proteína de transferencia de lípidos (nsLTP)

los alérgenos. En una persona atópica, la determinación de IgE específicas frente a un número tan elevado de moléculas alérgénicas puede dar lugar a un sinnúmero de resultados positivos difíciles de interpretar y, a menudo, de dudosa relevancia clínica. Por lo tanto, es fundamental interpretar los resultados partiendo de la evaluación clínica del paciente, es decir, sabiendo qué buscar.

En el paciente polisensibilizado a los pólenes, las dos primeras cosas que hay que hacer son:

- Identificar los sensibilizadores primarios. Es decir, responder a la pregunta: «¿A qué fuentes alérgicas está realmente sensibilizado el paciente?» Para ello, se evaluará si el suero del paciente reacciona a los denominados «marcadores de sensibilización primaria a los pólenes»: Phl p 1 y Phl p 5 para las

gramíneas, Art v 1 y Amb 1 para la artemisa y la ambrosía respectivamente, Par j 2 para la parietaria, Bet v 1 para las betuláceas, Cup a 1 para el ciprés, Ole a 1 para el olivo, Sal k 1 para *Salsola kali*, Pla a 1 para el plátano;

- Comprobar si hay sensibilización a los panalergenos del polen (polcalicina y profilina);
- Comprobar si hay sensibilización cruzada a alérgenos alimentarios;
- Comprobar la eventual sensibilización primaria a los alérgenos alimentarios y posibles reactividades cruzadas entre proteínas de la misma familia presentes en diferentes alimentos.

PROBLEMAS Y DEFICIENCIAS DEL MICROARRAY

Aunque el número de moléculas alérgicas ha aumentado gradualmente desde

las primeras versiones del ISAC, la lista de alérgenos disponibles dista mucho de estar completa. Esto se aplica en particular a los alimentos de origen vegetal, en los que aparecen continuamente nuevas proteínas capaces de provocar sensibilización en personas genéticamente predispuestas, pero también en el caso de los alérgenos alimentarios de origen animal, como los crustáceos (32). Esto significa que no es posible (y probablemente nunca lo será) prescindir de las antiguas y queridas pruebas cutáneas con alimentos frescos (y eventualmente tampoco de las pruebas de provocación oral en abierto en ciego), que son la única investigación capaz de poner a los pacientes en contacto con todas (o casi todas) las proteínas alérgicas. El inmunoensayo ISAC sigue teniendo problemas de sensibilidad intrínsecos a su naturaleza de microchip basado en el uso de cantidades mínimas de alérgeno. Los casos de falsa negatividad no son infrecuentes. A este respecto, el análisis singleplex (ImmunoCAP) ofrece una sensibilidad mucho mayor (siempre que se disponga, por supuesto, del alérgeno en cuestión). Por último, no se trata de una prueba cuantitativa, a diferencia de ImmunoCAP, por lo que no puede proporcionar indicaciones fiables para el seguimiento de las alergias alimentarias típicas de los niños

CONCLUSIONES

El microarray ISAC no es un examen de rutina y no puede ser recetado por



un médico de atención primaria ni por especialistas sin los conocimientos necesarios para interpretarlo; su uso está reservado al alergólogo. En el ámbito de las alergias respiratorias, la prueba debe reservarse para los pacientes especialmente complejos debido a polisensibilizaciones en los que se busquen indicaciones sobre la pres-

cripción de la inmunoterapia específica más correcta. En el ámbito de la alergia alimentaria, la mayor utilidad de la herramienta estriba en la identificación de la proteína alergénica a la que el paciente está sensibilizado; a la luz de las características químicas y físicas de este alérgeno, será posible evaluar el grado de riesgo asociado a la ingestión

del alimento que contiene la proteína alergénica en cuestión. El uso correcto del microarray ISAC requiere un buen conocimiento de las moléculas alergénicas y de su significado clínico, así como cierta familiaridad con los fenómenos de reactividad cruzada; estas competencias exigen que el especialista esté continuamente al día.



Bibliografía

1. Asero R, Jimeno L, Barber D- Preliminary results of a skin prick test-based study of the prevalence and clinical impact of hypersensitivity to pollen panallergens (polcalcin and profilin). *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010;20:35-38.
2. Hernández C, Martín-Esteban M, Fiandor A, et al.- Analysis of cross-reactivity between sunflower pollen and other pollens of the Compositae family. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:660-667.
3. Asero R, Weber B, Mistrello G, et al.- Giant ragweed specific immunotherapy is not effective in a proportion of patients sensitized to short ragweed: analysis of the allergenic differences between short and giant ragweed. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:1036-1041.
4. Ferreira F, Hawranek T, Gruber P, et al.- Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allergy* 2004;59:243-267.
5. Van Ree R, Hoffman DR, van Dijk W, et al.- Lol p XI, a new major grass pollen allergen, is a member of a family of soybean trypsin inhibitor-related proteins. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:970-978.
6. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, et al.- Detection of allergens in plantain (*Plantago lanceolata*) pollen. *Allergy* 2000;55:1059-1062.
7. Hirschwehr R, Heppner C, Spitzauer S, et al.- Identification of common allergenic structures in mugwort and ragweed pollen. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:196-206.
8. Gadermaier G, Wopfner N, Wallner M, et al.- Array-based profiling of ragweed and mugwort pollen allergens. *Allergy* 2008;63:1543-1559.
9. Léonard R, Wopfner N, Pabst M, et al.- A new allergen from ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) with homology to Art v 1 from mugwort. *J Biol Chem* 2010;285(35):27192-200.
10. Jahn-Schmid B, Hauser M, Wopfner N, et al.- Humoral and cellular cross-reactivity between Amb a 1, the major ragweed pollen allergen, and its mugwort homolog Art v 6. *J Immunol* 2012;188:1559-1567.
11. Tinghino R, Twardosz A, Barletta B, et al.- Molecular, structural, and immunologic relationships between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:314-320.
12. Wopfner N, Dissertori O, Ferreira F, et al.- Calcium-binding proteins and their role in allergic diseases. *Allergy Clin N Am* 2007;27:29-44.
13. Valenta R, Duchene M, Ebner C et al.- Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens. *J Exp Med* 1992;175:377-385.
14. Van Ree R, Voitenko V, van Leeuwen WA, et al.- Profilin is a cross-reacting allergen in pollen and vegetable food. *Int Arch Allergy Immunol* 1992;98:97-104.
15. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, et al.- Parietaria profilin shows only little cross-reactivity with birch and grass profilins. *Int Arch Allergy Immunol* 2004;133:121-124.
16. Asero R, Monsalve R, Barber D- Profilin sensitization detected in the office by skin prick test: a study of prevalence and clinical relevance of profilin as a plant food allergen. *Clin Exp Allergy* 2008;38:1033-1037.
17. Simon-Nobbe B, Probst G, Kajava AV, et al.- IgE binding epitopes of enolases, a class of highly conserved fungal allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:887-895.
18. Hilger C, Kohnen M, Grigioni F, et al.- Allergic cross-reactions between cat and pig serum albumin. Study at the protein and DNA levels.



Bibliografía

Allergy 1997;52:179-187.

19. Cabanas R, Lopez-Serrano MC, Carreira J, et al.- Importance of albumin in cross-reactivity among cat, dog, and horse allergens. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2000;10:71-77.

20. Goubran Botros H, Gregoire C, Rabillon J, et al.- Cross-antigenicity of horse serum albumin with dog and cat albumins: study of three short peptides with significant inhibitory activity towards human IgE and IgG antibodies. *Immunology* 1996;88: 340-347.

21. Liccardi G, Dente B, Restani P, et al.- Respiratory allergy induced by exclusive poly-sensitization to serum albumins of furry animals. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2010;42:127-130.

22. Saarelainen S, Rytönen-Nissinen N, Rouvinen J, et al.- Animal-derived lipocalin allergens exhibit immunoglobulin E cross-reactivity. *Clin Exp Allergy* 2008;38: 374-381.

23. Breiteneder H, Ebner C- Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106: 27-36.

24. Hoffmann-Sommergruber K- Plant allergens and pathogenesis-related proteins. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;122:155-166.

25. Breiteneder H, Radauer C- A classification of plant food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:821-830.

26. Jenkins JA, Griffiths-Jones S, Shewry PR, et al.- Structural relatedness of plant food allergens with specific reference to cross-reactive allergens: an in silico analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:163-170

27. Valenta R, Duchene M, Ebner C, et al.- Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens. *J Exp Med* 1992;175:377-385.

28. Ebner C, Hirschwehr R, Bauer L, et al.- Identification of allergens in fruits and vegetables: IgE

cross-reactivities with the important birch pollen allergens Bet v 1 and Bet v 2 (birch profilin). *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:962-969.

29. Björkstén F, Halmepuro L, Hannuksela M- Extraction and properties of apple allergens. *Allergy* 1980;35:671-677.

30. Rudeschko O, Fahlbusch B, Henzgen M, et al.- Investigation of the stability of apple allergen extracts. *Allergy* 1995;50:575-579.

31. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, et al.- Lipid transfer protein: a pan-allergen in plant-derived foods that is highly resistant to pepsin digestion. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 122:20-32.

32. Asero R, Mistrello G, Amato S, et al.- Shrimp allergy in Italian adults: a multi center study showing a high prevalence of sensitivity to novel high molecular weight allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157: 3-10.

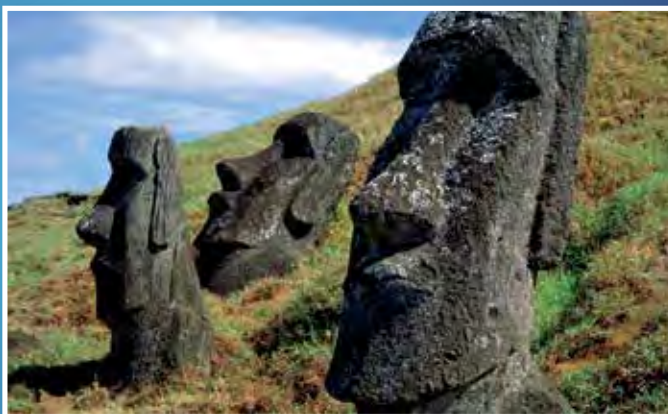
Contenido tomado del artículo original

NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

La historia de la rapamicina,
la molécula que podría
ampliar la duración
de nuestra vida
y combatir el envejecimiento.

En el próximo número
de No Allergol.

TRAILER





Proporcionar información, crear una profesión



La inmunoterapia sublingual en la práctica real actual: comparación de experiencias

Editado de Franco Frati

Especialista en Pediatría, Alergología e Inmunología Clínica
Director de la Lofarma Academy

Dra. Giada Sambugaro

Enne Medica, Casorate Primo

Dr. Renato Sambugaro

Humanitas Medical Care, Bérgamo

Es con particular placer y emoción que he aceptado publicar, en el espacio de nuestro Notiziario Allergologico dedicado a la Lofarma Academy, la contribución científica de la Dra. Giada Sambugaro, flanqueada por su padre el Dr. Renato Sambugaro, relativa a su experiencia en la práctica real sobre la inmunoterapia sublingual específica en adultos y niños.

El Dr. Sambugaro es uno de los pioneros de la inmunoterapia sublingual en Italia, y Giada, una especialista reciente, representa plenamente el espíritu que generó el nacimiento de nuestra Academy, es decir, ayudar a los jóvenes alergólogos a crecer profesionalmente trabajando junto a ellos e intentando transferirles la cultura de la alergología de precisión, donde el diagnóstico alergológico y la inmunoterapia específica son las piedras angulares.

Dr. Franco Frati

Director de la Lofarma Academy

Levamos muchos años ocupándonos de inmunoterapia sublingual (SLIT) y nos gustaría exponer nuestras ideas al respecto.

La SLIT es una estrategia de desensibilización específica con alérgenos que consiste en la administración repetida de alérgenos en forma de comprimidos o gotas sublinguales. Este enfoque modula la respuesta inmunitaria e induce tolerancia, por lo que resulta especialmente adecuado para pacientes con rinitis alérgica, conjuntivitis alérgica y asma alérgica de leve a moderada. En nuestra experiencia, hemos observado que, en comparación con la vía subcutánea, la SLIT ofrece una alternativa segura y eficaz, con las ventajas de la administración domiciliar y la facilidad de uso, lo que favorece una mejor adherencia terapéutica especialmente en la edad pediátrica, edad en que es problemática la aceptación de la terapia inyectable. La SLIT, además de ser igual de eficaz que la terapia inyectable, presenta otras muchas ventajas: la buena transportabilidad del producto sin tener que respetar la cadena del frío y la posibilidad de comenzar la desensibilización pediátrica a partir de los 5 años de edad, con base en la gran seguridad de la propia terapia. Si se comienza la des-



ensibilización precozmente, podemos extinguir gradualmente la inflamación persistente de la mucosa que, en la edad pediátrica, subyace a la predisposición a las infecciones respiratorias recurrentes, especialmente en los meses invernales. Efectivamente, según nuestra experiencia, una mucosa «sana» se defiende mejor contra los agentes infecciosos externos, así como contra los alérgenos que provocan síntomas alérgicos. Con la introducción de formulaciones en comprimidos con alérgenos modificados, se consiguió una mejora adicional de la seguridad y la adherencia terapéutica sin reducir la eficacia de la SLIT. Los datos de farmacovigilancia confirman que estas formulaciones presentan efectos adversos poco frecuentes, predominantemente locales y menores, como picor oral y, en raras ocasiones, inflamación de la mucosa sublingual, y nunca se han descrito casos de anafilaxia, lo cual podemos confirmarlo también en nuestros informes de casos. Además, consultando la literatura al respecto, en un trabajo de 2021 de Moses, Passali y Di Gioacchino, se analizaron los datos de la EudraVigilance (base de datos europea sobre sospechas de reacciones adversas a medicamentos) sobre anafilaxia por SLIT entre 2016 y 2019. De los 82 casos notificados para productos contra los ácaros del polvo, 54 se asociaron a comprimidos de alérgenos nativos sin fase de aumento de la dosis y 28 a formulaciones diferentes (soluciones orales, gotas o liofilizados orales no comercializados). En cambio, no se relacionó ningún caso con comprimidos o gotas con alérgenos modificados. Me gustaría destacar que, normalmente, en los primeros meses de SLIT pueden producirse efectos adversos locales leves, pero un seguimiento atento y una gestión específica permiten reducir su impacto y mejorar enormemente la adherencia al tratamiento. Estudios clínicos y datos *reales* indican que la adherencia a un tratamiento de tres años de SLIT con comprimidos se sitúa entre el 60% y el 80%, tanto en adultos como en pacientes pediátricos. Además de la seguridad, otros factores que determinan la adherencia son la eficacia percibida, la facilidad de uso y una educación adecuada del paciente. Según nuestra experiencia en el *mundo real*, un requisito previo para iniciar la SLIT es la implicación del paciente o, en el caso de pacientes pediátricos, de toda la familia, consiguiendo que los padres se hagan cargo de administrar la terapia o de controlar la ingesta regular por

parte de su hijo. Por tanto, también es necesario motivar a los padres y se debe discutir con ellos el plan de tratamiento, haciéndoles comprender todos los pasos lógicos: desde la certeza del diagnóstico, hasta las opciones de tratamiento, ilustrándoles los datos más recientes sobre la eficacia del tratamiento. Se debe informar al paciente sobre el coste, los posibles efectos secundarios, los controles previstos en el plan terapéutico y, sobre todo, debe tener unas expectativas acordes con las pruebas de eficacia actualmente disponibles. Un apoyo constante en las primeras fases del tratamiento puede ayudar a mejorar aún más la adherencia y garantizar unos excelentes resultados terapéuticos a largo plazo. Posteriormente, durante el curso del tratamiento, para monitorizar la mejoría del paciente, muchos trabajos sugieren el uso de tablas de puntuación síntoma/fármaco tomado, que permiten evaluar la reducción de los síntomas correlacionada con la reducción del uso de la terapia farmacológica, lo que se traduce en una notable mejora de la calidad de vida, que es precisamente el objetivo principal del tratamiento. En nuestra práctica clínica, queremos destacar que si se maneja bien, la SLIT ha demostrado ser muy eficaz tanto en pacientes con rinitis alérgica, para los que ofrece resultados notables al reducir los síntomas (estornudos, congestión, picor, rinorrea) y la necesidad de fármacos sintomáticos, como en pacientes asmáticos, para los que permite reducir el uso de broncodilatadores y corticosteroides. Sin embargo, es necesario prestar más atención a los pacientes asmáticos ya que, antes de comenzar el tratamiento, para ellos es fundamental evaluar cuidadosamente el nivel de control del asma y monitorizar atentamente al paciente durante la terapia para evitar reagudizaciones o efectos secundarios. Personalmente, creemos que la terapia desensibilizante sublingual es una opción eficaz para tratar a la persona alérgica, especialmente en edad pediátrica, cuando la adherencia del paciente es fundamental y se pueden conseguir los mejores resultados. La integración de una inmunoterapia segura y eficaz con un tratamiento farmacológico específico permite conseguir un control óptimo de la enfermedad, objetivo que todo especialista en alergias debe plantearse.

Giada y Renato Sambugaro



ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

Il **Notiziario Allergologico** è una pubblicazione quadrimestrale di aggiornamento nel campo della Allergologia e delle discipline a essa correlate, rivolta ai Medici e ai Ricercatori. Il **Notiziario Allergologico** non pubblica articoli sperimentali, ma aggiornamenti e rassegne concordati con il Direttore responsabile e gli Autori, sia per quanto riguarda i contenuti che la lunghezza. Le affermazioni e le opinioni espresse negli articoli sono quelle degli Autori e non esprimono necessariamente il parere del Direttore responsabile o della Redazione.

- I **manoscritti** per la pubblicazione devono essere inviati tramite posta elettronica a:
redazione@lofarma.it
Nei manoscritti, oltre al nome completo degli Autori, dovrà essere indicata l'affiliazione degli stessi e l'indirizzo postale dell'Autore al quale verranno inviate le bozze.

- Il **testo** dovrà essere in formato Word o analogo, senza usare programmi di impaginazione specifici.

- Le **illustrazioni**, le fotografie e le tabelle dovranno essere salvate e inviate in file separati (formati JPG, TIFF, PDF).

Notiziario Allergologico is a quarterly publication for updates in the field of Allergology and related disciplines, aimed at Physicians and Researchers. **Notiziario Allergologico** does not publish experimental articles, but updates and reviews agreed upon with the Editor in Chief and Authors, both in content and length. The statements and opinions expressed in the articles are those of the Authors and do not necessarily express the views of the Editor in Chief or the Editorial Staff.

- **Manuscripts** for publication should be sent by e-mail to:
redazione@lofarma.it
In manuscripts, in addition to the Authors' full name, the Authors' affiliation and the mailing address of the Author to whom the drafts will be sent must be indicated.

- The **text** should be in Word or similar format, without using specific layout programs.

- **Illustrations**, photographs and tables should be saved and sent in separate files (JPG, TIFF, PDF formats).

El **Notiziario Allergologico** es una publicación cuatrimestral de actualización en el sector de la Alergología y disciplinas afines, dirigida a Médicos e Investigadores. El **Notiziario Allergologico** no publica artículos experimentales, sino actualizaciones y revisiones concertadas con el Director editorial y los Autores, tanto en contenido como en extensión. Las afirmaciones y opiniones expresadas en los artículos son las de los Autores y no reflejan necesariamente la opinión del Director editorial o de la Redacción.

- Los **manuscritos** para la publicación deben enviarse por correo electrónico a:
redazione@lofarma.it
En los manuscritos, además del nombre completo del Autor o Autores, deberá figurar su afiliación y la dirección postal del Autor a la que se enviarán los borradores.

- El **texto** debe estar en formato Word o similar, sin utilizar programas específicos de maquetación.

- Las **ilustraciones**, las fotografías y las tablas deben guardarse y enviarse en archivos separados (formatos JPG, TIFF, PDF).

Scarica, tramite QR code,
le istruzioni per gli autori
in formato PDF.



ITALIANO

Download, via QR code,
instructions for authors
in PDF format.



ENGLISH

Descarga, mediante código QR,
instrucciones para autores
en formato PDF.



ESPAÑOL

PRESENT AND FUTURE JUST IN ONE BREATH



Lofarma 1945

viale Cassala 40 - 20143 Milan, Italy
www.lofarma.it

