

33



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

Zej

FACULTAD DE QUIMICA

SIGNIFICADO CLINICO DE LA IgE ESPECIFICA
SERICA Y EN PIEL VS Blatella germanica (CUCARACHA
ALEMANA) COMO MARCADOR DE ENFERMEDAD
ALERGICA RESPIRATORIA

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

SANDRA FLORES GHENO



MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente: *Prof. Manuel Wong Chio*

Vocal: *Prof. Abel Gutiérrez Ramos*

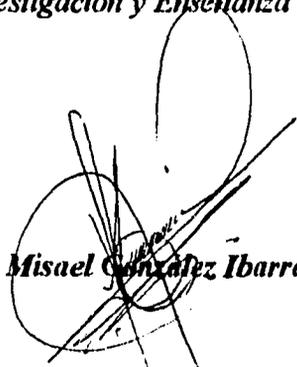
Secretario: *Prof. Misael González Ibarra*

1er. Suplente: *Prof. José Alejandro Bonifaz Trujillo*

2do. Suplente: *Prof. Ana Esther Aguilar Cárdenas*

*Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorio de Inmunología y
Micología Médica, División de Investigación y Enseñanza del Hospital
Juárez de México, S.S.*

Asesor del tema: *Q.F.B. Misael González Ibarra*

Supervisor Técnico: *Q.F.B. Alfonso Esqueda Guzmán* 

Sustentante: *Sandra Flores Gheno*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, en especial a la Facultad de Química y a sus profesores, a quienes les debo mi formación profesional.

**"Por mi raza, hablará el espíritu
y por la Universidad, sus hombres".**

**Al QFB Misael González Ibarra,
Al Dr. Daniel Aguilar Angeles,
Servicio de Inmunoalergología y Micología Médica del H.J.M.S.S.**

Gracias por compartir conocimientos, experiencia y amistad.

**Al Dr. Abdiel Ocampo,
Jefatura de Enseñanza e Investigación. Unidad de Informática.
Hospital de Especialidades Dr. Bernardo Sepúlveda G.
Centro Médico Nacional Siglo XXI.,**

Gracias por su valiosa cooperación en la realización del presente trabajo.

Al Hospital Juárez de México, S.S.

DEDICATORIAS

A Dios,

"Donde hay fe, hay amor; donde hay paz, está Dios; donde está Dios, no falta nada".

A mis padres M.G.O. y D.F.L. :

"Iniciar una obra es relativamente fácil, basta avivar un poco la lumbre del entusiasmo. Perseverar en ella hasta el éxito, es cosa diferente; eso ya es algo que requiere continuidad y esfuerzo. Las más grandes victorias corresponden siempre a quienes se preparan, a quienes luchan y a quienes perseveran".
Gracias por estar siempre conmigo!

A mis hermanos: Beatriz, Angélica, Aide, Daniel e Iliana.

"Lo más importante no es trabajar, sino producir y disfrutar el fruto de nuestro trabajo".

En memoria de mis abuelitos: E.L.L. y J.G.Y.

"Nadie puede hacer por los niños lo que hacen sus abuelos; los abuelos rocían polvo de estrellas en las vidas de los pequeños".

A mis amigos de la Facultad de Química, especialmente a la QFB Elizabeth Ibarra Tapia. ¡Muchas gracias, amiga!

"En la prosperidad, nuestros amigos nos conocen. En la adversidad, nosotros los conocemos".

A mis amigos del Laboratorio de Inmunoalergología y Micología Médica, del H.J.M. S.S. : CMC, CNN, GEG, KLV, LRC, MAC, MGI, TEL.:

"Enríquécete con cosas imperecederas: serás rico, fuerte y tus riquezas estarán siempre contigo".

Al QFB Alfonso Esqueda Guzmán ☩.

***"Dormí y soñé que la vida era alegría,
Desperté y ví que era servicio.
Serví y descubrí que en el servicio se encuentra la alegría".***

INDICE

♦ Introducción	<i>i</i>
♦ Objetivos	<i>ii</i>
♦ Antecedentes históricos	<i>iii</i>
1. CAPITULO I Hipersensibilidad tipo I.	1
1.1 Características de la IgE	2
1.2 Concentraciones de la IgE en enfermedades alérgicas	4
1.3 Regulación de la síntesis de IgE	6
1.4 Mecanismo de la Hipersensibilidad Inmediata (Tipo I)	6
1.5 Mecanismo de sensibilización	9
1.6 Alergias respiratorias	11
2. CAPITULO II Alergia a la cucaracha	15
2.1 Insectos como alergen^os inhalables	15
2.2 Hipersensibilidad inmediata a la cucaracha	17
2.3 Estructuras antigénicas y estudios inmunoquímicos	18
2.4 Relación del alergen^o de cucaracha con otros alergen^os	20

3. CAPITULO III Protocolo.....	21
3.1 Universo.....	21
3.2 Criterios.....	21
3.3 Metodología.....	23
3.3.1. Valoración clínica.....	23
3.3.2. Valoración de laboratorio.....	23
3.3.3. Estudios Inmunoalergológicos	23
3.3.4. Cuantificación de IgE total en suero	25
3.3.5. Cuantificación de IgE alergeno-específica sérica	25
3.3.6. Método Estadístico	26
♦ Resultados	27
♦ Análisis de Resultados	38
♦ Conclusiones	41
♦ Apéndice	42
♦ Bibliografía	45

INTRODUCCION

Una de las causas de enfermedad alérgica a nivel del tracto respiratorio se debe a la inhalación de partículas de insectos. El más importante es la cucaracha pues su distribución es mundial.

Bernton y Brown¹ han demostrado evidencia clínica y experimental de que el extracto alérgico de cucaracha puede funcionar como un alérgeno potente, ya que induce broncoespasmo en individuos previamente sensibilizados frente a éste. En otras ciudades del mundo se ha demostrado una alta prevalencia en poblaciones urbanas que han sido sensibilizadas a los alérgenos de cucaracha.

El mecanismo inmunológico que interviene es el mismo que para otros aeroalérgenos. Es decir, se produce IgE específica contra el alérgeno de cucaracha, la que más tarde será responsable de las manifestaciones clínicas en la rinitis alérgica y asma bronquial extrínseco.

La infestación por cucarachas en nuestro país es muy alta, por lo que la cantidad de detritus y excretas de este insecto son pululantes que en forma constante pueden estar siendo inhalados por individuos atópicos.

OBJETIVOS

- 1. Valorar la respuesta alérgica inmediata mediada por IgE, mediante la prueba cutánea frente al antígeno de *B. germanica* en pacientes con RA y/o ABE.**
- 2. Determinar la sensibilidad y especificidad de la IgE específica contra *B. germanica* en el suero de los pacientes con RA y/o ABE.**
- 3. Correlacionar los resultados obtenidos de las pruebas *in vivo* (pruebas cutáneas) con los de las pruebas *in vitro* (IgE específica sérica).**
- 4. Reportar la importancia de sensibilización de alergia inducida por antígeno de cucaracha en este grupo de pacientes.**

ANTECEDENTES HISTORICOS

La información exacta de la historia de la rinitis alérgica (RA), el asma bronquial extrínseco (ABE) y otras enfermedades alérgicas es abundante. Aunque las descripciones clínicas de su sintomatología pueden ser encontradas en escritos antiguos (chinos, egipcios y grecoromanos), es difícil decir con exactitud cuándo fueron descritos por vez primera².

Estas manifestaciones alérgicas fueron reconocidas y tratadas desde el año 3000 AC. Los primeros trabajos de investigación médica los realizaron Hipócrates y Galeno. Los médicos árabes describieron los síntomas que ahora reconocemos como Rinitis alérgica y asma, notando factores de provocación. También existen reportes que describen reacciones producidas por sustancias inhaladas, comidas, bebidas, o por piquetes de insectos².

Durante el Renacimiento, Gergius Agrícola asoció la exposición a la polulación del medio ambiente a síntomas pulmonares. Describió al polvo como causante de enfermedad pulmonar ocupacional².

Después del Renacimiento, la investigación clínica fue más florida en la alergia y en la Inmunología. El primer estudio europeo en el que se relata los síntomas de alergia estacional fue el descrito por Leonardo Botallo² (1519-1587). Entre los síntomas descritos están dolor de cabeza, estornudos, y prurito nasal manifestándose en presencia de las rosas, por lo que lo denominó catarro de rosas. Posteriormente, a finales del siglo XVIII, la Rinitis Alérgica Estacional (RAE) fue observada y descrita más frecuentemente a tal grado que los médicos la llegaron a considerar una enfermedad de la aristocracia².

En 1819 John Bostock ofrece la descripción clínica de la fiebre del heno², término que reemplazó al del catarro de rosas o catarro de durazno, cuando se llegó a la creencia que las emanaciones del heno eran el principal agente causal.

En 1831, John Elliotson propuso que los brotes de las flores también causaban síntomas de RAE y sugirió que no era causada por el heno, sino por polenes de flores. Posteriormente, basado en estas observaciones, Charles Blackley determinó la correlación entre la cantidad de polen en el aire y la severidad de los ataques presentes en esta enfermedad.

El trabajo definitivo sobre asma realizado en el siglo XIX fue el escrito por Henry Salter en Inglaterra, el cual considera que el asma es primariamente una "enfermedad nerviosa".

También en éste siglo fue que se descubrió accidentalmente la reacción de hipersensibilidad (anafilaxia) por Francois Magendine, y es cuando se dan las bases de la Inmunología con los trabajos de Jenner y Pasteur con respecto a la vacunación; posteriormente Eli Metchnikoff con la teoría de la Inmunidad celular y finalizando con Fodor, Pfeiffer y Koch quienes apoyaban la teoría humoral².

En el campo de la alergia, destacan Von Behring y Kitasato con estudios sobre la respuesta inmune pasiva al tétanos con inyecciones en animales sanos con suero de animales enfermos. En este mismo tema destacan también los trabajos de Koch y de Simón Flexner.

La primera descripción alérgica en la piel la hizo Henry Quincks, la cual abarcaba edema angioneurótico con manifestación simultánea en mucosas de labios, faringe y laringe pensando que también se presentaba en estómago y tracto digestivo.

En oposición a la profilaxia, se crea el término anafilaxis por Portier y Richet en 1902 describiendo la inducción de hipersensibilidad en perros².

Basados en las observaciones de Richet y Portier, se estableció más tarde que no sólo la subsecuente exposición a toxinas podían producir una respuesta anafiláctica, sino que también algunos alimentos como la leche, el huevo y una variedad de proteínas animales y vegetales también podían producirla. Entre éstos investigadores se encuentra a N.M. Arthus² (1862-1945) el cual, en 1903 demostró que la hipersensibilidad específica a una proteína podía ser inducida mediante una serie de inoculaciones de suero estéril de caballo. Él observó la aparición de edema, eritema y necrosis en el sitio de la inoculación después de una administración subcutánea y no intravenosa. Arthus creyó que esta reacción era causada por el mismo mecanismo que ocasionaba anafilaxia, por lo que se definió a la anafilaxia local como "Fenómeno de Arthus"².

Los avances generados en esta época llevaron a C.von Pirquet, en asociación con B.Schick a introducir en el año 1906 el término de alergia, (griego:allos=otra y ergos=respuesta), que significa una desviación del estado original. Hipotiza que la inmunidad adquirida resulta de la habilidad del huésped para producir anticuerpos más rápidamente que antes. En el mismo año A.W.Eisner (1877-1948) propuso que la RAE era un estado o reacción de hipersensibilidad.

Con la identificación de los pólenes como alérgenos causales de síntomas de enfermedades alérgicas, aunado al éxito de la vacunación y terapia de suero en la generación de inmunidad contra enfermedades infecciosas, se llevaron a cabo los primeros intentos de inmunoterapia específica para el tratamiento de las alergias respiratorias².

Dentro del grupo de investigadores que inician las bases de la inmunoterapia en la rinitis alérgica están L.Noon y J.Freeman².

Uno de los descubrimientos más importantes fue el realizado por Dale y Laidlaw, al encontrar una amina con potente efecto vasoactivo liberada durante el fenómeno alérgico denominada sustancia H (hoy en día, histamina).

En 1927 Lewis describe la triple respuesta producida por la sustancia H (vasodilatación local, inflamación y edema), y para 1950, se establece que los basófilos y mastocitos son la principal fuente de histamina (Riley y West)².

Coca y Cooke, estudiando pacientes con enfermedades alérgicas, determinaron que existe un factor predisponente denominándolo "atopia". Ellos sugirieron este término para describir a aquellos pacientes que con RA o asma, así como otras formas alérgicas, poseen la capacidad peculiar de ser sensibilizados a ciertas proteínas a las cuales son expuestos frecuentemente debido a sus actividades cotidianas.

Para 1935 Coca y Loveley describen niveles elevados de anticuerpos bloqueadores después de inyecciones con extractos alérgicos. Con éste último, se inicia la era de los mecanismos de la respuesta alérgica².

En 1940 Von Euler identifica a las prostaglandinas reportando el efecto relajante y contractante sobre el músculo liso. Samuelsson, por su parte, identifica la sustancia reactiva de la anafilaxia como un leucotrieno².

MacFarlane Burnet y David Talmage propusieron que una célula de origen inmune es el linfocito, el cual puede reconocer y responder a un número limitado de antígenos².

En 1921 O.C.W.Prausnitz y H.küstner demostraron por transferencia pasiva la presencia de una sustancia en el suero humano denominada "reagina", que tiene la capacidad de pasar de un individuo alérgico a otro no alérgico, la sensibilidad en la piel caracterizada por roncha y eritema al ponerla en contacto con el alergen sensibilizante².

En 1967 Kimishige y Teruko Ishizaka aislan, purifican e identifican a la Inmunoglobulina E (antes reagina), del suero de un paciente sensibilizado a la Ambrosia. Descubren que la IgE tiene la capacidad de unirse a los basófilos y mastocitos, y que cuando los alergenicos específicos se unen a la IgE pegada en la superficie de la célula, éstas liberan histamina y otros mediadores químicos de la inflamación².

CAPITULO I

HIPERSENSIBILIDAD TIPO 1

La hipersensibilidad consiste en una respuesta inmunitaria adaptativa que se presenta en forma exagerada o inapropiada, inmediatamente después de un segundo contacto con el antígeno ("alergeno") causando lesiones hísticas.

Según la clasificación de Gell y Coombs, se han descrito cuatro tipos de Hipersensibilidad³:

Hipersensibilidad Tipo 1 o Inmediata: *Mediada por IgE la cual se dirige contra antígenos inocuos. En esta respuesta están involucradas la liberación de mediadores farmacológicos (histamina) por los mastocitos sensibilizados por ésa IgE, causando así una reacción inflamatoria aguda³.*

Hipersensibilidad Tipo II: *Llamada también citotóxica dependiente de anticuerpos IgM e IgG. En esta respuesta, el anticuerpo se une al antígeno presente en las células conduciendo a una acción citotóxica por las células K o a la lisis mediada por complemento³.*

Hipersensibilidad Tipo III: *Mediada por complejos inmunes (IgM-IgG). Dichos complejos son depositados en el tejido. Es activado el complemento y los polimorfos nucleares son atraídos hacia el lugar del depósito provocando una lesión local³.*

Hipersensibilidad Tipo IV: Denominada también retardada. Aquí las células T sensibilizadas por el antígeno, ante un segundo contacto con éste último, liberan linfocinas induciendo reacciones inflamatorias y la atracción y activación de macrófagos, los cuales liberan mediadores³.

Debido a que en el presente capítulo nos enfocaremos específicamente a la Hipersensibilidad tipo 1, y dado que ésta se encuentra mediada por IgE, se describirá a continuación algunas de sus características .

1.1 Características de la IgE.

Actualmente se conocen cinco clases distintas de inmunoglobulinas: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. Se diferencian unas de otras por su tamaño, carga, composición de aminoácidos y contenido de carbohidratos. Su estructura básica la constituyen dos cadenas polipeptídicas ligeras idénticas y otras dos pesadas, también idénticas las cuales están enlazadas por puentes disulfuro³.

La molécula de IgE presenta cuatro dominios en las regiones constantes que son Cε1, Cε2, Cε3 y Cε4. Existen 15 medias cisteínas, 10 de las cuales forman un enlace disulfuro intercadena en cada uno de los dominios⁴. La IgE es un anticuerpo homocitotrópico con capacidad de unirse a receptores de alta afinidad presentes en células cebadas (piel y mucosas) y basófilos (sangre periférica), así como a los de baja afinidad. Su actividad homocitotrópica sobre las células cebadas reside en los dominios Cε3 o Cε4 y la capacidad de la fijación cutánea involucra ambas regiones.

El sitio de reconocimiento primario para los receptores de superficie de las células cebadas está localizada en la región Cε4; en tanto que el enlace secundario puede localizarse en Cε3 o Cε4⁴.

Su capacidad de sensibilización reside en su porción Fc desapareciendo con el calentamiento a 56 °C durante media hora³.

Está constituida por 12 residuos de carbohidratos presentes sólo en las cadenas pesadas. Posee un peso molecular de 196 000 d y un coeficiente de sedimentación de 8S.

Cuando la IgE es escindida por la enzima proteolítica "papaína" libera un fragmento 5S de peso molecular de 98,000. Dicho fragmento (Fc) contiene muchos determinantes IgE específicos de la molécula completa y se une a la superficie de la célula mastoide. Además, comparte algunos determinantes antigénicos con el fragmento F(ab)₂, producido cuando la molécula es escindida por la pepsina (enzima proteolítica).

Con lo que respecta a las características fisicoquímicas cabe mencionar su termolabilidad, capacidad para enlazarse a los mastocitos y basófilos; no fija complemento por la vía clásica y no atraviesa placenta. Posee una vida media de 2 días y medio, y un ritmo de producción de 2.3 mcg Kg/día. A pesar de que su vida media es muy corta es importante resaltar que los mastocitos pueden permanecer sensibilizados hasta 12 semanas después de una sensibilización pasiva con suero atópico.

Su concentración sérica se expresa en UI; 1 UI es igual a 2.3 ng de acuerdo a la OMS. Estos niveles varían con respecto a la edad del individuo⁴.

EDAD	NIVEL DE IgE (UI/ ml)
1 ½ meses - 4 ½ meses	9.0
9 meses - 3 años	32.0
Adulto	90.0

Esta inmunoglobulina presenta un papel en la inmunidad activa frente a los parásitos y está comúnmente asociada en los países desarrollados a procesos de hipersensibilidad inmediata (asma y rinitis alérgica).

1.2 Concentraciones de IgE en Enfermedades Alérgicas:

La IgE que se encuentra en el plasma de pacientes alérgicos es tanto específica a los alérgenos causantes como inespecífica. La suma de todas las moléculas de IgE en circulación forman los niveles de IgE total del paciente.

Las personas sanas presentan un muy bajo nivel de IgE total y un nivel de IgE alérgeno específica no detectable en suero. A diferencia, los pacientes con manifestaciones atópicas⁵ reportan por lo general niveles altos de IgE total y valores significativos de IgE alérgeno específica a los agentes causales.

Generalmente la producción de IgE declina con la edad⁶. Después de alcanzar un nivel máximo al final de la primera y al principio de la segunda década de vida los niveles séricos de IgE comienzan a disminuir progresivamente hasta alcanzar su nivel mínimo después de los 60 años. En forma paralela, la incidencia de problemas alérgicos, así como la severidad de éstos también disminuye.

La concentración de IgE es muy baja si se le compara con otras inmunoglobulinas, por lo que los métodos de inmunodifusión no reportan datos clínicamente relevantes en padecimientos atópicos.

Tomando en cuenta esto último, en 1976 se diseñó un grupo básico que cubre aproximadamente el 70% de los alérgenos regionales más comunes reportándose así valores de referencia de IgE total:

Valores predictivos en recién nacidos y lactantes:

Edad:	Génesis atópica altamente probable
0 días (muestra de cordón)	más de 0.6 U/ml
6 semanas	más de 2.1 U/ml
6 meses	más de 6.6 U/ml
1 año	más de 7.3 U/ml

Valores indicativos de una probable génesis atópica:

1 año	más de 15.1 U/ml
2 años	más de 28.7 U/ml
4 años	más de 32.7 U/ml
7 años	más de 87.8 U/ml
11-14 años	más de 111 U/ml
15 años en adelante y adultos	más de 120 U/ml

Los niveles de IgE durante la infancia tienen una tendencia ascendente y existen valores para cada edad.

Valores superiores a los de referencia en los primeros años de vida constituyen un parámetro para la predicción de la génesis de un proceso atópico. Valores superiores a los de referencia en pacientes con sospecha de un padecimiento alérgico, indican una fuerte probabilidad de un proceso alérgico mediado por IgE.

1.3 Regulación de la síntesis de IgE

La producción de IgE por las células plasmáticas de sangre periférica requiere de dos señales. Una señal es realizada por la interleucina 4 (IL-4), y la otra por interacciones afines y no afines entre las células T y B. La producción de IgE dependiente de IL-4 es modulada por otras linfocinas, como son la IL-5, IL-6, factor de transformación de crecimiento β (TGF- β) y particularmente el interferón γ (IFN- γ), el cual inhibe la mayoría de los eventos IL-4 dependientes, incluyendo la producción de IgE.

El mecanismo que sigue la regulación de la síntesis de IgE comienza con la entrada del alérgeno. Una vez que éste ha penetrado, se adhiere a las mucosas donde es solubilizado, fagocitado y procesado por células presentadoras de antígeno (macrófagos). Posteriormente es expresado en la superficie de éstos últimos junto con las moléculas Clase II del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC), de tal manera que es reconocido por linfocitos Th1 el cual libera IL-2 estimulando a los linfocitos Th2 por medio de los receptores TAC (CD 25). Estos linfocitos liberan a su vez 2 linfocinas: IL-4, la cual induce el cambio de isotipo de IgM a IgE en los linfocitos B; e IL-5, permitiendo así la diferenciación del linfocito B a célula plasmática. Por otra parte, los macrófagos secretan IL-6 para inducir la secreción de IgE por las células plasmáticas. Las IgE's secretadas se unen por su fracción Fc a receptores de alta afinidad sobre mastocitos sensibilizados en tejidos y basófilos en circulación.

1.4 Mecanismo de la Hipersensibilidad Inmediata (Tipo 1)

Cualquier sustancia extraña capaz de generar una respuesta inmunitaria es conocida como alérgeno. La mayor fuente de alérgenos se encuentra en los

ácaros, pólenes y hongos. El contenido de proteínas alergénicas en éstas partículas es de un 20 a un 60%. Los alérgenos que son más frecuentemente reconocidos por un paciente sensibilizado se les denomina alérgenos mayores, y al resto, alérgenos menores. Dependiendo de la entrada al organismo se dividen en inhalables, ingeribles, inyectables y contactantes, siendo los inhalables los inductores de alergias respiratorias.

Según las fuentes de alérgenos, éstos se clasifican en:

Pólenes: Los pólenes de las plantas y árboles representan la fuente alérgica más importante, pueden estar involucradas dentro de un 10 a un 20% de enfermedades alérgicas presentándose muy comúnmente como rinitis.

Hongos: Las esporas fúngicas son las partículas más abundantes que se encuentran en el ambiente. Su tamaño es usualmente menor a 10μ lo cual les permite penetrar al sistema respiratorio sin ningún problema. Son considerados como una fuente importante de alérgenos dentro del hogar.

Artrópodos: Las clases que están involucradas dentro de estas fuentes son principalmente las clases *Aracnida* e *Insecta*, siendo su vía de entrada por picadura o por vía respiratoria.

En las órdenes *Hymenoptera* y *Diptera* se encuentran principalmente los insectos que provocan reacciones alérgicas debido a picaduras (ej: abejas, hormigas, mosquitos, avispas)⁷.

Con referencia al grupo de alérgenos inhalables podemos mencionar a aquellos provenientes de las cucarachas, mariposas nocturnas, y cigarras. La alergia a estos insectos puede incrementarse ya sea a través del medio

ambiente, o bien en el lugar de trabajo donde cerca de 1/3 de los trabajadores llegan a presentar alergia.

En la clase Aracnida se ha encontrado que su mayor fuente de alérgenos son los ácaros del polvo casero (Subclase *Acari*). Los ácaros son ubicuos, sin embargo los que requieren de mayor atención son aquellos que se localizan dentro de los hogares y granos de almacenes. La mayoría de los ácaros del polvo casero pertenecen a la familia *Pyroglyphidae* e incluye a las especies *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* y *Euroglyphus maynei*.

1.4.1. Alergia:

El término alergia fue usado por vez primera por Von Pirquet en 1906 para definir una "reacción modificada" del huésped ante un segundo contacto con un "agente" extraño a él. Estas reacciones van a depender de la activación específica de los mastocitos sensibilizados por la IgE conduciendo a la liberación de mediadores farmacológicos de la inflamación³.

1.4.2. Atopia:

La descripción de las características clínicas de la hipersensibilidad de tipo I (asma bronquial extrínseco, eccema, rinitis alérgica y urticaria), en personas con historia familiar de trastornos similares y que muestran positividad de las reacciones cutáneas inmediatas frente a los alérgenos comunes inhalables, se conoce como atopia.

1.5 Mecanismo de sensibilización:

Una vez que empieza la producción de IgE, ésta aparentemente persiste por meses o quizá algunos años. Como resultado, los anticuerpos IgE ocupan receptores para IgE en los mastocitos y basófilos (anteriormente descritos), donde permanecen para reaccionar prontamente ante un segundo contacto con el mismo alérgeno.

Esta exposición subsecuente presenta estadios visibles de una respuesta alérgica. La molécula antigénica en cuestión, entrecruza a los anticuerpos IgE adyacentes presentes en los mastocitos ocasionando un aumento en la permeabilidad de la membrana celular de células cebadas seguido de la liberación inmediata de mediadores preformados los cuales directa e indirectamente generan síntomas alérgicos.

Entre los mediadores liberados se encuentran la histamina, descrita por primera vez en 1911 por Henry Dale². La acción de la histidina descarboxilasa sobre la histidina produce histamina. El contenido de histamina es alto en células gástricas, plaquetas, mastocitos y basófilos. En estos dos últimos es almacenado en los lisosomas y liberados por exocitosis (degranulación) ante una estimulación apropiada. Una vez liberada, causa su máximo efecto en los primeros 2 minutos, siendo su duración hasta por 10 minutos.

Sus efectos fisiológicos abarcan:

a) En el pulmón ocasiona contracción del músculo liso llegando a una broncoconstricción.

b) En el sistema vascular se dilatan pequeñas venas, mientras que los grandes vasos presentan constricción debido a la contracción del músculo liso.

Más aún, la histamina aumenta la capilaridad de los vasos sanguíneos. Estos cambios vasculares son identificados como una respuesta edema-eritema⁸.

c) Si éstos cambios aumentan, pueden contribuir al llamado shock hipotensivo: caída de presión sanguínea acompañada de una dramática reducción en el suplemento de oxígeno al corazón y al cerebro.

El segundo grupo de mediadores abarcan los lípidos, principalmente prostaglandinas y leucotrienos. Son sintetizados después de que el alérgeno entra en contacto con los anticuerpos IgE que se encuentran en células cebadas. Al igual que la histamina, tanto las prostaglandinas como los leucotrienos causan constricción en los tubos bronquiales y dilatación vascular, pero a diferencia de ésta, sus efectos persisten más tiempo. Los mastocitos activados atraen otras células del sistema inmune de la circulación a los tejidos. Estas células abarcan a los basófilos y eosinófilos⁸.

Los leucotrienos son generados por la acción de la enzima lipoxigenasa sobre el ácido araquidónico. Este último es liberado de la membrana fosfolípida de células activadas por medio de la enzima fosfolipasa A₂. El primer leucotrieno en formarse es el B₄ cuya función principal es la de ser un factor quimiotáctico; sin embargo es convertido por diferentes procesos metabólicos a leucotrienos C₄, D₄ y E₄. Las actividades biológicas de éstos últimos son idénticas a las de una sustancia denominada SRS-A (Sustancia de acción lenta de la anafilaxia). D₄ es el leucotrieno más potente en causar contractibilidad del músculo liso⁸.

Comparados con la histamina, los leucotrienos son entre 100 y 1000 veces más potentes en causar broncoconstricción⁸.

Las prostaglandinas son producidas por la acción de enzimas ciclooxigenasas y peroxidasas sobre el ácido araquidónico. Las prostaglandinas A y F producen contracción del músculo liso e incrementan la permeabilidad capilar;

por otra parte, las prostaglandinas E₁ y E₂ dilatan directamente el músculo liso bronquial⁹.

La presencia de un gran número de basófilos y eosinófilos en una lesión inflamatoria ocasiona que se prolongue y exacerbe una lesión local en el tejido. Los eosinófilos liberan proteínas tóxicas, siendo la proteína básica principal la que puede dañar células del epitelio respiratorio al inducir cambios en la permeabilidad de la membrana donde se depositen⁹.

El factor quimiotáctico de eosinófilos de la anafilaxia (ECF-A), se genera en los gránulos de células cebadas y es liberado inmediatamente en la degranulación. Estos péptidos (pm 400 d) atraen a los eosinófilos al sitio donde se lleva a cabo la reacción de hipersensibilidad inmediata (P. ej. pulmón en pacientes asmáticos o en la nariz en pacientes con rinitis alérgica). En éstos sitios se degradan los complejos Ag-Ac y se inhibe la acción de leucotrienos y de histamina.

El factor activador de plaquetas (PAF) es generado en los macrófagos, neutrófilos, eosinófilos y mastocitos. Causa broncoconstricción y aumento en la permeabilidad vascular. La Serotonina (5-hidroxitriptamina) es otro de los mediadores químicos liberados dentro de este mecanismo⁹.

1.6 Alergias Respiratorias

La alergia comprende enfermedades como la rinitis alérgica y el asma bronquial extrínseco, las cuales ocasionan una alta morbilidad entre las personas que las padecen.

1.6.1. Rinitis Alérgica (R.A.)

La rinitis alérgica es el resultado de una exposición a un antígeno específico que estimula una variedad de condiciones crónicas conduciendo a complicaciones como sinusitis, infecciones óticas recurrentes o pólipos nasales.

Puede presentarse en dos formas: estacionales, cuando hay reacción a pólenes de árboles y pastos en la primavera o a polenes de malezas durante el otoño; y perennes, cuando los síntomas se presentan durante todo el año. Estas manifestaciones son ocasionados frecuentemente por alergenos intradomiciliarios p. ej. caspa o pelos de animales, esporas de hongos, ácaros de polvos caseros, etc. Entre la sintomatología presentada cabe mencionar rinorrea acuosa profusa, obstrucción y prurito nasal con estornudos paroxísticos. Muy frecuentemente también se manifiestan blefaroconjuntivitis acompañada de prurito de la conjuntiva y de los párpados⁸.

Otras manifestaciones son cefalea debido a la obstrucción de los orificios de las cavidades paranasales con hipertrofia de cornetes y adenoides.

Cuando se requiere encontrar al alergeno causal, las pruebas cutáneas positivas y una concentración sérica elevada de IgE ayudan a distinguir a la rinitis alérgica de la no alérgica¹⁰. Existe la presencia de eosinófilos en secreción nasal aunque éste dato no es diagnóstico, puesto que existen alergias nasales sin eosinofilia.

1.6.2. Asma Bronquial Extrínseco (A.B.E.)

El asma es la complicación más seria de la R.A. y algunas veces es letal. Se caracteriza por obstrucción de vías bronquiales, los pacientes presentan disnea y un jadeo causado por resistencia aumentada al paso del aire expirado¹⁰.

El asma puede ser estacional, ocupacional o persistente. Muchos de los pacientes con bronquios hipersensibles se agravan con el consumo de cigarrillos, el ejercicio o en situaciones de mucho polvo. La tensión emocional es un factor precipitador importante.

La provocación bronquial es una prueba importante del asma ocupacional. No sólo prueba la reversibilidad de la obstrucción de vías aéreas sino también indica cuáles alérgenos inhalados desencadenarán asma, aunque prácticamente está en desuso.

Los análisis de laboratorio, como la concentración de IgE en suero, puede ser de gran utilidad para diferenciar asma alérgica de la no alérgica.

Existen varios mecanismos patogénicos que son los que causan broncoconstricción. La reducción característica en el diámetro bronquial se debe al efecto directo sobre el músculo liso bronquial de mediadores liberados por células cebadas. Estos mediadores también estimulan las terminaciones nerviosas vagales con la consecuente broncoconstricción bilateral.

En la reacción de fase tardía, los mediadores formados de novo incrementan la permeabilidad vascular causando edema de la mucosa; estimulan la secreción de moco bronquial pero impiden su eliminación formando así un tapón de éste. Los mediadores liberados de gránulos preformados activan y atraen a células inflamatorias.

En el "estado asmático" mortal, los tapones de moco formados pueden llegar a bloquear completamente los bronquiolos. Dichos tapones con frecuencia contienen eosinófilos.

Los broncodilatadores son los medicamentos usados con mayor frecuencia en el asma; alivian los síntomas generados por la histamina y otros

broncoconstrictores cuando se ha expuesto a un alergeno para el cual se es sensible. El uso de broncodilatadores requiere de cuidado, puesto que un sobreuso de ellos puede provocar rebote en la constricción disminuyendo así el flujo de aire. Entre los agentes anti-inflamatorios son aceptados los corticoesteroides y los fármacos no esteroideos.

El diagnóstico diferencial de estas alergias son la rinitis medicamentosa, y la rinitis vasomotora; para el asma bronquial extrínseco, la bronquiolitis y fibrosis quística, principalmente.

El diagnóstico de laboratorio consiste en valorar una biometría hemática completa, citología nasal, coproparasitoscópico en serie de tres, pruebas cutáneas, cuantificación de IgE total e IgE séricas alergeno específicas, así como estudios radiológicos como Rx de tórax y senos paranasales principalmente.

Los tratamientos deben ser combinando las terapéuticas farmacológicas, como anti-histamínicos, broncodilatadores y anti-inflamatorios; con los inmunológicos, como la hiposensibilización específica; así como el control del medio ambiente del habitat del paciente alérgico.

CAPITULO II

ALERGIA A LA CUCARACHA

Las reacciones alérgicas ocasionadas por picaduras de insectos son muy comunes y pueden llegar a ser fatales¹¹, tal es el caso reportado en la literatura, aproximadamente en el año 2641 A.C., sobre la muerte del rey Menes de Egipto, el cual murió debido a un ataque anafiláctico ocasionado por el piquete de una avispa.

*El papel que desempeñan los insectos en la alergia ha sido recopilado, en gran parte como casos aislados y en donde la alergia se ha atribuido a una gran variedad de artrópodos, principalmente los de la clase *Hexapoda* . Dentro de ésta clase se encuentran las cucarachas, las cuales se les ha catalogado como uno de los principales agentes causales de asma bronquial extrínseco^{12,13,14,15,16,17}.*

2.1 Insectos como alergen¹os inhalables:

Después de varias investigaciones, a los insectos se les ha considerado como alergen¹os inhalables por cumplir con los postulados de Thommen⁷, los cuales estaban establecidos para la polinización de las plantas. Aplicando dichos postulados se puede mencionar lo siguiente:

1. Los insectos deben contener un estimulante para ocasionar síntomas alérgicos.
2. Presentarse en grandes cantidades.
3. Estar abundantemente distribuidos.
4. Durante algún estadio de su existencia, deben de ser anemófilos.
5. Ser suficientemente ligeros para ser acarreados a distancias considerables⁷.

La incidencia de reacciones positivas a alérgenos de insectos en relación con diferentes factores como son el sexo, raza y distribución geográfica no tienen importancia relevante, debido a la distribución universal que tienen estos y sobre todo del orden *Hexapoda* y otras clases de artrópodos. En cuanto a la edad, se ha visto una mayor incidencia en personas entre los 16 y 35 años⁷.

Existe una relación alérgica entre las órdenes y las familias de los insectos, no así en cuanto a los géneros. En 1961, se observó que entre pacientes con múltiples reacciones positivas frente a alérgenos de diversos insectos, la mayoría presentaba reacción hacia las clases *Hexapoda*, en primer lugar, seguida de las clases *Aracnida* y *Crustacea*¹³.

En cuanto a las estructuras antigénicas entre clases, no se mostró ninguna relación alérgica consistente. Dentro de un mismo orden, la posibilidad de que se presenten reacciones positivas a varias familias es

mínimo¹⁸. En un estudio realizado se encontraron sólo 3 casos positivos de un total de 728.

Todos éstos resultados de pruebas en piel positivas usando extractos de insectos sirvieron de base para estudios posteriores en los que se demostraron que los insectos podían causar alergias respiratorias^{12,14}.

Entre las investigaciones realizadas, se encuentran las de Bernton y Brown¹ en las cuales presentaron evidencia clínica y experimental para comprobar que el extracto de cucaracha podría actuar como un alérgeno inhalable y producir broncoespasmos en individuos previamente sensibilizados¹⁹.

2.2 Hipersensibilidad Inmediata a la cucaracha

Las cucarachas pertenecen a la clase *Insecta*, orden *Orthoptera* y familia *Blattidae*. Son principalmente insectos tropicales, y de las aproximadamente 50 especies, 5 son las más comunes: americana, alemana, oriental, australiana y tropical; y dentro de éstas, la americana (*Periplaneta americana*) y la Alemana (*Blattella germanica*) son las de mayor importancia¹⁹.

Estos insectos habitan frecuentemente en áreas poco higiénicas²⁰ y son difícilmente exterminados. La forma en que el hombre llega a ser sensibilizado es indirecta; principalmente esta fase de sensibilización es por contaminación de utensilios y comida por heces^{21 22 23 24} y partículas del insecto. Cabe mencionar que durante la infestación en una casa particular, las cucarachas

producen una variedad de material que podría tener una consecuencia alérgica potencial. Por lo tanto, las secreciones, huevecillos, partes del cuerpo así como heces, pueden ser incorporadas dentro del polvo casero²⁵ contribuyendo así a incrementar una actividad alérgica²³, tanto en los hogares (apareciendo principalmente una reacción cutánea frente a éste alérgeno en niños¹ como en lugares de trabajo²⁶.

2.3 Estructuras antigénicas y estudios inmunoquímicos.

En 1977, se identificaron 3 componentes alérgicos²⁷ en extractos crudos de una mezcla de cucaracha americana y alemana. Los alérgenos principales Cr-I y Cr-II, con pesos moleculares de aproximadamente 25.5 Kd y 65 Kd respectivamente, provocaban una prueba por escarificación positiva en 70% de pacientes sensibilizados al extracto crudo. Por otra parte, un tercer componente, Cr-III, con un peso molecular menor a 10 kd, producía la misma respuesta pero en un 30% de los pacientes^{28,29}.

Posteriormente, por diferentes métodos se identificaron en forma individual los componente alérgicos de ambas especies.

Para *P. americana* se encontraron 2 componentes principales utilizando CRIE (radio inmunolectroforesis cruzada), Electroblob con SDS-PAGE (Dodecil-sulfato de sodio- Electroforesis en gel de poliacrinamida). Estos dos componentes, uno de pm de 78 kd y el otro de 72 kd., se unían en un 100% al suero probado de pacientes atópicos con relación a otros 18 componentes encontrados. Es por esto, que los 2 componentes anteriores ya citados (Cr-PI y Cr- PII), se les catalogó como los principales alérgenos del antígeno de cucaracha americana³⁰.

Utilizando anticuerpos monoclonales^{31,32,33}, se determinaron 2 alergenos para *B. germanica*: Bla g I y Bla g II. El primero con un peso molecular de 25 kd y el segundo de 36 kd. Este último es específico para las especies *Blattella* (*B. germanica* y *B. asahinai*)³⁴.

En términos de sensibilización, Bla g II parece ser el alergeno más importante debido a que aproximadamente el doble de los pacientes tienen anticuerpos IgE contra Bla g II que contra Bla g I³⁴.

Otro de los métodos utilizados es la clonación molecular³⁵ para identificar y secuenciar los principales alergenos de *B. germanica* observándose que las clonas de cDNA expresan determinantes que son reconocidos por los anticuerpos IgE humanos, codificando varios alergenos diferentes que son los que causan la sensibilización hacia esta especie en un 45- 70% de los pacientes alérgicos^{32,36}.

Con respecto a la relación entre las pruebas cutáneas positivas en pacientes con asma sensibilizados y los niveles de IgE sérica se ha observado que cuando hay una exposición significativa ante el alergeno, se desarrollan niveles elevados de anticuerpos IgE contra éste^{37,38}.

Otro de los hallazgos encontrados fue el de la presencia de reacción cruzada entre las especies *B. germanica* y *P. americana*.^{35,39,40,41}

Esta reacción cruzada puede deberse a la exposición a diversas especies⁵¹.

Tanto en la especie alemana como de la americana se encontró un antígeno de unión-IgE ácido por medio de filtración en gel, cromatografía de intercambio iónico y por IEF. Per a I tiene un pm entre 22 y 25 kd por SDS-PAGE, y 33kd por G-75 filtración en gel con un punto isoeléctrico menor a 4. Datos similares fueron obtenidos de Bla g I⁴⁰.

2.4 Relación del alergeno de cucaracha con otros alergenicos.

Se han realizado diversos estudios para comparar la prevalencia de hipersensibilidad cutánea a la cucaracha y otros antígenos. En este caso se ha observado que existe una correlación entre la cucaracha y los ácaros del polvo casero^{42,43} de esto no significa que si existe una hipersensibilidad al polvo casero, necesariamente tenga que existir para la cucaracha⁴⁴. También con respecto a éste último se ha demostrado que no existe reacción cruzada entre el polvo casero y la cucaracha^{45,46}.

CAPITULO III

PROTOCOLO

3.1 Universo:

Se estudiarán 40 pacientes con diagnóstico clínico de RA y/o ABE, y 2 grupos control: uno integrado por sujetos alérgicos con prueba cutánea negativa al antígeno de cucaracha, y el otro clínicamente sano; cada uno formado por 40 miembros, que sean canalizados al servicio de Inmunoalergología y Micología Médica del H.J.M. S.S., completando así el número estadísticamente significativo.

3.2 Criterios:

Inclusión. Grupo 1

- a) *Pacientes con dx. clínico de RA y/o ABE del sexo M o F con edades entre 2 y 55 años.*
- b) *Pacientes que presenten prueba cutánea positiva con más de 10 mm de roncha y eritema frente al antígeno de *B. germanica*.*
- c) *Pacientes que no hayan recibido anti-histamínicos ni inmunoterapia específica a cucaracha.*
- d) *Pacientes con integridad de la piel en brazos y espalda.*
- e) *Mujeres no embarazadas.*

Exclusión:

- a) *Pacientes con dermatitis atópica y urticaria de cualquier etiología*
- b) *Pacientes desnutridos o con inmunodeficiencias.*
- c) *Pacientes que no cooperen en el estudio.*

Inclusión: Grupo 2

Mismos criterios que el grupo 1 a excepción del punto b

- f) *Pacientes con prueba cutánea positiva a otros alérgenos y negativa al alérgeno de cucaracha.*

Exclusión:

Mismos criterios que el Grupo 1 .

Inclusión: Grupo 3

- a) *Pacientes clínicamente sanos*
- b) *Mujeres no embarazadas.*

3.3 Metodología

3.3.1. Valoración Clínica:

Cada paciente será revisado por el inmunoalergólogo, quien valorará el padecimiento actual tomando en consideración los signos objetivos (revisión de mucosas ocular, nasal y faríngea, auscultación torácica), y subjetivos (prurito nasal, ocular y faríngeo, estornudos y rinorrea).

Se tomarán en cuenta el comienzo, causa, relación y etiología de la enfermedad, investigando paralelamente las alergias asociadas, antecedentes personales (alérgicos, médicos y quirúrgicos) y familiares (alérgicos y generales).

3.3.2. Valoración de laboratorio:

Se realizará biometría hemática completa, coproparasitoscópicos en serie de tres y citología nasal; así como rayos "X" de senos paranasales y tórax.

3.3.3. Estudios Inmunoalergológicos:

a) *In vivo:* Por medio del método de pruebas cutáneas por escarificación, se determinará la presencia de IgE específica al alérgeno de cucaracha.

Se limpia la espalda del paciente con torundas impregnadas con alcohol al 70% dejando secar de 3 a 5 minutos. Posteriormente se aplican 0.05 ml del

alergeno de cucaracha glicerinado 1:20 peso/ volúmen en cada paciente con diagnóstico clínico de RA y/o ABE.

La escarificación es de 1 cm lineal con la punta de una aguja estéril (No. 21). La lectura se toma a los 15 minutos después de la aplicación (respuesta inmediata).

El resultado obtenido se compara con dos controles:

1. Positivo: 0.05 ml de fosfato de histamina glicerinado 1:1000 peso/volumen, dando como resultado la formación de una roncha más eritema mayor a 10 mm a los 15 minutos.

2. Negativo: 0.05 ml de sol. amortiguadora de fosfatos glicerinados (pH 7), sin presentar reacción alguna durante el mismo tiempo.

Interpretación:

	DIAMETROS	
RESPUESTA	EDEMA	ERITEMA
0	0 mm	5 mm
+	5 mm	5-10 mm
++	5-10 mm	10-15 mm
+++	10-15 mm	15-20 mm + pseudópodos
++++	> 15 mm	>20mm +pseudopodos

Las pruebas se considerarán positivas si y sólo si son iguales o mayores a la respuesta cutánea obtenida en el control positivo.

b) *In vitro:* Se toman 5 ml de sangre total del brazo por punción venosa con equipo Vacutainer en tubo seco estéril. La muestra se dejará coagular durante 15 min. para posteriormente centrifugarla 5 min. a 3000 rpm. El suero será congelado a -70°C hasta su utilización.

3.3.4. Cuantificación de IgE total en suero: El método a utilizar será el de Inmunoensayo enzimático en microplaca (Apéndice). Los valores resultantes serán comparados con los de la curva estándar, los cuales representan los valores normales.

3.3.5. Cuantificación de IgE alérgeno-específica sérica: Se determinará también por Inmunoensayo enzimático utilizando el alérgeno específico acoplado a microdiscos de papel (Apéndice).

Interpretación:

Estándar	Promedio	AEU/ ml	Clase	Niveles de IgE
A	1.854	17.5	4	Muy alto
B	0.429	3.5	3	Alto
C	0.150	0.7	2	Moderado
D	0.066	0.35	1/0	Bajo
E	0.000	0.00	0	Muy bajo

1 3.3.6. Método Estadístico

Este estudio representa una población cerrada, no aleatoria y sin tiempo definido.

De los resultados obtenidos con respecto al sexo, la frecuencia fué expresada en porcentaje, y en cuanto a la edad, se utilizó estadística descriptiva en base a promedio y desviación estándar.

Para los valores obtenidos de IgE específica sérica y cutánea, se realizó la prueba de independencia con el estadístico:

$$X^2_{\alpha, g1} = (r-1)(c-1),$$

donde:

r = No. filas c = No. columnas

$$\chi_m^2 = \frac{\sum (fr - ft)^2}{ft}$$

Siendo RD: Si $\chi_m^2 > X^2_{\alpha, g1} \Rightarrow$ Re Ho.

En este estudio se estableció que :

Ho: factores analizados sin correlación (independientes)

Ha: factores analizados correlacionados (dependientes)

El valor obtenido en tablas para $X^2_{\alpha, g1}$, con un nivel de significancia de 0.05 y 6 grados de libertad, fue de 12.60. De esta manera se estableció que un valor de $\chi_m^2 > 12.60$ traería como consecuencia el rechazo de Ho.

χ_m^2 : Chi cuadrada

RD: Regla de decisión

fr y ft : frecuencia obs. y esperada

$X^2_{\alpha, g1}$: Estadístico de prueba

Ho.: Hipótesis nula

Ha.: Hipótesis alternativa

3.4 Resultados:

Se estudiaron 120 pacientes, 62 femeninos y 58 masculinos que fueron distribuidos en 3 grupos, con un promedio en edad de 22.72 ± 13 .

Grupo I: Pbas. cutáneas positivas a aeroalergenos y cucaracha.

N = 40 pacientes : 21 masculinos (52.5%), 19 femeninos (47.5%); 23 (57.5%) con RA y 17 (42.5%) con RA/ABE (Tabla I-1).

Tabla I-1

Diagnóstico	No. Pacientes	Porcentaje (%)
R.A.	23	57.5
RA/ABE	17	42.5
TOTAL	40	100.0

Este grupo presentó pruebas cutáneas positivas de 2+ y 3+ de roncha / eritema conforme a la siguiente tabla:

Tabla I-2

No.	Edad	Sexo	Diagnóstico	IgE Total	IgE esp.	Pba. Cut.
1	22	F	RA	40	2	3+
2	9	M	RA	209	4	3+
3	33	F	RA/ABE	411	3	3+
4	8	M	RA	415	2	3+
5	11	M	RA/ABE	900	2	2+
6	27	F	RA	130	2	3+
7	30	M	RA/ABE	181	2	3+
8	9	M	RA	95	2	2+
9	15	F	RA/ABE	318	0	3+
10	9	M	RA/ABE	61	2	3+
11	19	F	RA	134	2	3+
12	6	M	RA/ABE	104	2	3+
13	35	F	RA	15	2	3+
14	19	M	RA	220	0	3+
15	34	F	RA/ABE	79	2	3+
16	23	F	RA	50	2	3+
17	28	F	RA	193	2	2+
18	12	M	RA	65	3	3+
19	9	M	RA/ABE	669	3	2+
20	5	F	RA/ABE	65	2	2+
21	26	F	RA/ABE	370	3	2+
22	15	F	RA/ABE	58	2	3+
23	36	M	RA/ABE	25	2	2+
24	11	M	RA	94	3	3+
25	24	M	RA	28	3	2+
26	26	F	RA	150	0	2+
27	7	F	RA	40	0	3+
28	20	F	RA/ABE	17	2	3+
29	21	M	RA/ABE	44	3	3+
30	11	M	RA/ABE	124	0	3+
31	20	F	RA	51	0	3+
32	9	M	RA/ABE	226	2	3+
33	42	M	RA	268	0	3+
34	24	F	RA	325	0	3+
35	24	M	RA	344	2	3+
36	10	F	RA	166	2	3+
37	26	F	RA	95	0	3+
38	5	F	RA/ABE	51	2	3+
39	17	M	RA	372	0	3+
40	21	F	RA	94	0	3+

De acuerdo con éstos resultados, se puede observar que el 77.5%, (31 pacientes) presentó una prueba epicutánea positiva de 3+, en tanto que el 22.5% restante, correspondiente a 9 de los pacientes, presentó una prueba epicutánea positiva de 2+ (Tabla I-3)..

Tabla I-3

	Prueba Cutánea ++	Prueba Cutánea +++
No. Pacientes	9	31

Con respecto a los niveles de IgE específica, se observó que hubo una mayor incidencia de clases 2 y 3 dentro de éste grupo, no existiendo diferencia significativa en cuanto al número de pacientes que presentaban uno u otro diagnóstico (Tabla I-4 y I-5).

Tabla I-4

Niveles de IgE Especifica	Porcentaje de Pacientes(%)
<i>Clase 0</i>	27.5
<i>Clase 2</i>	52.5
<i>Clase 3</i>	17.5
<i>Clase 4</i>	2.5

Porcentaje de Pacientes del Gpo. 1 vs IgE Especifica en suero

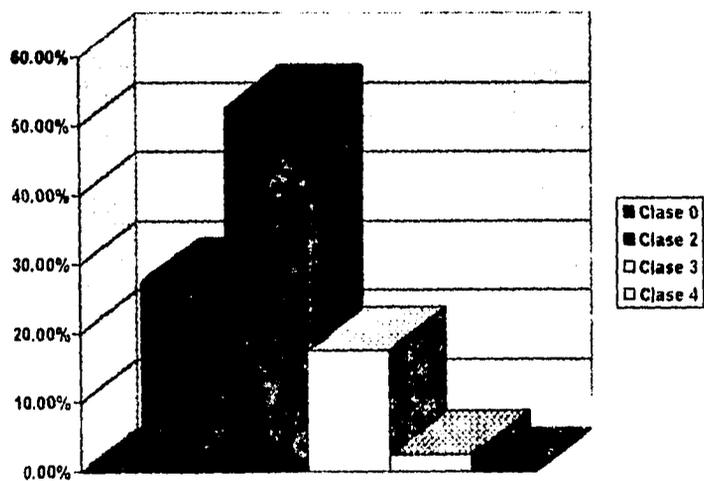


Tabla 1-5

<i>Niveles de IgE Específica</i>	<i>R.A.</i>	<i>R.A./ABE</i>
<i>Clase 0</i>	9	2
<i>Clase 2</i>	10	11
<i>Clase 3</i>	3	4
<i>Clase 4</i>	1	0

Gpo. I IgE Específica en suero vs No. de Pacientes con Diagnóstico



Resultados del Grupo II: Pruebas cutáneas positivas a aeroalergenos y negativas a cucaracha. N= 40 pacientes: 19 masculinos (47.5%) y 21 femeninos (52.5%)-22 con RA (55%), 14 con RA/ABE (35%) y 4 con ABE (10%) (Tabla II-1).

Tabla II-1

Diagnóstico	No. Pacientes	Porcentaje (%)
R.A.	22	55
RA/ABE	14	35
ABE	4	10
Total	40	100

De los pacientes incluidos en este grupo, el 50% presentó niveles bajos de IgE específica (Clase 0), seguido del 42.5% que presentó niveles moderados (Clase 2) y sólo un 5% presentó niveles altos (Clase 3) (Tabla II-3). Al igual que el grupo I., tampoco hubo una diferencia significativa entre los diagnósticos individuales con los niveles de IgE específica (Tabla II-4).

Tabla II-2

No.	Edad	Sexo	Diagnóstico	IgE T UI/ml	IgE esp.	Pba. Cut.
1	3	M	RA/ABE	460	2	Negativa
2	9	M	RA/ABE	598	2	Negativa
3	8	M	RA	598	3	Negativa
4	48	M	ABE	373	2	Negativa
5	11	M	RA/ABE	701	2	Negativa
6	5	F	RA/ABE	75	2	Negativa
7	58	F	RA/ABE	75	2	Negativa
8	2	F	RA	32	2	Negativa
9	32	F	RA	30	2	Negativa
10	11	F	RA	100	3	Negativa
11	16	F	RA	103	2	Negativa
12	49	F	RA	56	2	Negativa
13	14	M	RA	77	2	Negativa
14	29	F	RA	38	2	Negativa
15	41	M	RA	243	2	Negativa
16	9	M	RA	31	2	Negativa
17	30	M	RA/ABE	123	2	Negativa
18	12	M	RA/ABE	275	4	Negativa
19	53	F	ABE	44	0	Negativa
20	13	M	RA/ABE	120	2	Negativa
21	7	M	RA	15	0	Negativa
22	2	F	RA/ABE	140	0	Negativa
23	38	M	ABE	5	0	Negativa
24	42	F	RA	28	0	Negativa
25	20	M	RA	220	0	Negativa
26	8	M	RA/ABE	100	0	Negativa
27	48	M	RA/ABE	420	0	Negativa
28	8	F	RA	160	0	Negativa
29	19	F	RA/ABE	460	0	Negativa
30	10	M	RA	5	0	Negativa
31	5	F	RA	119	0	Negativa
32	48	F	RA	160	0	Negativa
33	56	F	RA/ABE	100	0	Negativa
34	13	F	RA	132	0	Negativa
35	5	F	RA/ABE	120	0	Negativa
36	30	M	RA	25	0	Negativa
37	6	F	ABE	58	0	Negativa
38	46	F	RA	100	2	Negativa
39	18	F	RA	500	0	Negativa
40	7	M	RA	55	0	Negativa

Tabla II-3

<i>Niveles de IgE Especifica</i>	<i>Porcentaje de Pacientes (%)</i>
CLASE 0	50
CLASE 2	42.5
CLASE 3	5
CLASE 4	2.5

Gpo. 2 Porcentaje de Pacientes vs IgE Especifica

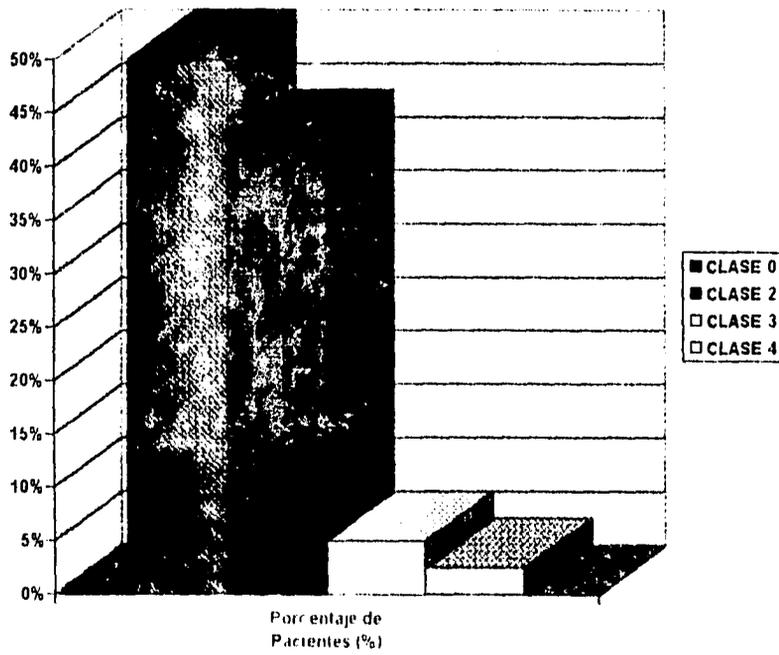
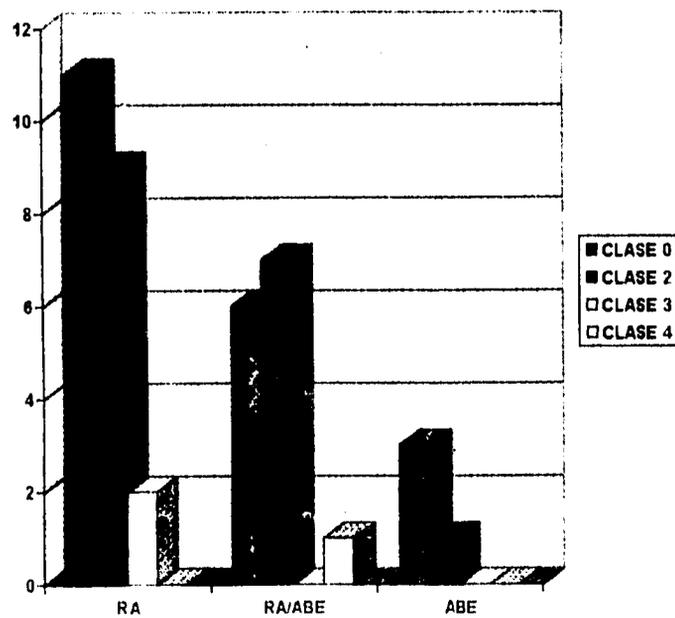


Tabla II-4

<i>IgE Específica</i>	<i>RA</i>	<i>RA/ABE</i>	<i>ABE</i>
<i>CLASE 0</i>	11	6	3
<i>CLASE 2</i>	9	7	1
<i>CLASE 3</i>	2	0	0
<i>CLASE 4</i>	0	1	0

Gpo. 2 Niveles de IgE Específica en suero vs Diagnóstico



Resultados del Grupo 3: N= 40 personas sanas con pruebas cutáneas negativas.

Tabla III-1

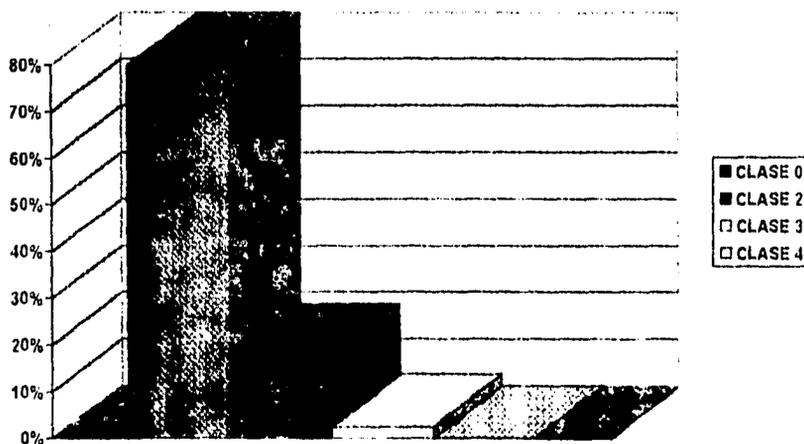
No.	Edad	Sexo	Diagnóstico	IgE Total	IgE esp.	Pba.Cut.
1	25	F	Sano	26	0	Negativo
2	24	F	Sano	31	0	Negativo
3	25	M	Sano	32	0	Negativo
4	29	F	Sano	85	0	Negativo
5	30	M	Sano	25	2	Negativo
6	25	F	Sano	292	0	Negativo
7	20	M	Sano	173	0	Negativo
8	19	M	Sano	29	2	Negativo
9	19	M	Sano	58	0	Negativo
10	17	M	Sano	44	0	Negativo
11	23	F	Sano	30	0	Negativo
12	39	F	Sano	57	0	Negativo
13	25	M	Sano	65	2	Negativo
14	26	M	Sano	40	0	Negativo
15	26	F	Sano	38	2	Negativo
16	41	F	Sano	63	2	Negativo
17	17	F	Sano	29	2	Negativo
18	20	F	Sano	135	2	Negativo
19	23	F	Sano	71	0	Negativo
20	17	M	Sano	30	0	Negativo
21	24	F	Sano	15	0	Negativo
22	35	F	Sano	61	0	Negativo
23	48	M	Sano	144	0	Negativo
24	52	M	Sano	85	0	Negativo
25	70	M	Sano	50	0	Negativo
26	22	M	Sano	35	0	Negativo
27	32	M	Sano	21	0	Negativo
28	20	F	Sano	50	0	Negativo
29	32	M	Sano	150	0	Negativo
30	25	F	Sano	70	0	Negativo
31	28	F	Sano	21	0	Negativo
32	31	F	Sano	49	0	Negativo
33	29	M	Sano	31	0	Negativo
34	25	F	Sano	3	0	Negativo
35	35	M	Sano	26	0	Negativo
36	24	F	Sano	4	0	Negativo
37	24	F	Sano	3	0	Negativo
38	39	M	Sano	9	0	Negativo
39	18	F	Sano	114	0	Negativo
40	19	M	Sano	38	3	Negativo

Con lo que respecta al grupo control, el 80% de los individuos presentó niveles bajos de IgE alérgeno-específica (Clase 0) y el 17.5% niveles moderados (Tabla III-2).

Tabla III-2

Niveles de IgE específica	Porcentaje de pacientes (%)
CLASE 0	80
CLASE 2	17.5
CLASE 3	2.5
CLASE 4	0

Porcentaje de Pacientes del Gpo.control vs IgE Específica en suero



ANALISIS DE RESULTADOS

*En estudios previos sobre alergia a la cucaracha^{47,48,49,50,51,52,53}, se demostró que el excremento, así como el detritus del cuerpo completo de este insecto, son fuente muy importante de neuroalergenos. En la Cd. de México, es el insecto que infesta más, interiores de almacenes y casas habitación, aunado a que en estudios clínicos hechos en nuestro país, han demostrado que existen pacientes con RA y/o ABE con respuesta cutánea de roncha y eritema frente al extracto antigénico de cucaracha^{37,54}. Consideramos que es de urgente necesidad clínica el valorar las pruebas *in vivo* e *in vitro* que sirvan para asegurar su diagnóstico.*

En este protocolo valoramos 80 pacientes alérgicos y 40 sujetos sanos como control negativo.

En el grupo I, se diagnosticó clínicamente el 57.5% (23 pacientes) con RA y el 42.5% (17 pacientes) con ABE (Tabla I-1). Todos estos pacientes tenían prueba cutánea caracterizada por roncha/eritema con más de 10 mm a los 15', por lo que aseguramos que presentaban anticuerpos IgE-específica vs cucaracha (Tabla I-2 y I-3).

Los resultados en la cuantificación de la IgE sérica contra cucaracha nos muestran que el 72.5% de los pacientes con prueba cutánea positiva al antígeno de cucaracha, presentó niveles de IgE específica en circulación (Tabla I-4). La mayor parte de estos pacientes manifestaron IgE específica de clases 2 y 3 (es decir, niveles de moderado a alto), lo que sugiere que estas 2 clases podrían ser de apoyo en el diagnóstico de alergia respiratoria a la

cucaracha; desde luego con manifestaciones clínicas bien definidas de enfermedad alérgica.

Con respecto a la relación de IgE específica con enfermedad alérgica, no existe correlación estadísticamente significativa. (Tabla I-5).

En el grupo II, la RA continúa predominando sobre el ABE (Tabla II-1).

El diagnóstico de estas enfermedades estuvieron confirmadas por la presencia de IgE específica *in vivo*, a través de pruebas cutáneas positivas de 3+ y 4+ para otros alérgenos diferentes a la cucaracha (Tabla II-2). Sin embargo, las concentraciones de IgE específica contra cucaracha estuvieron presentes en el 50% de estos pacientes siendo sus niveles de clase 2 y 3 (Tabla II-3); lo que sugiere que probablemente estos pacientes alérgicos a otros aeroalérgenos estén en etapa de sensibilización inicial para los alérgenos de cucaracha.

Podríamos pensar que la presencia de este anticuerpo *in vitro* es un marcador predictivo en pacientes atópicos que podrían dar una prueba cutánea positiva con antígeno de cucaracha algunos meses después. O sea que, estos pacientes se vuelvan alérgicos a este insecto. Quedaría por resolver a qué tiempo estos pacientes montan una respuesta cutánea positiva a este antígeno.

En el tercer grupo, los sujetos incluidos no presentaban manifestación alguna de enfermedad alérgica respiratoria, confirmándose también la ausencia de respuesta cutánea con el antígeno de cucaracha (Tabla III-1). Sin embargo, el 20% tuvieron presencia de IgE específica anti-cucaracha. Claro

que en el 80% no se detectó este anticuerpo (Tabla III-2). Puede ser, para este caso en especial, que estos individuos no tengan ese factor "X" de predisposición que precipita las manifestaciones clínicas de enfermedad alérgica.

Comparando las concentraciones de IgE específica entre los 3 grupos valorados, encontramos diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2_m = 24.67$); notando que en el grupo I de pacientes, la mayoría tiene IgE específica sérica de concentraciones moderadas a altas, en tanto que en el grupo II, estas concentraciones se ven disminuidas, mientras que en el grupo III prácticamente desaparecen.

A pesar de que la especificidad y sensibilidad de la IgE específica en suero para antígeno de cucaracha no es del 100% (Sensibilidad 52% y Especificidad 80%), en algunos pacientes con prueba cutánea negativa, donde los valores por clases caen desde II hasta III o IV, podrían servir como una guía diagnóstica, así como en pacientes con D.A., dermatosis generalizadas y urticarias, a los que no se les puede aplicar pruebas cutáneas.

Será necesario, en estudios posteriores, probar la sensibilización con *P. americana* (cucaracha americana), por ser el aeroalergeno de insecto más frecuente en América.

Por último, no consideramos adecuado tomar a la IgE total como un patrón de seguimiento de alergia respiratoria, ya que niveles bajos no descartan enfermedad alérgica³⁵.

CONCLUSIONES

- 1. La cuantificación de IgE sérica específica para alergeno de cucaracha, *B. germanica* (por ELISA), presenta una sensibilidad del 52.5% y una especificidad del 80% en pacientes con RA y/o ABE.**
- 2. Existe correlación estadísticamente significativa, ($\chi^2_m = 24.67$) de la IgE específica *in vivo* con respecto a la IgE *in vitro* abarcando niveles clase 2 y 3, en pacientes con una prueba positiva al antígeno de cucaracha comparado con pacientes alérgicos a otros aeroalergenos y no alérgicos.**
- 3. Se confirma que los alérgenos de cucaracha están sensibilizando cada vez más a un mayor número de pacientes atópicos mexicanos.**

APENDICE

MATERIAL:

1. *Micropipetas de 50, 100 y 200 μ l.*
2. *Puntas para micropipetas.*
3. *Tubos de ensayo*

EQUIPO

1. *Bomba de vacío.*
2. *Espectrofotómetro LP 300 Cat. No. 85320.*
3. *Lavador de microplacas LP 40 Cat. No. 85775.*
4. *Incubadora IPS Cat. No. 85120*
5. *Espectrofotómetro Status E-100 Cat. No.986.*

REACTIVOS

1. *Equipo para la determinación de IgE total en microplaca Kallestad Diagnostics.*
2. *Equipo para la determinación de IgE específica Kallestad Diagnostics Enzyme Rast.*

IgE total:

1. *Añadir 20 μ l de estándar de calibración cero en los pocillos cero.*
2. *Añadir 20 μ l de estándar de calibración A-F a los pocillos adecuados.*
3. *Añadir 20 μ l de suero de cada uno de los pacientes.*
4. *Añadir 20 μ l de solución de anticuerpos IgG (anti-IgE) a todos los pocillos.*
5. *Incubar por una hora a 37 °C.*
6. *Lavar 5 veces con NaCl al 0.9%.*
7. *Agregar 100 μ l de IgG de equipo anti-IgE conjugado con fosfatasa alcalina.*
8. *Incubar por 30 minutos a 37 °C.*
9. *Lavar 5 veces con NaCl al 0.9%.*
10. *Agregar 100 μ l de sustrato (paranitrofenil-fosfato).*
11. *Incubar a temperatura ambiente por 30 minutos.*
12. *Agregar 100 μ l de solución de paro (fosfato de potasio tri-básico pH=12).*
13. *Leer a 405 nm.*

IgE específica (Método del doble anticuerpo)

1. ***Marcar 2 tubos para los blancos.***
2. ***Marcar 8 tubos por duplicado de A-D para la curva de calibración.***
3. ***Colocar los discos de referencia en los tubos correspondientes.***
4. ***Colocar los discos de los aeroalergenos.***
5. ***Añadir 100 μ l de la solución de referencia en los tubos de la A-D.***
6. ***Añadir 100 μ l del suero de los pacientes en cada tubo.***
7. ***Incubar a 37 °C durante una hora.***
8. ***Lavar 3 veces con NaCl al 0.9%.***
9. ***Añadir 100 μ l de la enzima (fosfatasa alcalina) a todos los tubos, excepto los blancos.***
10. ***Incubar a 37 °C durante una hora.***
11. ***Lavar 3 veces con NaCl al 0.9%.***
12. ***Añadir 100 μ l de sustrato (paranitrofenil-fosfato) a todos los tubos.***
13. ***Incubar a 37 °C durante una hora con treinta minutos.***
14. ***Añadir 1000 μ l de solución de paro (fosfato de potasio tri-básico pH=12).***
15. ***Leer a 405 nm.***

Bibliografía

1. **Bernton, HS., Brown H. (1970): Cockroach allergy: age of onset of skin reactivity. *Ann Allergy*. 28: 420-22.**
2. **Estelle, F., Simons, R. *Ancestors of Allergy*. 2nd. Ed. 1994 Global Medical Communication Ltd, Publishers. N.Y., N.Y., USA.**
3. **Roitt, I., Brostoff, J., Male, D. *Inmunología*. 2a. Ed. Salvat Editores. México, D.F. *Hipersensibilidad Tipo I*, In:19.1**
4. **Stites, DP.: *Inmunología Básica y Clínica*. 5a Ed. Edit. *Manual Moderno*. México, D.F.**
5. **Tang, RB., Wu,Ko Kang. (1989): Total serum IgE, allergy skin testing, and the radioallergosorbent test for the diagnosis of allergy in asthmatic children. *Ann of Allergy*.62:432-34.**
6. **Sato,K., Nakazawa, T. (1992): Age-related changes in specific IgE antibody production. *Ann of Allergy*.68:520-24.**
7. **Perman, F. (1958): Insects as inhalant allergens. *J Allergy*. 29:302-28.**
8. **Lawlor, GJ., Fischer, TJ. *Manual of Allergy and Immunology. Diagnosis and Therapy*. 2a. Ed. 1988. Little, Brown and Company. Boston/Toronto.**
9. **Hicks, JJ., Díaz, JC. (1988): *Bioquímica e Inmunología*. Vol II. Edit. *Facultad Medicina UNAM*. México., D.F. *Moléculas mediadoras de la respuesta inmune celular*. In:494.**
10. **Chapel, H., Haeney, Mensen. (1992): *Inmunología Clínica*. Edit. *El Manual Moderno*. México, D.F.**

11. Shulman, Sidney., Langlois, C., Arbesman, CE.(1964): *The allergic response to stinging insects. J.Allergy. 35 (5):446-63.*
12. Kang, B. (1976): *Study on cockroach antigen as a probably causative agent in bronchial asthma. J Allergy Clin Immunol. 58(3):357-65.*
13. kang, B., Vellody, D., Homburger, H., Yunginger, JW. (1979): *Cockroach cause of allergic asthma. J Allergy Clin Immunol. 63 (2): 80-86.*
14. Lan, JL., Lee, DT., Wu, C-H., Chang, C-P, Yeh, C-L. (1988): *Cockroach hypersensitivity: preliminary study of allergic cockroach asthma in Taiwan. J Allergy Clin Immunol. 82: 736-40.*
15. Moscato, G., Meriggi, A., Brale C., Colli G., et al. (1994): *Cockroach sensitization in patients with symptoms of perennial asthma in Northern Italy. Allergy Clin Immunol News. [Abstracts]. '94: S 2-357.*
16. Platts-Mills, T. (1994): *Dose - Response relationships between asthma and exposure to indoor allergens. Allergy Clin Immunol News. (Abstracts). (3). 90-96.*
17. Slunt, JB.,Hayden, M., Chapman,MD., et al. (1994): *Humoral and cellular immune response to cockroach and cat allergens in patients with asthma. J. Allergy Clin Immunol.[Abstracts]. 93(1): 288.*
18. Perlman, F. (1961): *Insect allergens: Their interrelationship and differences. J. Allergy. 32:93-101.*
19. Mendoza, J. Snyder FD. (1970): *Cockroach sensitivity in children with bronchial asthma. Ann Allergy. 28:159-63.*
20. Schou, C., Fernández-Caldas, E., Lockey RF, Lowestein M. (1991): *Environmental assay for cockroach allergens. J Allergy Clin Immunol. 87 (4):828-34.*

21. Fletcher, SA., Reece, ER. (1994): Reactivity to cockroach and other allergens in an inner city population with rhinitis and asthma. *J. Allergy Clin Immunol. [Abstracts]*. 93(1): 174.
22. Gaudin, LB., Lehrer, SB., Horner, WE, López M. (1993): Bronchoprovocation studies with German cockroach (*Blatella germanica*) fecal extracts in atopic asthmatics. *J Allergy Clin Immunol.* 93(1):869.
23. Lehrer, S., Horner, WE., Stankus RP. (1991): Comparison of cockroach allergenic activity in whole body and fecal extracts. *J Allergy Clin Immunol.* 87(2):574-80.
24. Menon, P., Menon V, Hillman B, Stankus R., et al. (1989): American (*P. americana*) and German (*B.germanica*) cockroach skin test reactivity in atopic asthmatics [Abstract]. *J Allergy Clin. Immunol.* 83 (1):265.
25. Stankus, RP., O'Neil, C. (1988): Antigenic/allergenic characterization of American and German cockroach extracts. *J.Allergy Clin Immunol.* 81:563-70.
26. Steinberg, DR., Bernstein DI, Gallagher JS, Arlian L., et al. (1987): Cockroach sensitization in laboratory workers. *J Allergy Clin Immunol.* 80:586-90.
27. Zwick, H., Popp W.,Kaspar S, Rauscher H, Wanke T. (1991): Allergenic Structures in cockroach hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 87(3):626-30.
28. Twarog, FJ., Picone, FJ., Strunk RS, So J, Colten HR. (1977): Immediate hypersensitivity to cockroach. *J. Allergy Clin Immunol.* 59(2):154-60.

29. Helm, RM., Connaughton, CA., Brenner BJ, et al. (1993): Isolation of cockroach allergens using preparative SDS-PAGE gel Electrophoresis. *J Allergy Clin Immunol.* 91(1):187.
30. Wu, Chii-Huei., Lan, J-L. (1988): Cockroach hypersensitivity: isolation and partial characterization of major allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 82(5):727-35.
31. UY, CG., Young, RC, Chehreh, MN., Scott, RB. (1973): Bronchial challenge studies with cockroach antigen in asthmatic children. *Ann Allergy.* 31:407-12.
32. Horner, WE., Reese, G., Musmand, J., Lehrer, SB. (1993): Analysis of high molecular weight cockroach allergen isolation by preparative SDS-Page. *J. Allergy Clin Immunol. [Abstracts].* 93(1):868.
33. Blay, F., Sanchez, J., Chapman M, Pérez Infante A, et al. (1994): Airborne concentration and particle size distribution of allergens derived from cockroach (Blattella germanica): Bla g I and Bla g II. *Allergy Clin Immunol News. [Abstracts].* 92:S-28.
34. Pollart, SM., Mullins, DE., Morris, EC., Gelber, LE., et al. (1991): Identification, quantification, and purification of cockroach allergens using monoclonal antibodies. *J Allergy Clin Immunol.* 87(2):511-21.
35. Arruda, LK., Vailes, LD., (1993): Molecular cloning of cockroach (B. germanica) allergens. [Abstracts]. *J. Allergy Clin Immunol.* 91(1):188.
36. Vailes, L., Glime T, Pollart SM, Chapman M.. (1990): Cockroach washes - a potent source of asthma associated allergens. [Abstract]. *J Allergy Clin Immunol.* 85 (1):171.

37. García Caballero, R., Lapizco, M. Carrete JF, López G. (1994): Cockroach and respiratory allergy in mexican children. *Allergy Clin Immunol News. [Abstracts]. S:(2)-426.*
38. Morris, EC., Smith, TF., Kelly, LB. (1986): Cockroach is a significant allergen for inner city children.[Abstracts]. *J Allergy Clin Immunol.77(1):206*
39. Helm, RM., Squillace, DL.. (1988): Cross-reactivity of cockroach (CR) allergens: Rast inhibition and immunoblot analysis of asian cockroach (ACR) (Blattella asahinai) and german cockroach (GCR) (Blattella germanica) extracts. [Abstracts]. *J Allergy Clin Immunol. 81:269.*
40. Lind, P. Schou, C., Lowestein H., Lockey RF.. (1988): Characterization of cockroach extracts and purification of a cross-reacting, acidic allergen.[Abstracts]. *J. Allergy Clin Immunol.81 (1):269.*
41. Schou, C. Lind, P., Fernández-Caldas E, Lockey RF., et al. (1990): Identification and purification of an important cross-reactive allergen from American (Periplaneta americana) and German (Blattella germanica) cockroach. *J Allergy Clin Immunol. 86:935-46.*
42. Birnbaum, J., Lanner A. (1993): Association of allergy to cockroach and other indoor allergens. *J Allergy Clin Immunol. [Abstracts].S:870.*
43. Eriksson, NE. (1994): Concomitant sensitisation to insect allergens (Chironomids and cockroaches), house dust mites and crustaceans. A multicentre study. *Allergy Clin Immunol News. [Abstracts]. 93:S-27.*

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

44. kang, B., Sulit, N. (1978): A comparative study of prevalence of skin hypersensitivity to cockroach and house dust antigens. *Ann Allergy*. 41:333-36.
45. kang, B., Chang, JL., Johnson, J. (1989): Characterization and partial purification of the cockroach antigen in relation to house dust and house dust mite (*D.f.*) antigens. *Ann Allergy*. 63:207-12.
46. Kordash, TR., Amend, MJ., Williamson, SL., Jones Jk., Plunkett, GA.. (1993): Effect of mixing allergenic extracts containing *Helminthosporium*, *D. farinae*, and cockroach with perennial ryegrass. *Ann Allergy*. 71:240-46.
47. Fernández, AM., Patiño CM. (1994): Skin test versus RAST to cockroach allergens. *J Allergy Clin Immunol (Abstracts)* 93(1):173.
48. Fromer, JM, Anderson, JA, Yanari S, Bailey JA. (1980): Cockroach sensitivity among children: exposure history, skin test, and IgE radioallergosorbent test reactivity. *J Allergy Clin Immunol*. 65:203
49. Pollart, SM., Smith, TF. (1991): Environmental exposure to cockroach allergens: analysis with monoclonal antibody-based enzyme immunoassays. *J. Allergy Clin Immunol*. 87(2):505-10.
50. Porretta, EA, O'Neil, CE., Stankus, RP. (1986): Important sources of cockroach allergens in atopic disease. [Abstracts]. *J Allergy Clin Immunol*. 77(1):206.
51. Richman, P.G., Khan HA, Turkeltaub PC, Malveaux FJ, Baer H. (1984): The important sources of German cockroach allergens as determined by RAST analyses. *J Allergy Clin Immunol*. 73 (5):590-5.
52. Salazar, MM. (1958): *La alergia en la teoría y en la práctica*. Ed. Francisco Méndez Oteo. México, D.F.

53. Sarpong, SB., Wood, RA., Eggleston, PA. (1993): *Cockroach (CR) allergen (BLA G II)- Environmental control with extermination and cleaning. J Allergy Clin Immunol. 93(1):179.*
54. Seltzer, JM., Halpern, GM., Tsay, Y-G. (1985): *Correlation of Allergy test results obtained by IgE FAST, RAST and Prick-Puncture methods. Ann Allergy. 54:25-30.*