



Evaluación de la eficacia de un extracto alergénico de soja para el diagnóstico de hipersensibilidad inmediata

Ilgermys Figueroa-García,* Ilonka Maria Estruch-Fajardo,* Aléxis Labrada-Rosado,** Marilys León-Rivero***

RESUMEN

Antecedentes: la alergia a la soja tiende a incrementarse por ser fuente básica de alimentación en países subdesarrollados y de amplio uso industrial, lo que demanda la disponibilidad de extractos alergénicos con adecuada exactitud diagnóstica, seguros y económicos para pruebas cutáneas.

Objetivo: evaluar la exactitud y seguridad diagnóstica de un extracto cubano de soja para diagnóstico por punción de alergia alimentaria.

Método: estudio prospectivo y observacional efectuado en una muestra de 60 individuos; 30 con diagnóstico clínico de alergia a la soja que acudieron, de enero a julio de 2007, a la consulta externa de Alergia del Hospital CQ Hermanos Ameijeiras y 30 controles del Banco de Sangre del mismo hospital. A los dos grupos se les hicieron pruebas cutáneas por punción (*prick*) con extractos de cáscara y grano de soja (a concentraciones de 0.1 mg/mL y 1 mg/mL) elaborados por la Planta de Alergenos del Centro Nacional de Biopreparados de la Habana, Cuba.

Resultados: en las pruebas cutáneas los extractos de grano y cáscara de soja con la mayor concentración tuvieron mayor sensibilidad (60 y 40%, respectivamente) que a menor concentración (20 y 3%). La especificidad fue de 100% para todos los extractos. La eficacia fue mayor con la concentración más alta del extracto (80 y 70%, respectivamente) que con la menor (60 y 50%). A mayor concentración los valores predictivos positivos fueron: 1.67 y 2.31%, respectivamente, y a menor concentración de 6 y 30%. El valor predictivo negativo para todos los extractos fue de 1.

Conclusión: el extracto del grano de soja a la mayor concentración tiene exactitud diagnóstica y es seguro en las pruebas cutáneas de pacientes con alergia alimentaria.

Palabras clave: pruebas cutáneas, alergia alimentaria, extracto alergénico, soja.

ABSTRACT

Background: Allergy to soybean has an increasing tendency due to the high consumption of soybean as a basic food resource available in poor countries, and also for being so widely used for commercial purposes. This fact demands the development of safer and cheaper allergenic extracts for skin prick tests, with better diagnostic accuracy.

Objective: To evaluate the safety and diagnostic accuracy of a soybean's extract for skin prick test to diagnose food allergy.

Methods: In this observational and prospective research 60 individuals were studied, 30 of them with the clinical diagnosis of soybean's allergy and 30 controls. Skin prick tests were performed with both, shell and soybean grain extracts (0.1mg/mL and 1mg/mL), and specificity, sensitivity and accuracy were calculated.

Results: Sixty percent of all patients with soybean allergy showed a positive result to soybean grain extract. On the other hand, the patients in the control group had all negative results for both allergen extract concentrations ($p < 0.05$). All extracts' dilutions have 100% specificity. We observed that the soybean grain extract at 1 mg/mL was sensitive in 60%, specific in 100% and effective in 80% for soybean allergy diagnosis.

Conclusions: The soybean grain extract has both safety and diagnostic accuracy for the diagnosis of food allergy to soybean at the higher concentration.

Key words: skin prick test, food allergy, allergenic extract, soybean.

Las leguminosas son una fuente barata de proteínas que se cultivan prácticamente en todo el mundo y son base de alimentación en muchos países en vías de desarrollo. En particular, el cultivo y consumo de soya ha experimentado un crecimiento exponencial en los últimos años, motivado fundamentalmente por su elevada calidad nutricional.¹

La creciente importancia que ha tomado el cultivo de soya en las últimas décadas ha condicionado que mayor número de individuos estén expuestos a antígenos derivados de su cáscara, haciendo que el riesgo de sensibilización y síntomas en personas atópicas sea mayor.^{2,3}

La alergia alimentaria se ha incrementado en las últimas décadas, y actualmente es tan común como la respiratoria. La prevalencia de la alergia alimentaria alcanza 8% en niños y 3% en adultos en los países industrializados.⁴⁻⁷

La incidencia de alergia a la soya en adultos no está debidamente estudiada. Se ha observado que el número de individuos diagnosticados se incrementa continuamente, debido, sobre todo, al consumo cada vez más extendido de derivados de la soya en la elaboración de alimentos.⁶

Aunque la prueba de provocación a doble ciego constituya el perfil de referencia, la prueba cutánea de punción es una herramienta importante para el diagnóstico de la alergia a alimentos, por su alta especificidad. Los extractos de alérgenos de alimentos estandarizados son costosos y los no estandarizados pueden conducir a una gran variabilidad en la exactitud de las pruebas cutáneas.¹⁰⁻¹⁴

* Servicio de Alergología, Hospital CQ Hermanos Ameijeiras. La Habana, Cuba.

** Centro Nacional de Biopreparados. Departamento de Alergenos, Mayabeque, Cuba.

*** Policlínico docente Santa Cruz del Norte. Mayabeque, Cuba.

Correspondencia: Iglermys Figuerola García: iglermis@infomed.sld.cu

Recibido: diciembre 21 2011. Aceptado: marzo 2012.
Los autores declaran no tener conflicto de intereses en este artículo.

Este artículo debe citarse como: Figuerola-García I, Estruch-Fajardo IM, Labrada-Rosado A, León-Rivero M. Evaluación de la eficacia de un extracto alérgico de soya para el diagnóstico de hipersensibilidad inmediata. Revista Alergia México 2012;59(2):47-55.

La necesidad de contar con extractos alérgicos eficaces, seguros y económicos es el objetivo de este trabajo para contribuir al diagnóstico de la alergia alimentaria a la soya.

MÉTODO

Estudio prospectivo y observacional efectuado en una muestra de 60 individuos; 30 con diagnóstico clínico de alergia a la soya que acudieron, de enero a julio de 2007, a la consulta externa de Alergia del Hospital CQ Hermanos Ameijeiras y 30 controles del Banco de Sangre del mismo hospital que acudieron a donar sangre.

Los pacientes alérgicos se asignaron al grupo A y los sanos al grupo B o control.

Se incluyeron pacientes entre 15 y 55 años de edad de uno y otro sexo y se excluyeron quienes tenían síntomas en el momento de realizar la prueba o lesiones de la piel, alteraciones psicológicas importantes, tratamiento modulador de la inmunidad seis meses previos a la investigación y contraindicaciones relativas al tratamiento con epinefrina, y las pacientes embarazadas.

Descripción del proceso de producción: se realizó a partir de harina de soya para consumo humano. Mediante la extracción se garantiza que los componentes solubles contenidos en la materia prima, incluidas las proteínas alérgicas, queden disueltos en el tampón utilizado. Este proceso debe garantizar la minimización de la degradación de las proteínas alérgicas extraídas y la contaminación microbiana, para esto el proceso se efectúa a bajas temperaturas (4-8 °C).

Se tomaron 100 g de MPA y se agregaron 2 L de tampón fosfato salino PBS (tampón fosfato 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.5).

Al finalizar el proceso de extracción se colectó el sobrenadante en un frasco. Enseguida se centrifugó y eliminaron los componentes insolubles, a 4000 rpm, durante 60 minutos. El sobrenadante se tomó de la centrifugación y se filtró por un sistema de filtración Sartorius por cápsulas de 0.8 µm de diámetro de poro, a presión de 2 bar. Al concluir este paso se colectó en un nuevo frasco el extracto clarificado.

En el proceso de filtración-concentración se emplea un sistema Amicon CH2, con capacidad para 2 L, con cartucho de fibra hueca de diámetro de corte 10,000 Da.

Este proceso sirve para remover los componentes de bajo peso molecular que pueden causar reacciones irritantes o tóxicas en los pacientes y afectar la estabilidad del extracto diluido.

Primero, el producto se sometió a una concentración inicial hasta obtener 500 mL. Enseguida se realizó la filtración, con solución de PBS 2.5 L (proporción 1:5). Por último, se concentró nuevamente hasta 250 mL.

En la etapa de filtración esterilizante se alcanza la esterilidad del producto de acuerdo con las buenas prácticas de manufactura. Para ello se empleó un sistema de filtración Sartorius por cápsula de 0.2 µm de diámetro de poro y bajo flujo laminar, según el procedimiento establecido. Para esta etapa se dispone de un local donde se garantizan las condiciones asépticas. El producto estéril concentrado constituye el ingrediente farmacéutico activo. Se tomó una muestra del mismo y se le determinó el contenido de proteínas totales por el método de Lowry.

Al producto destinado a pruebas cutáneas se le agregó glicerol a una concentración final de 50%. Primero, se prepara en condiciones asépticas, bajo flujo laminar, agregando solución tampón al ingrediente farmacéutico activo hasta una concentración final de 2 mg/mL. Enseguida se adiciona igual volumen de glicerol, previamente esterilizado en autoclave, hasta una concentración final de 1 mg/mL de proteínas y 50% de glicerol. Se realizó el llenado aséptico en bulbos 6R a 5 mL/bulbo.

Una parte del ingrediente farmacéutico activo se aisló y deshidrató en una liofilizadora USIFROID SMH-100 de PPP1 para conformar una referencia interna, necesaria para la estandarización del producto. Con ese fin se realizó una formulación aséptica con la adición al ingrediente farmacéutico activo de solución tampón salina-fosfato de sodio hasta una concentración de proteínas de 2.5 mg/mL. Se dispensaron en condiciones asépticas 2 mL por bulbo 6R y se liofilizaron siguiendo un método estándar empleado para otros extractos alergénicos.

El producto se sometió a la prueba de esterilidad, organoléptica y pH. Las muestras del liofilizado se sometieron a la prueba de humedad residual mediante el método de Kart Fischer.

Estandarización del extracto

° Métodos analíticos:

- Contenido de proteínas por el método de Lowry
- Composición de proteínas: SDS-PAGE; IEF
- Perfil alergénico: Inmunoblotting IgE
- Actividad alergénica: ELISA, inhibición IgE

° Validación de métodos analíticos

- Selección de sueros de pacientes para métodos basados en IgE

Estandarización del lote de investigación mediante métodos *in vitro* con respecto a una referencia interna.

Método de Lowry

La concentración de proteínas se determinó por el método de Lowry. El ensayo se realizó en una microplaca. En cada pocillo se depositaron 100 µL de las muestras diluidas y 200 µL del reactivo (solución de tartrato de sodio y potasio al 2%, sulfato de cobre 1%, hidróxido de sodio 0.1 mol/L, carbonato de sodio 2%). Enseguida, se incubó durante 10 minutos; después se añadieron 20 µL del reactivo de Folin y se incubaron por espacio de 30 minutos a temperatura ambiente. La intensidad del color de la reacción se determinó en un lector de placas Multiskan a 620 nm. Se empleó un patrón de seroalbúmina bovina.

SDS-PAGE

La composición de proteínas se analizó mediante electroforesis, según el método de Laemmli, con un sistema tampón discontinuo, en geles de poliacrilamida y en duodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE). Se usó una minicámara Mighty-Small II (Sigma) y un patrón de proteínas de peso molecular entre 14 y 94 kDa (Sigma). Las muestras se aplicaron en tampón reductor (β-mercaptoetanol) y no reductor, después de un calentamiento previo durante cinco minutos a 100 °C. La corrida electroforética se realizó en un gel al 12.5%, a voltaje abierto y 20 mA/gel en una fuente de corriente Pharmacia LKB-EPS 500/400. Para visualizar las bandas de proteínas en el gel se utilizó tinción con azul de Coomassie R-250.

Immunoblotting

Para la identificación de las proteínas fijadoras de IgE se empleó IgE inmunoblotting. Se realizó una

electroforesis (SDS- PAGE), como fue descrito. Las proteínas se transfirieron del gel a una membrana de nitrocelulosa de 0.45 µm durante dos horas mediante un equipo de transferencia semiseca (Pharmacia). Enseguida se realizó el bloqueo de los sitios inespecíficos de la membrana con PBS-T - BSA 1%, durante 1 hora, a temperatura ambiente. Luego, la membrana se incubó con los sueros a una dilución de 1:10 durante toda la noche, con agitación lenta a temperatura ambiente. Se lavaron cinco veces con PBS-T 0.1%. Después del lavado se aplicó un anticuerpo monoclonal anti-IgE humana conjugada con fosfatasa alcalina (Sigma), a una dilución 1:250 y se incubaron durante 1 hora a 37°C con agitación lenta y, por último, se hizo el revelado con el sustrato colorimétrico 5- bromo-4-cloro-3-indolil fosfato/NBT (Sigma), hasta la aparición de las bandas. La reacción se detuvo con agua destilada.

Análisis densitométrico

El análisis densitométrico de los geles de SDS-PAGE y de las membranas de Immunoblotting se efectuó en un scanner SHARP-JX330, con ayuda del programa ImageMaster v4.0, Pharmacia. Se determinó el contenido relativo de cada banda (%) y su intensidad (altura de los picos).

Para dar cumplimiento a los objetivos propuestos se estudiaron las variables clínicas: edad, sexo, antecedentes personales y familiares de atopia, manifestaciones clínicas en relación con el tiempo de exposición y en la ficha clínica elaborada para este estudio se registraron, mediante la entrevista preliminar, y variables de laboratorio que incluyeron la prueba cutánea por punción y la IgE sérica total.

Se realizó el cálculo de la sensibilidad y de la especificidad de cada concentración y de la eficacia para identificar cuál clasificaba mejor a los pacientes examinados. Además, para la exactitud diagnóstica se calcularon los valores predictivos positivos y negativos de cada dilución.

Evaluación de la exactitud diagnóstica

Para ello se determinó la sensibilidad, especificidad y eficacia.

Aspectos éticos

Antes de incluirlos al estudio cada paciente otorgó el consentimiento informado por escrito. El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Ética de nuestra institución.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se observa la distribución por sexo en cada grupo de individuos estudiados. En el grupo A se aprecia el predominio del sexo femenino mientras que en el grupo B predominó el masculino. Para una probabilidad de 0.0077 ($p < 0.01$). Existieron diferencias significativas entre ambos grupos.

Tabla 1. Distribución de los pacientes de ambos grupos según sexo

Sexo	Enfermos Grupo A		Sanos Grupo B	
	N	%	N	%
Femenino	17	56,7	7	23,3
Masculino	13	43,3	23	76,7
Total	30	100	30	100
Porcentaje con base en el total de sujetos de cada grupo (n=30)				

En nuestro estudio, en ambos grupos el grupo etario predominante fue el de 36 a 45 años. Lo que estadísticamente no aporta diferencias significativas ($p > 0.05$). (Tabla 2)

La observación de los resultados de las pruebas cutáneas con extracto de soya en grano y cáscara a dos concentraciones en el grupo de pacientes alérgicos a

Tabla 2. Distribución de los pacientes de ambos grupos según edad

Edad	Grupo A		Grupo B	
	n	%	n	%
15-25	1	3,3	3	10
26-35	4	13,3	8	26,7
36-45	17	56,7	13	43,3
46-55	8	26,7	6	20
Total	30	100	30	100
Porcentaje con base en el total de sujetos de cada grupo (n=30)				

dicha leguminosa, muestra que para una concentración de 1 mg/mL se produjo mayor positividad en la prueba cutánea que para la concentración de 0.5 mg/mL ($p < 0.01$), con diferencias significativas. (Tablas 3 y 4)

Tabla 3. Resultados de pruebas cutáneas en el grupo A (alérgicos a soja) con extracto de soja en dos concentraciones

Resultados de pruebas cutáneas del grupo A	Grano de soja			
	0.5 mg/mL		1 mg/mL	
	n	%	n	%
Positivos	5	16.7	18	60
Negativos	25	83.3	12	40

* Porcentaje con base en el total de sujetos de cada grupo (n=30)

Tabla 4. Resultados de las pruebas cutáneas en el grupo A (alérgicos a la soja) con extracto de cáscara de soja en dos concentraciones

Resultados de pruebas cutáneas	Cáscara de soja			
	0.5 mg/ml		1 mg/ml	
	n	%	n	%
Positivos	1	3.3	13	43.3
Negativos	29	96.7	13	56.7

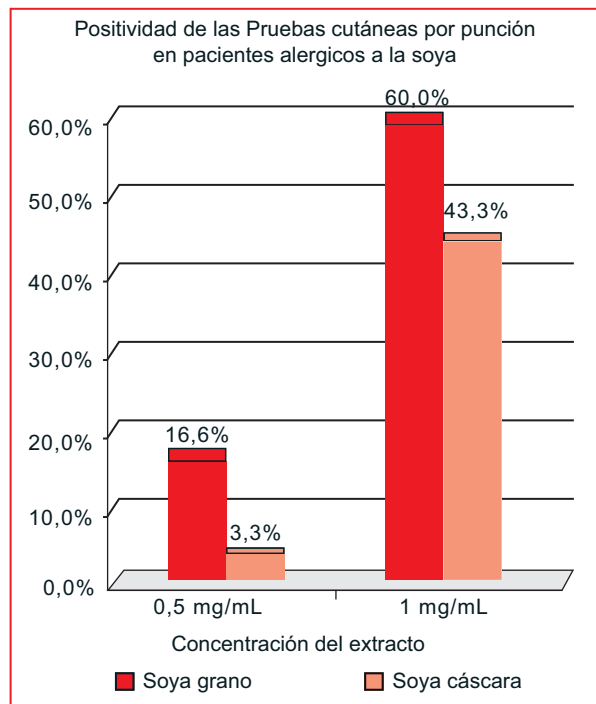
Porcentaje con base en el total de sujetos de cada grupo (n=30)

La Figura 1 expone la diferencia de positividad entre ambos extractos a las dos concentraciones estudiadas. Se obtuvo mayor número de casos positivos para el extracto de grano de soja a 1 mg/mL en comparación con la cáscara de soja.

Se analizaron: sensibilidad, especificidad, eficacia y valores predictivos positivos y negativos de cada extracto. Se observó que el extracto de grano de soja tuvo mayor sensibilidad y eficacia.

Los valores predictivos positivos y negativos superaron la unidad en los dos extractos a dos concentraciones, por lo que se estiman con más de 100% de probabilidad de que un paciente con resultado positivo esté realmente enfermo. El VPP no muestra un patrón homogéneo, el comportamiento del VPN es más uniforme. (Tabla 5)

En cuanto al tamaño promedio de la pápula o habón para cada extracto y cada dilución, en cada uno de los



* Porcentaje en base al total de sujetos de cada grupo (n=30)

Figura 1. Positividad de las pruebas cutáneas en pacientes alérgicos a la soja para ambos extractos y dos concentraciones

casos la media estuvo entre 3 y 4 mm. Con el grano de soja a 1 mg/mL se obtuvieron los valores más altos (3.9 mm) y fue menor con la cáscara de soja (3 mm). (Figura 2)

En la Tabla 6 se observan los valores de media y mediana, que fueron superiores en el grupo de enfermos. La desviación estándar también fue mayor en los enfermos, aunque con cierta proporcionalidad con el grupo control. El valor mínimo fue superior en los enfermos, mientras que el valor máximo fue igual en ambos grupos.

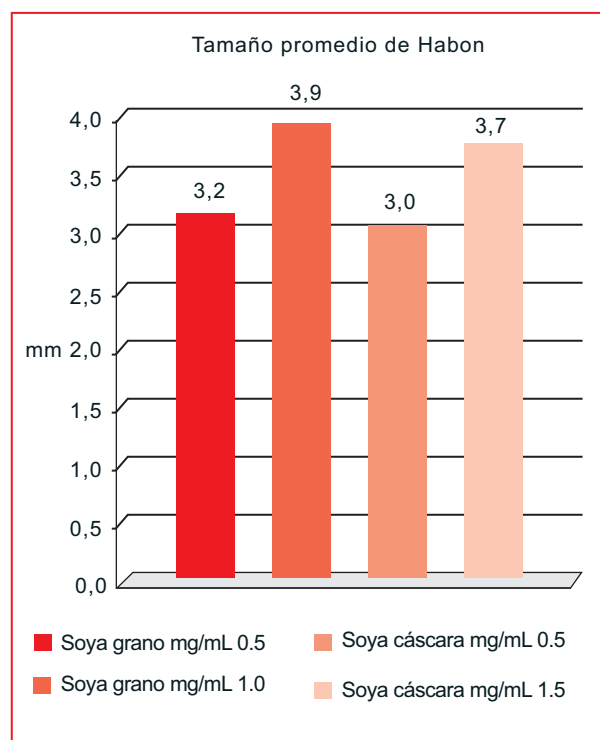
Los sueros analizados reconocieron una banda de aproximadamente 21 o 22 kDa (Figuras 2 y 3) que aparece como una banda mayoritaria, con una frecuencia de unión en 100% de los sueros de pacientes positivos a pruebas cutáneas por punción.

DISCUSIÓN

Al analizar los resultados podemos explicar que el predominio del sexo femenino en el grupo A (pacientes

Tabla 5. Datos relacionados con la exactitud diagnóstica de cada extracto en dos concentraciones

Extractos	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Eficacia (%)	VPP (%)	VPN (%)
Grano de soya (0.5 mg/mL)	20	100	60	6	1
Grano de soya (1 mg/mL)	60	100	80	1,67	1
Cáscara de soya (0.5 mg/mL)	3	100	50	30	1
Cáscara de soya(1 mg/mL)	40	100	70	2,31	1


Figura 2. Tamaño promedio de la pápula con cada concentración de extracto de soya

alérgicos a soya) se debió a que procedían de la consulta externa de alergología de adultos, donde predominan las mujeres, mientras que los sujetos sanos provenían de un banco de sangre, donde la mayoría de los donantes son varones.

El análisis de la edad difiere de lo referido acerca de la aparición de alergia alimentaria en edades tempranas.^{4,5} El grupo etario predominante en nuestros pacientes se explica por ser el periodo donde predominan las enfermedades alérgicas en el adulto, y por ello mayor afluencia de pacientes a consulta. Además, en la tercera y cuarta décadas de vida aparece la mayor parte de las enfermedades inflamatorias gastrointestinales, lo que favorece la entrada de macromoléculas antigénicas y con ello la alergia alimentaria.^{9,10}

El análisis de los resultados de las pruebas cutáneas con extracto de soya muestra que la reactividad cutánea difiere entre ambos grupos. La negatividad de las pruebas por punción en la totalidad de pacientes del grupo control tiene especificidad de 100%. La técnica de punción se considera un auxiliar fundamental en el diagnóstico de enfermedades alérgicas.^{15,16} Con la prueba cutánea por punción es deseable una especificidad alta ya que aumenta la probabilidad de los resultados negativos verdaderos para confirmar el diagnóstico.¹⁷⁻¹⁹ La principal cualidad clínica de una prueba diagnóstica es su exactitud, definida como la capacidad para clasificar de manera correcta a los individuos en subgrupos clínicamente relevantes. En su forma más simple es la capacidad para distinguir entre dos estados de salud. Numerosos estudios coinciden con similares resultados a los nuestros con una negatividad de dichas pruebas diagnósticas en los grupos control.²⁰⁻²⁸

Nuestros resultados mostraron una sensibilidad de 60% para el grano de soya y 40% para la cáscara de soya, lo que es un valor bajo, aunque debe destacarse

Tabla 6. Concentración de IgE sérica total en enfermos y controles

Grupos	Media (UI/mL)	DS (UI/mL)	Mediana (UI/mL)	Valor mínimo (UI/mL)	Valor máximo (UI/mL)
Enfermos	734.9	586.1	684.5	207	2000
Controles	151.9	396.6	62	5.2	2000

que 60% de los pacientes que refirieron alergia a la soya durante la entrevista tuvieron pruebas cutáneas positivas.

La bibliografía refiere que la sensibilidad diagnóstica de las pruebas cutáneas, sobre todo para alimentos que contienen alérgenos lábiles, como las frutas, aumenta cuando se utiliza el método *prick-to-prick*.²⁰ Otros estudios han mostrado un valor diagnóstico superior en pruebas cutáneas de punción con extractos de leguminosas.²¹

Los resultados nos muestran que para ambos extractos la concentración de 1 mg/mL fue más sensible que la de 0.5 mg/mL, lo que coincide con los hallazgos de otros autores.²⁶⁻²⁸ No obstante, en ninguno de los casos logró superar 60%, por lo que en sentido general no fueron lo suficientemente sensibles.

El extracto de soya a 0.5 mg/mL es altamente específico y muy poco sensible. En esta dirección es en la que operan, fundamentalmente, los errores de clasificación. Al ser muy baja la sensibilidad se generan muchos falsos negativos (enfermos no diagnosticados) por lo que la dilución pierde muchos individuos positivos y esto dificulta la valoración de los pacientes. El análisis de todo ello arroja que el grano de soya se relaciona con la alergia alimentaria a dicha leguminosa.

Los valores predictivos positivos y negativos superaron la unidad de por ciento en los dos extractos a dos concentraciones, por lo que se estiman con más del 100% de probabilidad de que un paciente con resultado positivo esté realmente enfermo. El valor predictivo positivo no tiene un patrón homogéneo, el comportamiento del valor predictivo negativo resultó más uniforme. Especialmente, el extracto de cáscara de soya a 0.5 mg/mL resultó ser el menos sensible. Algunos estudios coinciden de manera general con nuestros resultados, muestran que los extractos de leguminosas para pruebas cutáneas son más específicos que sensibles.²⁶⁻³⁰

Los extractos objeto de nuestro estudio poseen una exactitud diagnóstica homóloga al resto de los productos internacionales que se comercializan para el diagnóstico de alergia alimentaria por punción cutánea.

Existe proporcionalidad entre el tamaño promedio de la pápula y los resultados anteriores, ya que el extracto de grano de soya a 1 mg/mL se comportó como el más sensible y eficaz, alcanzó el mayor tamaño promedio de pápula. No obstante, estudios similares en los que

se evalúa el tamaño de la pápula reportan dimensiones mayores a las nuestras.²¹

En nuestro estudio no observamos reacciones adversas, lo que coincide con trabajos realizados por otros autores en los que la incidencia de reacciones adversas fue muy baja.²⁶⁻³¹

La tendencia central de los valores de IgE fue superior, de manera general, en los enfermos con respecto a los sanos. La discreta proporcionalidad de la desviación estándar entre ambos grupos y el mismo valor máximo obtenido en sanos y enfermos puede obedecer a que no se consideró el hábito de fumar y parasitosis intestinal, factores comunes en nuestro medio y que pueden incrementar la concentración de IgE.

La banda identificada por el suero de los pacientes pudiera corresponder a varios alérgenos descritos en la bibliografía, entre ellos el inhibidor de tripsina (KTI 20 kDa) y una subunidad de la glicinina. KTI es una proteína monomérica de peso molecular de 20 kDa que se aísla en la fracción 2S. Existen tres variantes de esta proteína, cuyos genes se expresan diferencialmente a lo largo del ciclo vital de la planta.^{32,33}

La glicinina tiene además la función de reserva y es la proteína mayoritaria de la fracción 11S y constituye 40% de la proteína total del grano. Está compuesta por seis subunidades con pesos moleculares en el rango de 31 a 45 kDa y 18 a 20 kDa, respectivamente.³²

El inhibidor de tripsina (21.5 Kda) aparece en la base de datos pero no tiene asignado un número, de acuerdo con los datos de prevalencia que se reportan para este alérgeno (6-10% de positividad) no parece un alérgeno mayor; sin embargo, la proteína Gly m 4 de 17 Kda aparece como el alérgeno con mayor frecuencia de reconocimiento (71-85% de los pacientes positivos a la soya).³³ Estudios epidemiológicos internacionales con Gly m4 aportan un porcentaje de positividad cercano a los que obtuvimos en el grupo estudiado (60%).²⁷⁻²⁹

De acuerdo con la precisión del Western Blotting (± 2 Kda) es probable que esa sea la banda que estamos apreciando en nuestros pacientes porque el análisis de la composición de proteínas del extracto (Figura 1) confirma la existencia de una banda a un peso molecular cercano a los 22 kDa.

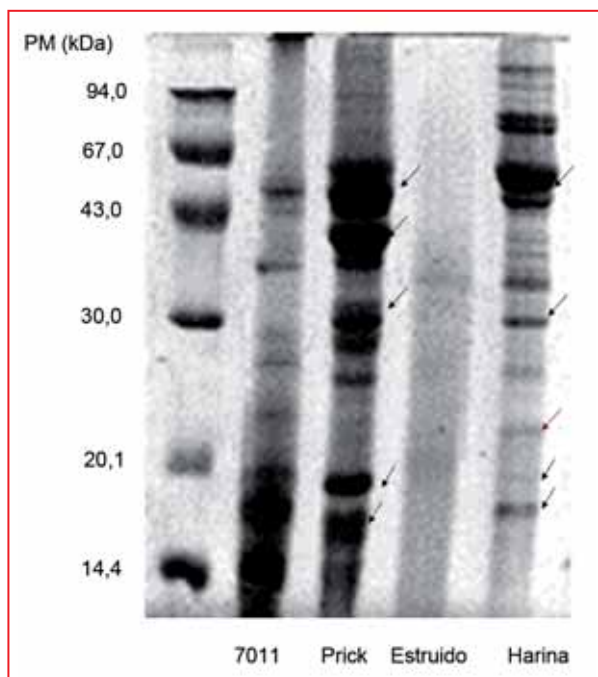


Figura 1. Análisis de la composición de proteínas del extracto

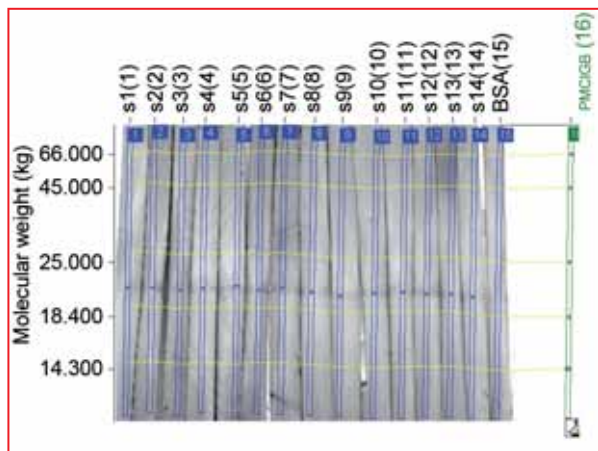


Figura 2. Western Blotting IgE

CONCLUSIONES

El extracto del grano y la cáscara de soja a la concentración de 1 mg/mL tiene exactitud diagnóstica y es seguro en las pruebas cutáneas de pacientes con alergia alimentaria.

REFERENCIAS

- Breiteneder H, Ebner C. Atopic allergens of plant foods. *Curr Opin Allergy Clin Immunology* 2001;1:251-257.
- Izco J, Barreno E, Bruges M, Costa M, Deresa J, Fernández F. En: *Botánica*. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana, 2002.
- Breiteneder H, Ebner C. Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000;136:27-36.
- Claudio A, Parisi S. Perspectivas en el tratamiento de la alergia alimentaria. *Clin Rev Allergy Immunol* 2006.
- Sampson HA. Update on food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:805-819.
- Barker D, González R, Polo F. Los alérgenos de la soja. En: *Asociación Aragonesa de Alergia*, ed. Reuniones anuales, segunda ponencia. Aragón, 2000.
- Ibáñez A, Martínez A, Sánchez B, Fernández-Caldas E. Mesa redonda: Reactividad cruzada de alérgenos alimentarios, reactividad cruzada de las legumbres. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2005;31:151-161.
- Morishita N, Akiyama E, Arikawa N, Iida T, Tase K, Hamaji M, et al. Evaluation of immunochromatographic test kits for food allergens using processed food models. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 2006;47:66-75.
- Kopper RA, Odum NJ, Sen M, Helm RM, Stanley JS, Burks AW. Peanut protein allergens: the effect of roasting on solubility and allergenicity. *Allergy Immunol* 2005;136:16-22.
- Moneret-Vautrin AD. Gastrointestinal allergy in adults. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:1293-1297.
- Ibáñez MD, Laso MT, Muñoz MC, Alonso E, Sánchez JJ, Morcillo R, y col. Valoración de las pruebas cutáneas en el diagnóstico de alergia a alimentos. *Rev Esp Alergol Immunol Clin* 1995;10:75-84.
- Matheson A, Bock A. In vivo Diagnosis of food Allergy: Skin Testing and Oral Challenge Procedures. *Focus SHS International*, 2003.
- Matheson A, Bock A. In vivo Diagnosis of food Allergy: Skin Testing and Oral Challenge Procedures. *Focus SHS International*, 2006.
- Sporik R, Hill DJ, Hosking CS. Specificity of allergen skin testing in predicting positive open food challenges to milk, egg and peanut in children. *Clin Exp Allergy* 2006;30:1540-1546.
- Sampson HA. Food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111: S540-S547.
- Dreborg S. Skin testing for diagnosis of Allergy. *Allergy* 1989;44:(Supl 10):1-60.
- Niinimäki A, Björkstén F, Puukka M, Tolonen K, Hannuksela M. Spice allergy: results of skin prick tests and RAST with spice extracts. *Allergy* 1989;44:60-65.
- Nielsenmeijer NR, et al. Optimization of skin testing II. Evaluation of concentration and cutoff values, as compared with RAST and clinical history, in multicenter study. *Allergy* 1993;48:498-503.
- Dreborg S. Standardization of allergenic preparations by in vivo and in vitro methods. Position paper: allergen standardization and skin testing. *The European Academic of Allergy and Clinical Immunology*. *Allergy* 1993;14:63-67.

20. Ibáñez MD, Alonso E, Blanco C. Metodología diagnóstica en la alergia a alimentos. *Alergol Inmunol Clin* 2000;14:50-62.
21. Mateo-Borrega MB, Sánchez-Fernández C, Lozada-Cosme E, De la Hoz Caballero B, Sánchez-Cano M. Pruebas cutáneas con leguminosas: comparación de resultados con alimentos naturales frente a extractos y efectos del calentamiento. *Alergol Inmunol Clin* 2004;16:271-278.
22. Breiteneder H, Radaner C. Classification of plant food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:821-830.
23. Ebisawa M, Ikematsu K, Imai T, Tachimoto H. Food Allergy in Japan. *ACI Internet* 2005;15:214-217.
24. Martínez San Ireneo M, Ibáñez Sandín MD, Fernández-Caldas E, Marañón Lizana F, Rosales Fletes MJ, Laso Borrego MT. Specific IgE levels to *Cicer arietinum* (chick pea) in tolerant and nontolerant children: evaluation of boiled and raw extracts. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 2006;121:137-143.
25. Ledit RF y col. Asociación entre exposición a polvo de soja y sensibilidad alérgica. Perfil de síntomas respiratorios. Asociación de Alergia e Inmunología. Tampa University 2001;61:41-48.
26. Quirce S, Polo F, Figueredo E, González R, Sastre J. Occupational asthma caused by soybean flour in bakers: differences with soybean induced epidemic asthma. *Clin Exp Allergy* 2003;30:839-846.
27. Martínez San Ireneo M, Ibáñez Sandín MD, Marañón F, Fernández-Caldas E, Muñoz Martínez MC, Laso Borrego MT. Fiabilidad de dos extractos de garbanzo en el diagnóstico de la alergia a esta legumbre (resumen). *Rev Esp Alergol Inmunol Clín* 1998;13(e 2):170-171.
28. Ibáñez Sandín MD, Martínez San Ireneo M, Marañón F, Fernández-Caldas E, Alonso Lebrero E, Laso Borrego MT. Valoración de dos extractos de lenteja en el diagnóstico de la alergia a esta legumbre (resumen). *Rev Esp Alergol Inmunol Clín* 1998;13(e 2):171-172.
29. Rancé F, Juchet A, Brémont F, Dutau G. Correlations between skin prick tests using commercial extracts and fresh foods, specific IgE, and food challenges. *Allergy* 1997;52:1031-1035.
30. Martínez San Ireneo M, Ibáñez Sandín MD, Sánchez Hernández JJ. Alergia a legumbres: aspectos clínicos, diagnósticos y pronósticos. Symposium Internacional de Alergia a Alimentos. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 2006;16:111-115.
31. Spergel JM, Beausoleil JL, Pawlowski NA. Resolution of childhood peanut allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002;85:473-476.
32. Breiteneder H, Ebner C. Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2005;106:27-36.
33. Sánchez Mongue R, et al. Isolation and characterization of relevant allergens from boiled lentis. *J Allergy Clin Immunol* 2007;106:955-961.