

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Microbiología



**ESTUDIO DE LA UTILIDAD DIAGNÓSTICA DE LA
DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE TRIPTASA
EN LAS REACCIONES ADVERSAS A MEDICAMENTOS**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Elena Ordoqui García

Bajo la dirección de los doctores

María Rubio Sotés

Eduardo Fernández Cruz - Pérez

Madrid, 2002

ISBN: 84-669-2105-2

ELENA ORDOQUI GARCÍA

**ESTUDIO DE LA UTILIDAD DIAGNÓSTICA DE LA
DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE TRIPTASA EN LAS
REACCIONES ADVERSAS A MEDICAMENTOS**

Investigación realizada en el Servicio de Alergología del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón” de Madrid, bajo la dirección de la Dra. Dña. María Rubio Sotés y la tutoría del Dr. D. Eduardo Fernández-Cruz Pérez, presentada para optar al grado de Doctor en Medicina, en el Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

A Pedro.
A mis hijas, Elena y Ana.
A mis padres.

-AGRADECIMIENTOS-

- A la Dra. María Rubio Sotés, Jefe del Servicio de Alergología del H.G.U. “Gregorio Marañón” de Madrid por su apoyo y sus consejos durante mis años de formación y, como Directora de la tesis, por las correcciones del manuscrito y el ánimo para llevar a cabo este trabajo.

- Al Dr. Eduardo Fernández-Cruz Pérez, Jefe del Servicio de Inmunología del H.G.U. “Gregorio Marañón” de Madrid por la tutoría de este trabajo y por la colaboración para realizar parte del estudio *in vitro*.

- Al Prof. Dr. José Manuel Martín Villa, por su admirable actividad docente y por su disponibilidad y ayuda en la realización de este trabajo.

- A todos los miembros del Servicio de Alergología de adultos del H.G.U. “Gregorio Marañón” de Madrid, la plantilla y mis compañeros residentes, dirigidos por la Dra. María Rubio Sotés, con los que realicé mi formación como especialista en Alergología durante el período 1991-1995; por las inquietudes humanas, médicas e investigadoras que crearon en mí, por su generosidad y auténtica amistad que perdura.

- A la Dra. M^a Luisa Baeza y al Dr. José Manuel Zubeldia del laboratorio de Alergia del Pabellón de Medicina y Cirugía Experimental del H.G.U. “Gregorio Marañón” de Madrid, por su motivación investigadora y espíritu crítico que han sido el motor de este trabajo, por su afán de superación contagioso y sobre todo por su accesibilidad y calidez humana.

- A todos los miembros de la Sección de Alergia Infantil del H.G.U. “Gregorio Marañón” de Madrid, dirigida por la Dra. M^a Isabel Martínez Molero, de los que recibí formación, colaboración y amistad.

- A la Dra. Marta Orta, compañera y amiga, por el ánimo y la confianza que deposita en mí cada día.

- A la Universidad de Navarra, centro en el que cursé los estudios de licenciatura de Medicina durante el período 1984-1990, donde recibí una formación humana y académica fundamental en mi trayectoria profesional.

- Al Departamento de Alergología e Inmunología Clínica de la Clínica Universitaria de Navarra, dirigido por el Dr. Isauro Diéguez, por su disponibilidad y apoyo.

- A todos los pacientes que han participado en este trabajo por la buena disposición y constancia en su colaboración.

-ABREVIATURAS-

AAS: Acido acetilsalicílico

AINEs: Antiinflamatorios no esteroideos

ANA: Anafilaxia

AE: Angioedema

CAP: Sistema de ensayo inmunoenzimático para la detección de la inmunoglobulina E, caracterizado por tener como fase sólida un polímero hidrofílico encapsulado

ID: Intradermorreacción

IDIO: Idiosincrasia a antiinflamatorios no esteroideos

IgE: Inmunoglobulina E

INTOL: Intolerancia a antiinflamatorios no esteroideos

iv: Intravenoso/a

kU/l: kilounidades/ litro

M: Mujer

MDM: Mezcla de determinantes menores

MT: Tubos con cuentas por debajo del nivel de detección. (En inglés, *missing tubes*)

PLA: Placebo

PM: Peso molecular

PPL: Benzilpeniciloil polilisina

RAM: Reacción adversa medicamentosa

RANA: Reacción adversa no alérgica

RAST: Sistema de ensayo inmunoisotópico, test radioalergosorbente para la detección de anticuerpos circulantes IgE alérgico específicos. (En inglés, *radio alergoabsorbent test*)

ROC: Curva ROC o COR, significa características operativas del receptor. (En inglés, *receiver operating characteristics*)

SA: Shock anafiláctico

sc: Subcutáneo/a

SEAIC: Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

TAB: Test de activación de basófilos

TLH: Test de liberación de histamina

URT: Urticaria

URT-AE: Urticaria-Angioedema

V: Varón

-INDICE-

I. INTRODUCCIÓN.....	1
1. GENERALIDADES.....	2
1.1. Reacciones adversas a medicamentos.....	2
1.2. Fisiopatología de las reacciones alérgicas tipo I.....	7
1.3. El mastocito: origen, morfología y heterogeneidad.....	8
1.4. Mediadores mastocitarios preformados.....	11
1.5. Mediadores sintetizados <i>de novo</i> :.....	14
2. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE LAS REACCIONES A MEDICAMENTOS.....	15
2.1. Historia clínica.....	15
2.2. Estudio <i>in vivo</i>	16
2.3. Estudio <i>in vitro</i>	17
3. PROBLEMAS DIAGNÓSTICOS PLANTEADOS EN LAS REACCIONES A MEDICAMENTOS.....	23
3.1. Limitaciones en el estudio de alergia a medicamentos.....	23
3.2. Problemas en distintos tipos de reacciones.....	24
4. LA TRIPTASA COMO MARCADOR MASTOCITARIO.....	26
4.1. Marcador de activación mastocitaria.....	26
4.2. Triptasa en fluidos corporales en el hombre.....	27
5. PROBLEMAS MÉDICO - LEGALES EN SERVICIOS DE URGENCIA Y POSTMORTEM.....	28
6. REACCIONES GRAVES EN EL TRANSCURSO DE LA ANESTESIA GENERAL.....	30
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	31
1. HIPÓTESIS.....	32
2. OBJETIVOS.....	33
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	34
1. SELECCIÓN DE PACIENTES.....	35
1.1. Diseño de grupos de pacientes.....	35
1.2. Origen de los pacientes.....	36
1.4. Edad.....	37
1.5. Sexo.....	38
1.6. Consentimiento informado.....	38
1.7. Fases del estudio.....	38

2. DEFINICIÓN DE LOS GRUPOS SEGÚN EL TIPO DE REACCIÓN CLÍNICA	40
2.1. Shock anafiláctico	40
2.2. Anafilaxia	40
2.3. Urticaria-angioedema	40
2.4. Intolerancia a AINEs	40
2.5. Reacciones adversas a medicamentos no alérgicas	41
2.6. Grupo placebo	41
2.7. Grupo control	41
3. ESTUDIO ALERGOLÓGICO. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS <i>IN VIVO</i>	42
3.1. Pruebas cutáneas	42
3.2. Prueba de exposición controlada con medicamento.	44
4. ESTUDIO ALERGOLÓGICO. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS <i>IN VITRO</i>	45
4.1. Determinación de IgE específica frente a penicilina y amoxicilina	45
4.2. Determinación de triptasa sérica por método RIACT®	47
4.3. Determinación de triptasa sérica por método UniCAP®	49
5. MÉTODOS ESTADÍSTICOS	50
5.1. La variable triptasa	50
5.2. Valoración de la capacidad diagnóstica	51
5.3. Curvas COR o ROC	52
5.4. Soporte informático	53
IV. RESULTADOS	54
1. MEDICAMENTOS IMPLICADOS EN LAS DISTINTAS REACCIONES	55
1.1. AINEs	56
1.2. Antibióticos y antiinfecciosos	57
1.3. Miscelánea	58
1.4. Vía de administración	59
1.5. Tiempo de latencia	59
2. RESULTADOS DE NIVELES BASALES DE TRIPTASA	62
3. VARIACION DE LOS VALORES DE TRIPTASA SÉRICA CON LA TÉCNICA RIACT®	65
3.1. Incremento de triptasa sérica vs el valor absoluto postreacción	65
3.2. Incremento global de todas las reacciones	65
3.3. Incremento por grupos	70
4. COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS RIACT® Y UNICAP®	75
4.1. Comparación global	75
4.2. Distribución de los valores de triptasa sérica obtenidos en 50 sujetos	76
4.3. Estadísticos de contraste Wilcoxon, con incrementos de triptasa por grupos	78
5. RESULTADOS SERIADOS POR RIACT®	81
5.1. Tiempo de obtención del valor máximo o pico de triptasa	81

6. COMPARACIÓN DE AMBAS TÉCNICAS EN UN SHOCK ANAFILÁCTICO POR AMOXICILINA.....	84
V. DISCUSIÓN.....	86
1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA	88
1.1. Medicamentos implicados por orden de frecuencia.....	88
2. LA SELECCIÓN DE PACIENTES Y EL CONSENTIMIENTO INFORMADO	91
3. VALORACIÓN DE LOS NIVELES BASALES DE TRIPTASA.....	92
4. TRIPTASA SÉRICA EN REACCIONES ADVERSAS A MEDICAMENTOS.....	93
5. VALORACIÓN DE LOS NIVELES DE TRIPTASA SÉRICA CON LA TÉCNICA RIACT®.....	95
5.1. Incremento de triptasa sérica <i>vs</i> su valor absoluto postreacción.....	95
5.2. Incremento de triptasa global en todas las reacciones.....	96
5.3. Incremento de triptasa en las distintas reacciones.....	97
6. COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS RIACT® Y UNICAP®	100
6.1. Consideraciones generales del conjunto de determinaciones	100
6.2. Comparación entre las dos técnicas RIACT® <i>vs</i> UniCAP®	101
6.3. Incremento de triptasa sérica con ambas técnicas.....	102
7. OBTENCIÓN DEL VALOR MÁXIMO DE TRIPTASA.....	105
7.1. Valor máximo o pico de triptasa en la seriación de varias reacciones graves.	105
7.2. Vía de administración, período de latencia y gravedad de los síntomas.....	106
8. SERIACIÓN DEL NIVEL DE TRIPTASA EN UN SHOCK ANAFILÁCTICO POR AMOXICILINA.....	108
VI. CONCLUSIONES.....	109
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	111

I. INTRODUCCIÓN

1. GENERALIDADES

1.1. Reacciones adversas a medicamentos

Las reacciones adversas a medicamentos (RAM) se definen en el informe técnico de la OMS n° 425 de 1969 ⁽¹⁾, como “el efecto perjudicial o indeseado, que aparece con las dosis utilizadas en el hombre para la profilaxis, el diagnóstico o la terapéutica”. Esta definición excluye los fallos terapéuticos, el envenenamiento accidental e intencionado como la sobredosificación y el abuso de drogas. Tampoco incluye los errores en la administración de los medicamentos, ni el mal cumplimiento tanto por exceso como por defecto ⁽²⁾.

1.1.1. Características de una reacción adversa.

Deben tenerse en cuenta los siguientes hechos y circunstancias:

a) Presencia de síntomas y/o signos clínicos, o alteraciones de determinados parámetros analíticos.

b) Gravedad de la reacción, según los criterios establecidos por Venulet ⁽³⁾.

- Reacciones leves. No precisan tratamiento, ni complican la enfermedad primaria. El fármaco sospechoso puede ser o no retirado.

- Reacciones moderadas. La sintomatología es marcada pero sin afectación de órganos vitales. Requiere tratamiento, hospitalización del paciente o su observación durante al menos 24 horas.

- Reacciones graves o potencialmente fatales.

c) Frecuencia o prevalencia, respecto a medicamentos similares.

- Elevada o frecuente. Según autores se considera cuando la prevalencia es mayor de 2:200 ó si afecta al 10% de los expuestos.
- Intermedia u ocasional. Entre el 1:10000 y el 1:200 ó entre el 0,01 y el 10% de los expuestos
- Baja o rara. Prevalencia menor de 1:10000 ó menor al 0,01% de los expuestos.

d) Mecanismo de acción. Además de la clasificación farmacológica de “dosis- dependiente” o “dosis-independiente”.

- Idiosincrasia: o respuesta anómala de un paciente a un determinado fármaco, debido a una alteración enzimática.
- Hipersensibilidad: efecto no explicable por la acción farmacológica del medicamento e inducido por la respuesta alterada, generalmente considerado como un fenómeno alérgico.
- Intolerancia: una pequeña dosis del medicamento produce un excesivo efecto farmacológico del mismo.
- Interacciones entre fármacos: repuesta inusual no explicable por la acción de uno de los medicamentos por separado.
- Farmacológico: efecto conocido relacionado directamente con la dosis del medicamento.

e) Causalidad. Establecer la relación de causalidad entre la manifestación clínica y el fármaco sospechoso.

- Definitiva: cuando existe una secuencia temporal razonable entre la administración del fármaco y la aparición de la manifestación clínica; coincide con el esquema de reacciones adversas conocidas, mejora al interrumpir su administración y reaparece al administrar de nuevo el mismo medicamento.

- Probable: cuando existe una secuencia temporal razonable, hay coincidencia con el esquema de reacciones adversas conocidas, los síntomas mejoran al retirar el medicamento implicado y la reacción no se explica por la situación clínica del paciente.

- Posible: cuando la secuencia temporal es razonable pero la manifestación clínica no coincide con el esquema de reacciones adversas conocidas y puede ser debida a la situación clínica del paciente o a otros fármacos administrados concomitantemente.

- Condicional: cuando la secuencia temporal es razonable, la clínica no coincide con el esquema de reacciones adversas conocidas y no puede ser explicado por la situación del paciente.

- No relacionada: cuando no cumple ninguno de los criterios mencionados.

f) Factores relacionados con el paciente, que pudieran predisponerle a padecer el efecto adverso tales como: edad, sexo, función renal, función hepática y factores genéticos.

g) Tratamiento de la manifestación clínica y resultado de dicho tratamiento.

e) Evolución de la RAM, en relación con la reversibilidad o la persistencia de secuelas ^(4, 5).

1.1.2. Clasificación general de las reacciones adversas a fármacos según Ownby.

a) No mediadas inmunológicamente:

- Toxicidad aguda: sobredosificación
- Toxicidad retardada: teratogénesis y carcinogénesis
- Efectos colaterales
- Efectos secundarios
- Interacciones farmacológicas
- Intolerancia
- Idiosincrasia
- Reacciones psicósomáticas
- Reacciones pseudoalérgicas

b) Mediadas inmunológicamente:

- Tipo I o de hipersensibilidad inmediata mediada por Ig E
- Tipo II o de citotoxicidad mediada por anticuerpos
- Tipo III o por inmunocomplejos
- Tipo IV o hipersensibilidad celular

c) De probable mecanismo inmunológico:

1. Dermatológicas:
 - Erupciones cutáneas de morfología variable
 - Dermatitis exfoliativa
 - Eritema multiforme o Síndrome de Stevens Johnson
 - Necrolisis epidérmica tóxica o Síndrome de Lyell
 - Exantema fijo por medicamento

- 2. Pulmonares: - Neumonitis por hipersensibilidad
 - Infiltrados pulmonares con eosinofilia

- 3. Renales: - Glomerulonefritis
 - Nefritis intersticial

- 4. Hepáticas: - Colestasis
 - Lesión hepatocelular

- 5. Sangre: - Eosinofilia

1.1.3. Reacciones alérgicas a medicamentos

Dentro de las reacciones adversas existe un grupo de reacciones denominadas alérgicas al estar mediadas por un mecanismo inmunológico, y que se agrupan dentro de la clasificación de Gell y Coombs ⁽⁶⁾. La alergia a medicamentos consiste pues en una respuesta inmunológica contra el medicamento, un compuesto que contiene como hapteno al medicamento, uno o más de sus metabolitos, o cualquier sustancia de la preparación galénica como conservantes y contaminantes. El agente causante es químicamente reactivo de manera que la respuesta inmunológica se dirige al complejo medicamento-proteína ^(7, 8). Las reacciones alérgicas por medicamentos que siguen este esquema comprenden: reacciones de hipersensibilidad inmediata (tipo I), reacciones citotóxicas (tipo II), reacciones por inmunocomplejos (tipo III) y reacciones por hipersensibilidad de tipo retardado o celular (tipo IV).

Sin embargo en la práctica diaria es frecuente encontrarse con reacciones inducidas por medicamentos que no siempre encajan en uno de esos cuatro tipos de hipersensibilidad y cuyo mecanismo desconocemos, añadiendo más dificultad a su diagnóstico. En los últimos años se

han estudiado también reacciones por fármacos donde el linfocito T parece desempeñar un importante papel como en los exantemas morbiliformes ⁽⁹⁾, las erupciones ampollas ^(10, 11) y el exantema fijo ⁽¹²⁾. Además se ha observado la presencia de apoptosis de probable base inmunológica en la necrólisis epidérmica tóxica ⁽¹³⁾.

Se calcula que las reacciones alérgicas comprenden del 5 al 10 % de las reacciones adversas a fármacos ⁽¹⁴⁾ y presentan una serie de características que se describen a continuación ⁽¹⁵⁻¹⁸⁾:

- Precisan un contacto previo sensibilizante
- Existe riesgo de reacción ante mínimas dosis
- Las manifestaciones clínicas no derivan del efecto farmacológico
- Aparecen en un pequeño porcentaje de individuos
- Existen anticuerpos o linfocitos T que reaccionan específicamente con el medicamento o sus metabolitos
- Una reacción similar puede aparecer ante compuestos de estructura parecida
- Son reacciones no esperadas

1.2. Fisiopatología de las reacciones alérgicas tipo I

Las reacciones alérgicas inmediatas a medicamentos se producen por un mecanismo mediado por IgE que reconoce al medicamento, a sus metabolitos o a componentes de su preparación galénica ⁽¹⁹⁾ aunque en algunas ocasiones se liberan los mediadores de la inflamación alérgica, sin encontrarse IgE, por mecanismos todavía desconocidos ^(9, 20-22). En un primer momento, la IgE antígeno específica se une a receptores de alta afinidad presentes en mastocitos, basófilos, macrófagos y células dendríticas y de Langerhans, o a los receptores de baja afinidad en macrófagos, monocitos, linfocitos, eosinófilos y plaquetas. Cuando los alergenos medicamentosos (haptenos) y/o sus metabolitos penetran a través de las barreras mucosas o se

introducen en el torrente sanguíneo, se unen a la IgE específica presente en la superficie de mastocitos y basófilos fundamentalmente, éstos se activan y liberan una serie de mediadores ^(23, 24) que explican los síntomas de la reacción alérgica inmediata a los pocos minutos de dicha exposición y que desaparecen normalmente entre 30 y 60 minutos después. Su expresión clínica de mayor gravedad, es la aparición de una reacción anafiláctica ⁽²⁵⁾ que puede desembocar en shock e incluso en la muerte del paciente ⁽²⁶⁾, siendo las más leves el exantema, la urticaria y el angioedema cutáneo ⁽²⁷⁾.

1.3. El mastocito: origen, morfología y heterogeneidad.

El mastocito, una de las células principales implicadas en las reacciones alérgicas a medicamentos, fue descrito por Ehrlich ⁽²⁸⁾ en 1879. Se basó en la propiedad metacromática de tinción de los gránulos citoplasmáticos de los mastocitos e identificó esta estirpe celular. Utilizando colorantes de anilina básicos consiguió la tinción de estos gránulos en un color púrpura, gracias a su contenido en proteína-polisacárido con grupos sulfato fuertemente ácidos.

La histamina fue una de las primeras sustancias asociadas a los mastocitos. La β -imidazoletilamina fue sintetizada por primera vez en 1907 ⁽²⁹⁾, y posteriormente se le denominó histamina (del griego, *histos*) debido a su presencia en tejidos animales. En 1910, Dale demostró la potente actividad broncoespástica y vasodilatadora de la histamina y unos años después se comprobó su actividad como mediador humoral en la respuesta alérgica aguda ⁽²⁰⁾.

Los primeros hallazgos sobre la importancia de los mastocitos como células productoras de distintos mediadores, se desarrollan en 1987 a partir de los estudios sobre mastocitos de ratón que expresan RNA mensajero para la IL-4, y que producen un factor citolítico relacionado con la necrosis tumoral ^(30, 31). Los mastocitos humanos al igual que otros granulocitos, derivan de las células precursoras de la médula ósea a partir de un estímulo diferenciador primario. Este

estímulo lo provoca un factor de estas células⁽³²⁻³⁵⁾, que presenta una actividad de ligando para el producto del proto-oncogén c-kit⁽³⁶⁻³⁸⁾. Se ha conseguido el crecimiento selectivo de células mastocitarias humanas cultivando células de la médula ósea en crudo con factor stiel, IL-6 y PGE2⁽³⁹⁾. A pesar de su origen hematopoyético, los mastocitos residen permanentemente en los tejidos una vez localizados en ellos, manteniendo la capacidad de migración y de transdiferenciación.

La presencia diferencial de las proteasas intragranulares, triptasa y quimasa, marca la heterogeneidad de los mastocitos humanos⁽⁴⁰⁻⁴⁵⁾. Inicialmente se describieron dos tipos de mastocitos, los MCt que sólo contienen triptasa y se localizan en mucosas y el tejido broncoalveolar que presentan estructuras cristalinas en sus gránulos; y los MCtc con quimasa, triptasa y carboxipeptidasa A localizados en las submucosas y en la piel, que contienen unos gránulos amorfos carentes de estructuras cristalinas^(33, 46, 47). Además se ha descrito un tercer tipo de mastocito, el MCc que contiene sólo quimasa y se encuentra en algunas submucosas como la nasal y la intestinal⁽⁴⁸⁻⁵¹⁾ (Tabla I).

Existe heterogeneidad en cuanto a las citocinas que expresan los diferentes tipos de mastocitos⁽⁵²⁾. Estudios histoquímicos de localización de proteínas y de hibridación del RNA, indican que existe una expresión diferencial de las citocinas IL-4, IL-5 e IL-6 en la piel, la mucosa nasal y bronquial⁽⁵³⁾. La IL-4 se encuentra de modo preferencial en el subtipo MCtc^(54, 55), y además este tipo de células expresa el receptor para la eotaxina CCR3⁽⁵⁶⁾. Sin embargo las citocinas IL-5 e IL-6 se restringen al tipo MCt^(57, 58). Esto indica una función biológica diferente para cada tipo de mastocito, que sintetiza y libera distintas citocinas dependiendo del tejido donde se encuentre⁽⁵⁹⁾.

Los mastocitos del tipo MCtc, son los predominantes en la dermis de los pacientes con mastocitosis cutánea ⁽⁶⁰⁾ y se ha encontrado un déficit de MCt en la mucosa gastrointestinal de pacientes con un defecto en la función de los linfocitos T ⁽⁶¹⁾.

Tabla I. Heterogeneidad de los mastocitos.

MASTOCITOS	MCt	MCtc	MCc
Localización <i>in vivo</i>	Mucosa nasal Pared alveolar Mucosa intestinal Mucosa bronquial	Piel Vasos sanguíneos Submucosa intestinal Membrana sinovial Pared vascular Corazón	Submucosa nasal Submucosa intestinal
Contenido en proteínas	α y β triptasa	α y β triptasa, quimasa, catepsina G, carboxipeptidasa	quimasa

1.3.1. Características selectivas de mastocitos y basófilos

Estas dos células tienen un importante papel en la inmunorregulación ^(62, 63). Ambos tipos celulares, en el hombre, se diferencian desde el punto de vista morfológico. El tamaño de los mastocitos es mayor (6-12 micras) que el de los basófilos (5-7 micras). Los mastocitos tienen numerosas evaginaciones alargadas y uniformes en la superficie y presentan una condensación cromática moderada. Su núcleo, no es segmentado.

En los basófilos el núcleo es segmentado, presenta una notable condensación cromática, así como agregados de glucógeno y corpúsculos lipídicos y, en la desgranulación, la fusión intergranular es rara. Los mastocitos sin embargo no presentan agregados de glucógeno y los corpúsculos lipídicos son raros, siendo frecuente la fusión intergranular durante la desgranulación ⁽⁶⁴⁾.

Una de sus diferencias fundamentales radica en el distinto contenido en proteasas, sobre todo triptasa, que es selectiva de los mastocitos ⁽⁶⁵⁾.

1.4. Mediadores mastocitarios preformados

La desgranulación mastocitaria lleva consigo la liberación de mediadores preformados ^(59, 66).

Los más importantes vienen detallados a continuación:

- Histamina, serotonina, citocinas
- Enzimas proteolíticas (triptasa, quimasa, carboxipeptidasa)
- Enzimas oxidativas (superóxido dismutasa, peroxidasa)
- Hidrolasas ácidas (arilsulfatasa, β -D-galactosidasa, β -glucuronidasa, β -hexosaminidasa)
- Factores quimiotácticos (factor quimiotáctico de los eosinófilos, factor quimiotáctico de los neutrófilos)
- Proteoglicanos (heparina, condroitínsulfato)
- Factor estimulador de la síntesis de prostaglandinas de la anafilaxia (PGF-A)

1.4.1. Proteasas mastocitarias

Las enzimas proteolíticas más importantes identificadas en los mastocitos humanos son: carboxipeptidasa B, quimasa y triptasa ^(67, 68).

Triptasa: proteasa presente en los mastocitos y ausente en otros tipos celulares, que la convierte en marcador selectivo de la desgranulación mastocitaria.

Carboxipeptidasa B: su función es actuar de forma coordinada con la triptasa en la escisión selectiva de determinados sustratos proteicos.

Quimasa: es abundante en la mucosa intestinal y en la piel, y ha sido descrita en mastocitos de pulmón. Presenta actividad quimiotróptica y es capaz de escindir la angiotensina I para formar la angiotensina II.

1.4.2. Triptasa: estructura y funciones

La triptasa de los mastocitos humanos está estructurada por cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas α y dos cadenas β . La triptasa humana está formada por dos subunidades ligeras diferentes con un peso molecular aparente entre 29 y 35 kDa, que agregadas formando tetrámeros, revelan unas formas moleculares de unos 130-144 kDa ^(69, 70). Al separar las dos subunidades activas se aprecia que son homólogas. En los trabajos realizados por Schwartz y cols ⁽⁷¹⁾ se detectó que la actividad de la triptasa humana era dependiente de la interacción con heparina. En posteriores estudios se identificaron dos formas de triptasa: la α -triptasa ⁽⁷²⁾ y la β -triptasa ⁽⁷³⁾ clonadas a partir de cDNAs de pulmón humano.

La expresión de triptasa está regulada por factores tisulares y demuestra un patrón de heterogeneidad en los mastocitos más complejo que los conocidos en la actualidad. Se han reconocido distintas funciones para la triptasa de pulmón humano y de otros tejidos entre las que cabe destacar: la proteólisis de péptidos broncodilatadores, la actividad mitótica para fibroblastos y células epiteliales, la activación de la colagenasa de células sinoviales, la estimulación de la liberación de IL-8 y el aumento de expresión de ICAM-1 en células epiteliales ⁽⁷⁴⁾. Ha sido estudiada también como enzima destructora de la función de coagulación del HMMK (quininógeno de alto peso molecular), sin liberación de bradicinina, que nos indica un posible papel de la triptasa en la anticoagulación ⁽⁷⁵⁾. Estos resultados coinciden con los de posteriores estudios realizados *in vitro* sobre HMMK y VIP (péptido intestinal vasoactivo) que funcionan como substratos de triptasa ⁽⁷⁶⁾.

1.4.2.1. Triptasa como marcador de activación mastocitaria

Esta proteasa neutra se localiza selectivamente en los gránulos mastocitarios. En los basófilos, su presencia es insignificante, tan sólo unas trazas de unos 0,004 pg/célula; que supone aproximadamente entre 700 y 300 veces menos cantidad que en los mastocitos de piel donde asciende a 35 pg/célula y pulmón de adulto donde se cuantifican 12 pg/célula ⁽⁷⁷⁾. La triptasa se almacena y se secreta por los mastocitos unida a la heparina. Una vez en el torrente sanguíneo la triptasa rompe su unión con estas moléculas estabilizadoras disociándose en monómeros inactivos ^(78, 79). En los sujetos alérgicos no expuestos a alérgenos, los niveles de triptasa sérica son bajos, excepto en mastocitosis, donde se detectan elevadas concentraciones de α -triptasa sérica ⁽⁸⁰⁾. En reacciones de hipersensibilidad inmediata como la anafilaxia, la cuantificación de triptasa como marcador de desgranulación mastocitaria es de gran utilidad ⁽⁸¹⁾.

1.4.2.2. Diferencias entre histamina y triptasa

Otra forma de valorar la activación mastocitaria podría ser la cuantificación de histamina. La histamina es una amina que se sintetiza por carboxilación de la histidina en el aparato de Golgi de los mastocitos o basófilos. Forma enlaces iónicos con los residuos ácidos de las cadenas laterales de los glucosaminoglicanos de la heparina o de los proteoglicanos relacionados con esta molécula. Podemos encontrarla en mastocitos y basófilos en cantidades importantes. Se metaboliza rápidamente por dos vías: metilación y oxidación. Los niveles de histamina plasmática se elevan de forma inmediata tras la aparición de los síntomas en reacciones tanto anafilácticas como anafilactoides. Alcanzan el pico a los 5-10 minutos desapareciendo en 20-30 minutos debido a su rápida metabolización. Por ello, es preciso realizar la determinación de histamina en plasma, dentro de los primeros 15 minutos de la reacción ⁽⁸²⁾. De sus productos

catabólicos, la N-metilhistamina se puede medir en orina durante varias horas y es un índice de su liberación endógena. La histamina en sangre refleja la activación tanto de basófilos como de mastocitos⁽⁸³⁾.

Frente a las citadas propiedades de la histamina, la triptasa presenta una serie de características que la convierten en mejor marcador de actividad mastocitaria:

- Se libera de forma paralela a la histamina de los mastocitos activados pero tarda unos 15-20 minutos en poder detectarse, probablemente por una capacidad de difusión más lenta a través de la matriz extracelular al formar un complejo unida a proteoglicanos⁽⁴¹⁾.
- Su vida media es de unas 2 horas, con niveles pico variables que oscilan entre 30 minutos y unas 4 horas, siendo lo más frecuente que sea máxima hacia las 2 horas. Los niveles plasmáticos retornan a la normalidad entre 6-12 horas aproximadamente⁽⁸⁴⁾. Schwartz y cols⁽⁸⁵⁾ observaron que durante la anafilaxia sistémica el tiempo medio de desaparición de la triptasa de la circulación era aproximadamente 2 horas tras alcanzar su valor máximo, intervalo muy superior al experimentado por la histamina⁽⁸⁵⁾.
- La triptasa recogida en el suero de los pacientes es estable a procesos de congelación y descongelación para su posterior determinación. Soporta condiciones de 37° C de temperatura ambiente durante varios días.

1.5. Mediadores sintetizados *de novo*:

Los principales mediadores sintetizados no preformados, son: prostaglandinas PGD₂, PGI₂, PGF_{2α}; leucotrienos LTC₄, LTE₄, LTB₄; tromboxano A₂; adenosina; radicales libres y factor activador de plaquetas (PAF)⁽⁸⁶⁾. El almacenamiento de mediadores lipídicos mastocitarios sintetizados *de novo* se realiza en las membranas y en los cuerpos lipídicos citoplasmáticos^(87,88).

2. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE LAS REACCIONES A MEDICAMENTOS

El estudio de las reacciones a medicamentos es complejo y requiere un abordaje desde distintos frentes, siendo la historia clínica el primer y más importante peldaño que se completa con una serie de pruebas *in vivo* e *in vitro*.

2.1. Historia clínica

El diagnóstico de alergia a medicamentos se basa principalmente en una historia clínica detallada y en los signos clínicos de la reacción. Lo más importante es la realización de una historia clínica exhaustiva, sin olvidar ningún dato que pueda resultar fundamental en el diagnóstico. Es imprescindible obtener toda la información que el paciente nos pueda aportar aunque no siempre sea posible debido a la falta de memoria, a que haya transcurrido demasiado tiempo desde la reacción, o a que por otros motivos no se pueda disponer de todos los datos. Las principales cuestiones que deben tener respuesta son las siguientes ^(4, 7, 89, 90):

- Existencia de reacciones anteriores
- Utilización previa del medicamento sospechoso
- Nombre del medicamento o medicamentos implicados
- Motivo de la administración del medicamento y si existe enfermedad concomitante
- Posología y número de dosis recibidas
- Vía de administración
- Tiempo transcurrido desde la administración hasta el inicio del cuadro
- Descripción de los síntomas y signos
- Manejo del episodio y posible atención en urgencias
- Tolerancia posterior de medicamentos

Existe un grupo de trabajo dentro de la Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica, dedicado a la valoración y estudio de las reacciones alérgicas a medicamentos, que intenta consensuar y protocolizar el modo de recogida de la información. Recientemente han propuesto un modelo de cuestionario para la realización de una historia clínica detallada como pieza fundamental en el diagnóstico de las reacciones alérgicas a medicamentos ⁽⁹¹⁾.

2.2. Estudio *in vivo*

2.2.1. Pruebas cutáneas

Las pruebas cutáneas empleadas son similares a las que se utilizan para estudiar cualquier otro tipo de enfermedad alérgica. La diferencia es la dificultad para obtener un antígeno completo adecuado, que resulte seguro y fiable. En la actualidad están comercializados los extractos estandarizados de los determinantes mayores y menores de la penicilina, PPL y MDM ^(92, 93), para la realización de las pruebas cutáneas en prick-test e intradermorreacción siguiendo las pautas establecidas y consensuadas ⁽⁹⁴⁻⁹⁶⁾. El estudio se completa con el antibiótico betalactámico implicado en la reacción. Las pruebas cutáneas con antibióticos betalactámicos tienen una alta especificidad y sensibilidad. Algunos autores apoyan la realización del estudio en prueba cutánea como primer paso de gran fiabilidad, en el diagnóstico de la hipersensibilidad a las pirazolonas ^(97, 98). Si se trata de otros medicamentos, cuando son antígenos completos pueden utilizarse en prueba cutánea como es el caso de la insulina, heparina y otras moléculas protéicas. Cuando las moléculas son de bajo peso molecular, al no existir extractos estandarizados se suelen preparar en el laboratorio. En este caso es necesario realizar controles para confirmar que los extractos no resulten irritantes ⁽⁹⁹⁾ o que se puedan producir falsos negativos.

2.2.2. Pruebas epicutáneas

Estas pruebas se reservan para el estudio de las reacciones tardías mediadas por células. En su realización se utilizan parches adhesivos con el medicamento vehiculizado en agua, vaselina o dimetilsulfóxido según las propiedades fisicoquímicas del fármaco, que se colocan sobre piel sana de la espalda o sobre lesiones residuales, como en el caso del exantema fijo ⁽¹⁰⁰⁾. La lectura se realiza a las 48 y 96 horas ⁽¹⁰¹⁾ aunque a veces, en ocasiones excepcionales se precise una lectura a los 7 y/o 14 días.

2.2.3. Prueba de exposición controlada al medicamento

Cuando no es posible el diagnóstico por anamnesis, prueba cutáneas y/o tests *in vitro* queda como último recurso la prueba de exposición. Se realiza a simple o doble ciego con placebo, en un lugar adecuado que cuente con las medidas de tratamiento de urgencias necesarias para tratar una reacción grave que pudiera producirse. No está indicada en el caso de existir reacciones previas con manifestaciones clínicas graves, por el riesgo potencial que conllevaría una reexposición ⁽¹⁰²⁾.

2.3. Estudio *in vitro*

2.3.1. Determinación de IgE específica a medicamentos

Las técnicas de detección de IgE específica frente a medicamentos se basan en una reacción del alérgeno, presentado generalmente en fase sólida, con la IgE específica del suero del enfermo. Esta unión se pone de manifiesto posteriormente con un anticuerpo mono o policlonal anti-IgE humana que va unido a un marcador responsable de dar una señal cuantificable. Estas técnicas deben tener una sensibilidad de picogramos/ml, siendo, la mayoría de las técnicas en la

actualidad sólo semicuantitativas, ya que no indican de una forma definitiva la masa de IgE específica presente en el suero ⁽¹⁰³⁾.

La técnica más utilizada y extendida en la actualidad es la técnica InmunoCAP-FEIA, disponible para penicilina G y V, cefaclor y amoxicilina. Todavía no se dispone de métodos validados para la detección de IgE específica para la mayor parte de los medicamentos, posiblemente debido a la dificultad de éstos para adherirse a los discos de celulosa por su bajo PM y exponer bien sus determinantes antigénicos.

Cabe destacar las investigaciones de Blanca y cols ⁽¹⁰⁴⁾ sobre la alergia a antibióticos betalactámicos y su reactividad cruzada, *in vivo* e *in vitro*; así como Torres ⁽¹⁰⁵⁾ y cols, del mismo grupo, que han objetivado la presencia de IgE e IgG en sujetos alérgicos a penicilinas que reconocen diferentes partes de la molécula. También se ha estudiado la existencia de IgE específica frente a distintos miorelajantes, principalmente por Baldo y Fisher ⁽¹⁰⁶⁻¹¹⁰⁾, y por el grupo de Vervloet ⁽¹¹¹⁾.

En reacciones alérgicas por macrólidos, Pascual y cols ⁽¹¹²⁾ lograron demostrar el mecanismo inmediato implicado mediante el prick-test positivo y la detección de IgE específica *in vitro* por radioinmunoensayo (RIA), en un paciente que sufrió dos episodios de urticaria por eritromicina. Han sido descritas reacciones alérgicas con detección de anticuerpos de tipo IgE frente a sulfamidas con estudios de inhibición entre ellas por Harle y cols ⁽¹¹³⁾ y Carrington ⁽¹¹⁴⁾; así como con trimetoprim ⁽¹¹⁵⁾. Sin embargo, todavía estas últimas técnicas se restringen a trabajos de investigación y no hay métodos estandarizados para uso clínico.

2.3.2. Determinación de histamina sérica y de metilhistamina urinaria después de la reacción

Debido a la corta vida media de la histamina en sangre, varios autores han propuesto determinar el metabolito de la histamina, la metilhistamina, en orina, como reflejo de la histaminemia en plasma. Los resultados obtenidos a este respecto muestran gran disparidad, probablemente debido a la coexistencia de una serie de factores que influyen sobre la producción de ambos mediadores. Por ejemplo Schulze ⁽¹¹⁶⁾ observa que tanto la histamina plasmática como la metilhistamina en orina, varían en función de la edad y a lo largo del día. También la ingestión de alimentos ricos en histamina, como algunos quesos, vinos o pescados, pueden ser la explicación del hallazgo de niveles elevados de ambos mediadores ⁽¹¹⁷⁻¹¹⁹⁾. Por otra parte, se ha observado que la propia flora bacteriana del tracto urinario o vagina, puede ser responsable del incremento en los niveles de metilhistaminuria.

2.3.3. Test de liberación de histamina (TLH)

Se han utilizado distintas técnicas para la determinación de la liberación de histamina por antígenos específicos ^(120, 121). Una de las más utilizadas es la que detecta histamina en sangre total, descrita por Shore ⁽¹²²⁾ y automatizada por Siraganian ⁽¹²³⁾. Se incuba sangre heparinizada con el extracto a estudio y se añade EDTA para parar la liberación de histamina y posteriormente se centrifuga. Los sobrenadantes se decantan y se determina su contenido en histamina con el autoanalizador por métodos fluorimétricos. El porcentaje de liberación de histamina se calcula teniendo en cuenta los picos de fluorescencia del sobrenadante problema y los de la histamina basal y total.

Existen otros métodos de detección de histamina plasmática como el radioenzimoincubación estándar con histamina metiltransferasa que cataliza la formación de C-S-adenosilmetionina. Los niveles de histamina inferiores que detectan son hasta 2 ng/ml ⁽¹²⁴⁾.

Sanz ⁽¹²⁵⁾ considera al test de liberación de histamina como un importante complemento en el diagnóstico de las enfermedades alérgicas en general. En el estudio de las reacciones adversas frente a medicamentos existen resultados dispares en cuanto a su fiabilidad. Su escasa sensibilidad puede ser debida probablemente al bajo PM que poseen la mayor parte de los medicamentos, que les obliga a comportarse como haptenos ⁽⁸⁾, precisando una proteína transportadora para poder desencadenar la respuesta alérgica. En este sentido, Igea ⁽¹²⁶⁾ observa una liberación de histamina significativamente superior con cefazolina tras incubarla con seroalbúmina humana y el grupo de Démoly ⁽¹²⁷⁾ al aplicar este método en el estudio de una serie de pacientes con alergia a antibióticos β -lactámicos, objetivan una baja sensibilidad de la técnica con un alto valor predictivo negativo.

Uno de los inconvenientes de este procedimiento es el hecho de que algunos individuos y también niños con alergia a alimentos, pueden presentar una liberación inespecífica de histamina de modo espontáneo ⁽¹²⁸⁾.

2.3.4. Desgranulación óptica de basófilos

Esta técnica fue descrita por Shelley ⁽¹²⁹⁾, mejorada posteriormente por Hirsch ⁽¹³⁰⁾ y cols y simplificada por Leynadier ⁽¹³¹⁾ y cols para su posterior comercialización. Se basa en la incubación de sangre completa o leucocitos separados previamente, con un determinado medicamento para observar microscópicamente el número de basófilos, teñidos selectivamente con anterioridad, que han desaparecido; es decir, que han desgranulado con el alérgeno. El inconveniente es que si se utiliza sangre completa, se corre el riesgo de no disponer de suficientes basófilos en un 20% de las muestras. Se puede reducir al 1% utilizando medios de separación como dextrano en medio salino al 6% o lavados con tampón tris-ClNH₄ y tris-A. Se

ha observado en el 30% de las muestras una interferencia en la desgranulación, de tipo inespecífico, por factores plasmáticos presentes en la muestra de sangre.

Se considera dudosa una desgranulación entre el 35% y el 50% y, positiva si es superior al 50%. Se ha utilizado para el diagnóstico de hipersensibilidad a metabolitos de la penicilina y aspirina con aceptables resultados aunque es una técnica muy laboriosa y los resultados dependen del personal que realiza la lectura, existiendo una gran variabilidad. Es una técnica sin aplicación clínica actual.

2.3.5. Test de activación de basófilos (TAB)

Esta técnica fue desarrollada inicialmente por Sainte Laudy ⁽¹³²⁾, y determina el porcentaje de basófilos que expresan CD63 como marcador de activación, que se objetiva con citometría de flujo, después de la estimulación con el alérgeno y usando un anticuerpo monoclonal anti-CD63-PE y anti-IgE FITC. Sanz y cols ⁽¹³³⁾ han realizado recientemente modificaciones sobre este test, que en la actualidad tiene un uso limitado a trabajos de investigación.

2.3.6. Test de producción *in vitro* antígeno-específica de sulfidoleucotrienos. Técnica CAST (*Cellular Allergen Stimulation Test*)

La sangre es extraída en tubos con EDTA y la técnica puede realizarse como máximo a las 3 horas de la extracción. Los leucocitos son aislados tras sedimentación con dextrano en tubos estériles de cultivo y 90 minutos de incubación a temperatura ambiente. Una vez incubada la sangre total se centrifuga 15 minutos y se recoge el suero en la parte superior.

La técnica consta de dos partes. Primero se estimulan los leucocitos con el alérgeno, y después se determinan en el sobrenadante los sulfidoleucotrienos liberados mediante un ELISA. Como

control positivo se emplea anti-IgE, el anticuerpo monoclonal Le27⁽¹³⁴⁾ que reconoce diferentes epítopes del receptor para la IgE⁽¹³⁵⁾.

Esta técnica tiene uso en investigación sin ser utilizada de momento en el diagnóstico de reacciones a medicamentos más que de modo experimental. Kubota y cols⁽¹³⁶⁾ la aplicaron en 25 pacientes con reacciones alérgicas inmediatas frente a AINEs obteniendo para una especificidad alta (70-100%), una sensibilidad del 62 al 80%.

2.3.7. Test de transformación linfocítica (TTL)

Esta técnica puede revelar la sensibilización de las células T a través de la respuesta de proliferación de células mononucleares sanguíneas periféricas estimuladas por un medicamento en particular. Para ello se cultiva una muestra de los linfocitos sanguíneos periféricos del paciente, junto con concentraciones no tóxicas del medicamento sospechoso. La respuesta de proliferación estimulada en presencia de dicho medicamento se interpreta como señal de sensibilización de células T específicas para el medicamento. Esta técnica no es de uso habitual sino que se restringe a trabajos experimentales y en la actualidad su especificidad es un asunto controvertido. Autores como Mauri⁽¹³⁷⁾ la encuentran útil y hallan alta especificidad demostrada mediante el establecimiento de líneas y clones de células T farmacospecíficas desde cultivos de TTL. Nyfeler⁽¹³⁸⁾ la considera útil en el diagnóstico de alergia a penicilina.

3. PROBLEMAS DIAGNÓSTICOS PLANTEADOS EN LAS REACCIONES A MEDICAMENTOS

3.1. Limitaciones en el estudio de alergia a medicamentos

El estudio de las reacciones medicamentosas viene marcado por diversas limitaciones, unas de ellas por parte del paciente, otras por parte del fármaco implicado o por el tipo de reacción y otras de carácter técnico.

3.1.1. Por parte del paciente.

El desconocimiento de la especialidad farmacéutica implicada y de la naturaleza de la reacción así como el dilatado tiempo transcurrido entre la reacción y el momento del estudio son las más frecuentes.

3.1.2. Por parte del fármaco.

La composición del medicamento puede contener diversos principios activos. Una dificultad añadida es la naturaleza no proteica de la mayoría de los fármacos que impide la aplicación de algunas técnicas. También el desconocimiento parcial de los metabolitos responsables y/o de las características físico/químicas del fármaco.

3.1.3. Por el tipo de reacción

Frecuentemente nos encontramos frente a reacciones de afectación cutánea y/o mucosa, difícilmente encuadrables en ninguno de los cuatro tipos propuestos por Gell y Coombs ⁽⁶⁾.

Consisten en cuadros con un mecanismo citotóxico celular que plantean problemas en su diagnóstico; y que debido a la gravedad de las lesiones, rara vez puede confirmarse por prueba de exposición.

3.1.4. Limitaciones de carácter técnico.

a) Dificultades en las técnicas *in vivo*. Las pruebas cutáneas en la actualidad sólo están estandarizadas para un pequeño número de principios activos y de metabolitos.

b) Escaso desarrollo de las técnicas *in vitro*, ligado a diversos factores como su baja rentabilidad diagnóstica, la dificultad para unir sustancias de bajo PM a proteínas portadoras así como la imprecisión en la indicación del uso de técnicas existentes para el estudio de cada caso particular.

c) El riesgo potencial de las pruebas de exposición controlada con medicamentos.

3.2. Problemas en distintos tipos de reacciones

En la práctica clínica habitual, es frecuente encontrarse con una serie de dificultades para emitir el diagnóstico de diversas reacciones por medicamentos. Unas veces derivadas de la gravedad y otras de la confluencia de otros factores, las reacciones pueden simular un mecanismo alérgico.

3.2.1. Reacciones graves: anafilaxia y shock anafiláctico

Al enfrentarse al estudio de un paciente que ha sufrido una reacción grave, los métodos diagnósticos actuales disponibles se reducen al no poder asumir el riesgo potencial de las pruebas *in vivo*, especialmente de la prueba de exposición. A veces sólo es posible emitir un

diagnóstico de presunción de probable mecanismo alérgico, contando con la historia clínica y las pruebas cutáneas y/o IgE específica en las limitadas ocasiones en que están estandarizadas y disponibles. En algunos casos se llevan a cabo estudios complementarios individualizados mediante ELISA o *Immunoblotting*.

3.2.2. Reacciones cutáneas en infecciones

Un elevado porcentaje de reacciones de tipo urticaria y/o angioedema, así como erupciones de tipo exantemático se asocian con la administración previa de un medicamento. Frecuentemente se desarrollaron en el transcurso de una infección tras la toma de un antibiótico o antitérmico; o el medicamento sospechoso se administró con otros fármacos, por ejemplo un AINE y un antibiótico betalactámico. Sin embargo al realizar el estudio alergológico para confirmar la posible alergia medicamentosa, éste resulta negativo. Los pacientes toleran posteriormente el o los fármacos implicados, sin volver a repetirse el cuadro ⁽¹³⁹⁻¹⁴²⁾.

4. LA TRIPTASA COMO MARCADOR MASTOCITARIO

4.1. Marcador de activación mastocitaria

La triptasa es un marcador muy útil para estudiar la presencia y el mecanismo de activación de los mastocitos en diferentes enfermedades y reacciones⁽¹⁴³⁾, habiéndose demostrado su elevación en reacciones graves desencadenadas por diversos medicamentos⁽¹⁴⁴⁻¹⁴⁶⁾, por medios de contraste⁽¹⁴⁷⁾ y colorantes utilizados en técnicas diagnósticas de imagen como la fluoresceína^(148, 149). También ha sido utilizada su medición en reacciones alérgicas por alimentos, con resultados dispares^(150, 151). Los grupos de Beyer⁽¹⁵²⁾ y Ohtuska⁽¹⁵³⁾ observan elevaciones de la proteasa mientras que Sampson⁽¹⁵⁴⁾ no objetiva ningún aumento de sus niveles séricos en reacciones anafilácticas. Ha sido útil, en trabajos realizados sobre reacciones tras picaduras de himenópteros^(155, 156).

La cuantificación de los marcadores inflamatorios en las reacciones alérgicas inducidas por medicamentos es una herramienta en la identificación de cualquier tipo de célula implicado, y mejora el conocimiento del desencadenamiento de los distintos mecanismos patogénicos^(157, 158). La detección elevada en sangre tanto de la triptasa total⁽¹⁵⁹⁻¹⁶¹⁾ como de la α -protriptasa, se ha confirmado como fundamental en el diagnóstico de la mastocitosis sistémica, siendo incluso más sensible como método de detección de la enfermedad que la biopsia de médula ósea⁽¹⁶²⁾.

Recientemente se ha cuantificado la β -triptasa exclusivamente, con una nueva técnica⁽¹⁶³⁾, y se han comparado los resultados con los obtenidos por la técnica UniCAP® que detecta triptasa activa e inactiva. El trabajo se realizó con una serie amplia de 97 pacientes que acudieron a urgencias con cuadros de anafilaxia de distinto origen, no sólo por medicamentos. Parece ser que todavía se precisan más estudios para valorar si se puede ganar en sensibilidad⁽¹⁴⁶⁾ con respecto a la técnica actual UniCAP®.

4.2. Triptasa en fluidos corporales en el hombre

Se han detectado niveles elevados de triptasa en diversos fluidos corporales como lágrimas^(38, 164, 165), exudado nasal⁽¹⁶⁶⁻¹⁷¹⁾, exudado de oídos en otitis media serosa⁽¹⁷²⁾, líquido de ampollas y vesículas cutáneas⁽¹⁷³⁾, líquido sinovial intraarticular^(174, 175), esputo⁽¹⁷⁶⁾, lavado broncoalveolar^(177, 178) y suero^(83, 159, 179).

Se ha propuesto que la medición de la triptasa sérica tras reacciones adversas a medicamentos puede ser útil para realizar el diagnóstico de las reacciones que cursen con activación mastocitaria, y en especial las reacciones inducidas por un mecanismo alérgico inmediato. Otros autores han notificado elevaciones de triptasa sérica e histaminuria en reacciones alérgicas sin aumento de la proteína catiónica del eosinófilo, especialmente en anafilaxias de diverso origen que son atendidas en los servicios de urgencias de los centros hospitalarios^(143, 146, 180), anafilaxia idiopática⁽¹⁸¹⁾, así como en un caso de anafilaxia inducida por ejercicio⁽¹⁸²⁾. Existe una publicación sobre una paciente con embolismos de líquido amniótico que presentaba manifestaciones clínicas de anafilaxia donde fue útil la medición de triptasa sérica⁽¹⁸³⁾.

Del mismo modo, se ha medido el nivel de triptasa en el suero de pacientes fallecidos por reacciones anafilácticas graves desencadenadas por alimentos, medicamentos y por picaduras de himenópteros para valorar su utilidad como herramienta de apoyo diagnóstico, objetivándose su elevación^(179, 184).

5. PROBLEMAS MÉDICO-LEGALES EN SERVICIOS DE URGENCIA Y *POSTMORTEM*

Las reacciones graves con compromiso vital que presentan ciertos pacientes que acuden a un servicio de urgencias, provocan en un primer momento cierta confusión diagnóstica sobre todo si se desconoce su origen. Unas veces por falta de colaboración del paciente que acude inconsciente y otras por iniciarse de modo atípico, se tratan en urgencias episodios difíciles de etiquetar ya que puede confundirse una anafilaxia con otros cuadros como una crisis epiléptica⁽¹⁸⁵⁾ o un coma de origen variado.

Podemos encontrarnos en situaciones de urgencia con pacientes que fallecen presuntamente por un shock anafiláctico de causa desconocida, y que son estudiados *postmortem*, para intentar descubrir el desencadenante y el mecanismo de acción de la reacción mortal⁽¹⁸⁶⁻¹⁸⁹⁾. Del mismo modo, se intenta conocer mejor el mecanismo implicado en el desencadenamiento de la muerte en pacientes fallecidos de asma fatal. Los estudios en cadáver pretenden aclarar las causas⁽¹⁹⁰⁾. Se ha intentado utilizar la triptasa como herramienta de apoyo, en situaciones de muerte por causa desconocida, en pacientes que ingresan cadáver en los servicios de urgencias sin ninguna información sobre las posibles causas del éxitus. Los resultados obtenidos son dispares y no siempre se correlacionan adecuadamente con el resto de las pruebas para filiar si el desencadenante pudo ser una reacción alérgica grave, que llevara a la muerte del paciente tras sufrir un shock anafiláctico. Edston⁽¹⁸⁶⁾ encuentra una elevación de los niveles de triptasa, en pacientes fallecidos por otras causas distintas que habían sido seleccionados previamente como controles.

Por otra parte, se han cuantificado varios mediadores en el suero de niños fallecidos por muerte súbita del lactante, en el intento de identificar el mecanismo de acción que desencadena el éxitus

al intuir que, pudiera deberse a una reacción anafiláctica aunque los resultados obtenidos resultan controvertidos y la causa continúa siendo una incógnita ^(191, 192).

En estas situaciones en que se produce el éxitus de los pacientes en circunstancias poco claras o desconocidas, la necesidad de confirmar un diagnóstico de muerte implica serios problemas médico-legales. Por todo ello, ya que en el momento de producirse las reacciones o el fallecimiento no puede realizarse la determinación de triptasa, habría que extraer una muestra de sangre y guardar el suero para posteriormente poder cuantificar la triptasa.

6. REACCIONES GRAVES EN EL TRANCURSO DE LA ANESTESIA GENERAL

Las reacciones adversas que acontecen en quirófano durante la anestesia general están siendo diana de distintas investigaciones en los últimos años ⁽¹⁹³⁻¹⁹⁵⁾. En diversos estudios multicéntricos coordinados entre alergólogos, cirujanos y anestesiastas, se utiliza en el diagnóstico de estas reacciones la medición de varios mediadores como la triptasa sérica y la metilhistamina en orina en muestras recogidas en quirófano tras la reacción para estudiar su mecanismo de acción ⁽¹⁹⁶⁻²⁰¹⁾.

Se aprecia su utilidad para discernir los cuadros clínicos de tipo anafiláctico o anafilactoide, de aquellas reacciones adversas sin implicación mastocitaria que cursan con hipotensión. En los casos de hipotensión sin desgranulación de los mastocitos, los niveles de triptasa sérica no se elevan. Estos trabajos se completan con la determinación de IgE específica y la realización de pruebas cutáneas frente a anestésicos generales ⁽²⁰⁰⁾. No hay que olvidar también la implicación del látex en muchas de estas reacciones, así como la posible participación de antibióticos y analgésicos administrados en el preoperatorio, en quirófano o en el postoperatorio ⁽¹⁹⁸⁾.

Es importante resaltar la importancia de disponer de este material y toda la información obtenidos en el transcurso de la reacción, para poder realizar un diagnóstico adecuado al finalizar el estudio posterior en consulta.

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. HIPÓTESIS

De lo expuesto anteriormente se deduce la dificultad para confirmar el mecanismo implicado en algunas reacciones medicamentosas. La escasez de métodos seguros y fiables, validados y adecuadamente estandarizados como herramientas diagnósticas de este tipo de reacciones, motiva la búsqueda de otras técnicas que puedan ser útiles. Por ello, la determinación de la triptasa sérica nos permitirá seleccionar las reacciones en que se produce una activación y desgranulación del mastocito y descartará aquéllas en cuyo mecanismo no participen las células mastocitarias. Puede tratarse de reacciones desencadenadas por distintos estímulos, entre las que mayoritariamente destacan las mediadas por IgE.

De este modo, es importante estudiar si la detección de incremento en los niveles de triptasa sérica es un método *in vitro* sensible y específico en el estudio de las reacciones a medicamentos, con el objetivo de evitar la realización en algunas situaciones, de los métodos diagnósticos *in vivo*, sobre todo las pruebas de exposición. Estas pruebas conllevan un riesgo implícito de reaparición de los síntomas, pero son en la actualidad, el método diagnóstico de alergia a medicamentos más fiable y definitivo a la hora de emitir un diagnóstico correcto.

2. OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo son los siguientes:

1º- Estandarizar la prueba para la detección de triptasa sérica después de haber padecido una reacción adversa a un medicamento. Valorar su utilidad para diferenciar las reacciones alérgicas de las adversas no alérgicas.

2º- Valorar la utilidad de la medición del incremento de triptasa sérica como ayuda al diagnóstico tras reacciones alérgicas a medicamentos, tanto en las graves con compromiso vital, shock anafiláctico y anafilaxia, como en las más leves de urticaria y/o angioedema cutáneo.

3º- Cuantificar el incremento de triptasa sérica en las reacciones adversas de idiosincrasia a AINEs, para valorar su diferencia con las reacciones alérgicas.

4º- Determinar el tiempo óptimo de extracción de la muestra de sangre para obtener la máxima elevación de triptasa sérica.

5º- Determinar el punto de corte del incremento, que confiera la mayor especificidad y sensibilidad de las dos técnicas existentes de detección de triptasa sérica: RIACT® y UniCAP®.

6º- Comparar la sensibilidad y especificidad de las dos técnicas existentes: RIACT® y UniCAP®, para la cuantificación de triptasa en el suero de pacientes con reacciones adversas a medicamentos.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. SELECCIÓN DE PACIENTES

1.1. Diseño de grupos de pacientes

El estudio se planteó diseñando previamente varios grupos de pacientes que reunieran los tipos de reacciones inmediatas más frecuentes, sobre todo las desencadenadas por la IgE. Su patogenia cursa con la liberación de mediadores mastocitarios que se produce en un período de tiempo que oscila entre minutos y varias horas tras la administración del medicamento. En caso de estar implicados medicamentos del grupo de sulfamidas, se excluyeron las reacciones en pacientes con SIDA, caracterizadas por la aparición de cuadros cutáneos exantemáticos de tipo acelerado o retardado ⁽²⁰²⁾. En esta serie de pacientes no se incluyó ninguno de éstos al no conocerse exactamente su mecanismo de acción, y se aceptaron exclusivamente las reacciones de hipersensibilidad inmediata en sujetos sanos. Se diseñó otro grupo de individuos con intolerancia a AINEs, con síntomas cutáneos y/o respiratorios, demostrada por prueba de exposición.

Para ello se seleccionaron los siguientes grupos:

1- Pacientes con reacción inmediata entre unos minutos y 1-2 horas tras la administración de un medicamento, que presentaran un cuadro clínico compatible con urticaria-angioedema (URT-AE), anafilaxia (ANA) o shock anafiláctico (SA).

2- Pacientes que tras la administración de un medicamento, presentaran exantema morbiliforme, prurito, mareo inespecífico, parestesias y otras manifestaciones clínicas inespecíficas tolerando posteriormente el medicamento. Estas reacciones se englobaron como reacciones adversas no alérgicas (RANA).

3- Pacientes que tras recibir la administración de placebo (PLA) oral con lactosa o parenteral con suero fisiológico, desarrollaran un cuadro inmediato inespecífico de prurito, mareo y eritema o exantema micropapular por rascado.

4- Pacientes que tras recibir un AINE presentaran a lo largo de varias horas, síntomas cutáneos y/o respiratorios. Posteriormente si se demuestra su intolerancia a otros AINEs por prueba de exposición se les incluye en el grupo IDIO o de intolerantes. Si se demuestra su tolerancia a otro AINE pasan a formar parte del grupo 1.

1.2. Origen de los pacientes

Los pacientes fueron seleccionados en el Hospital General Universitario “Gregorio Marañón” de Madrid, concretamente del Servicio de Urgencias y de la Sala de Pruebas a Medicamentos del Servicio de Alergia. Acudieron al Servicio de Urgencias por distintas reacciones tras la toma de medicamentos. Se les propuso su inclusión en el estudio, explicándoles que se valoraría si el análisis de sangre era útil para emitir un diagnóstico más ajustado. Asimismo se les pidió su consentimiento escrito, tras previa y exhaustiva información, para proceder a las extracciones de sangre. Se les realizó el estudio a medicamentos según el procedimiento habitual de consulta. Los pacientes provenientes del Servicio de Alergia, se encontraban en fase diagnóstica para la confirmación de reacciones medicamentosas previas. Todos los sujetos seleccionados definitivamente formaron parte del estudio hasta su finalización pudiendo haberlo abandonado en cualquier momento si así lo hubieran deseado, en cuyo caso habrían quedado excluidos.

Se seleccionaron 66 pacientes de los que el 62,12% provienen de la Sala de Pruebas de Medicamentos del Servicio de Alergia del H.G.U. “Gregorio Marañón” de Madrid, (n= 41) y el 37,87% del Servicio de Urgencias del mismo hospital (n= 25) a lo largo de los años 1993, 1994 y 1995. (Tabla II.)

Tabla II. Distribución de pacientes según origen y tipo de reacción:

	SA	ANA	URT-AE	IDIO	RANA	PLA	TOTAL
Urgencias	5	9	5	1	5	-	25
Sala de Pruebas	2	5	12	11	1	10	41
TOTAL	7	14	17	12	6	10	66

Otros 13 pacientes que pudieron haber participado, no llegaron a concluir el estudio por diversos motivos. Seis abandonaron el estudio, todos ellos procedentes del Servicio de Urgencias del Hospital. La mayoría de éstos eran pacientes de paso en Madrid, que debían volver en uno o dos días a sus lugares de origen sin poder concluir las pruebas diagnósticas. Los otros 7 casos, se trataba de pacientes pertenecientes a otras áreas de salud de Madrid, que decidieron continuar el estudio en sus hospitales de referencia. Todos los pacientes que provenían del Servicio de Alergología, fundamentalmente de la Sala de Pruebas a Medicamentos, accedieron a participar y completar las pruebas diagnósticas. El grado de participación fue muy alto, y cabe destacar la gran disponibilidad de los pacientes que decidieron completar el estudio.

1.4. Edad

Excepto tres pacientes que eran menores de edad, con 17, 16 y 11 años respectivamente, el resto eran adultos, con edades comprendidas entre los 18 y 82 años, con una media de edad de 40 años.

1.5. Sexo

De los 66 sujetos que participaron en el estudio, 20 fueron hombres, que corresponden al 30,30% y 46 mujeres; es decir un 69,69%.

1.6. Consentimiento informado

Todos los pacientes que han participado fueron informados del objeto del estudio y dieron su consentimiento escrito para la toma de las muestras de sangre con motivo de cuantificar la triptasa sérica. Completaron el estudio alergológico *in vivo* e *in vitro*, según el protocolo habitual de estudio de las reacciones adversas a medicamentos, hasta la confirmación del diagnóstico. Los pacientes que decidieron abandonar el estudio y los que no dieron su consentimiento tras recibir la información, fueron excluidos. En el caso de los tres menores de edad, los padres firmaron el consentimiento subrogado. En todo momento se siguieron las pautas de actuación propuestas por la SEAIC para el estudio de reacciones adversas a medicamentos ⁽²⁰³⁾.

1.7. Fases del estudio

1.7.1. Fase 1ª:

- Realización de una historia clínica detallada sobre cada reacción y recogida de todos los datos importantes como: medicamento implicado, vía de administración, signos y síntomas, tiempo de latencia, edad y sexo del paciente.

1.7.2. Fase 2^a:

- Determinación de triptasa sérica en las muestras de sangre extraídas dos horas después de la reacción al medicamento y; en un grupo de pacientes, determinación en varias muestras seriadas en el tiempo. En todos los pacientes se cuantificaron los niveles séricos de triptasa en condiciones basales en muestras de sangre obtenidas una semana más tarde.

1.7.3. Fase 3^a:

- Realización del estudio alergológico de cada paciente para confirmar el diagnóstico de presunción por pruebas cutáneas, determinación de IgE específica y/o test de exposición controlada al medicamento.

2. DEFINICIÓN DE LOS GRUPOS SEGÚN EL TIPO DE REACCIÓN CLÍNICA

2.1. Shock anafiláctico

Reacción inmediata grave generalizada que incluye afectación cutánea, digestiva y/o respiratoria con hipotensión, acompañada o no de pérdida de conocimiento, tras la toma del fármaco.

2.2. Anafilaxia

Se agrupan bajo este epígrafe las reacciones inmediatas graves generalizadas similares al shock anafiláctico pero con valores de tensión arterial normales. Se considera este tipo de reacción de menor gravedad que la anterior.

2.3. Urticaria-angioedema

Los síntomas y signos comprenden prurito cutáneo con lesiones maculopapulosas eritematosas evanescentes, no fijas, y/o edema de aparición inmediata o a lo largo de las primeras 2 horas de la administración del medicamento.

2.4. Intolerancia a AINEs

Reacciones cutáneas (urticaria-angiodema) y/o respiratorias de vías altas y bajas (rinitis y asma) inmediatas o a lo largo de las 6-8 horas siguientes, producidas por más de un fármaco perteneciente al grupo de los AINEs.

2.5. Reacciones adversas a medicamentos no alérgicas

Síntomas y signos diversos que no sugieren mecanismo inmunológico mediado por IgE y que aparecen en relación temporal con la toma de algunos medicamentos. Se confirma que no se trata de una reacción alérgica por la prueba de exposición controlada.

2.6. Grupo placebo

Pacientes que tras la administración de placebo en simple ciego, presentaron síntomas y signos inespecíficos como mareo, parestesias, prurito, malestar o eritema tras rascado.

2.7. Grupo control

Se compone de sueros de población sana no expuesta a medicamentos, que sirvieron para valorar el nivel basal de triptasa. Se han utilizado en la comparación de niveles basales de triptasa sérica entre los distintos grupos de pacientes.

3. ESTUDIO ALERGOLÓGICO. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS *IN VIVO*

3.1. Pruebas cutáneas

Se realizaron pruebas cutáneas a los fármacos implicados en cada caso, según la historia clínica.

a) Antibióticos betalactámicos. Se llevaron a cabo tanto en prick como en ID, con los extractos comerciales de PPL y MDM Allergopen®-Allergopharma, y penicilina G preparada a la concentración de 10.000 UI/ml. La amoxicilina se utilizó a la concentración de 20 mg/ml y las cefalosporinas que estuvieran implicadas a la concentración de 20 mg/ml^(93, 204, 205). Esta técnica está bien estandarizada y avalada por distintos autores y sociedades científicas como rápida, válida, fiable con alta especificidad y sensibilidad^(92, 93, 100, 204, 205).

b) En el caso de trimetoprim-sulfametoxazol en prick se utilizó el preparado intravenoso (Soltrim®) que contiene 800 mg de sulfametoxazol y 160 mg de trimetoprim, y para ID se diluyó al 1/1000.

c) En las reacciones desencadenadas por analgésicos se practicó la prueba cutánea sólo en el caso de las pirazonas (dipirona magnésica o metamizol y propifenazona), de forma pura para el estudio en prick-test y a 10 mg/ml en ID.

d) En las reacciones desencadenadas por medicamentos de estandarización no disponible, los extractos se prepararon en el laboratorio de Alergia ubicado en el Pabellón de Medicina y Cirugía Experimental del H.G.U. “Gregorio Marañón” de Madrid. Se siguieron los pasos para obtener un extracto esterilizado a la concentración óptima que no resultara irritante, para las pruebas cutáneas, glicerinando al 50% las muestras destinadas para su utilización en prick-test y, manteniendo en solución acuosa las reservadas para ID. Las pruebas cutáneas en ID se iniciaron

a una concentración que corresponde a la dilución 1/10000 de la utilizada en el prick-test, aumentando la misma a 1/1000, 1/100 y 1/10 hasta conseguir la positividad, utilizándose como controles a sujetos sanos para confirmar que el extracto no fuera irritante.

3.1.1. Prick-test

Se realizaron por la técnica de prick-test en el borde antecubital de los antebrazos. Antes de aplicar los alérgenos, se limpió la piel con alcohol etílico esperando a que estuviera totalmente seca. Se utilizaron lancetas Allergy pricker de acero esterilizadas de un solo uso Dome Hollister Stier-Bayer®, con una punta de 1 mm y topes a los lados que impiden la penetración de la punta más allá de la epidermis. Se presionó con la lanceta manteniendo un ángulo de 90 grados con la superficie cutánea, a través de la gota de la solución en estudio. A los 15 minutos se realizó la lectura de las pruebas dibujando el contorno de la pápula eritematosa con un rotulador de punta fina, transfiriéndose posteriormente con un papel adhesivo transparente a una hoja de papel. De este modo se midieron los diámetros mayor y menor de la pápula quedando constancia de su morfología.

Se incluyó un control negativo con solución salina al 0,9% y un control positivo con histamina a 10 mg/ml, para comprobar la existencia de una reactividad cutánea adecuada.

3.1.2. Intradermorreacción (ID)

Se realizaron en el borde antecubital de los antebrazos, dejando 3 cm entre los más próximos. Se inyectó una cantidad de 0,02 cc con una jeringuilla Plastipak® de modo intradérmico y se esperó 15 minutos para la lectura del resultado. El resultado fue recogido en una hoja de papel del mismo modo que en el prick-test.

Se incluyó el control negativo con suero salino y un control positivo con histamina a la concentración de 0,1 mg/ml.

3.2. Prueba de exposición controlada con medicamento

El objetivo al realizar esta prueba diagnóstica, consistió en reproducir las condiciones de la reacción en dosis del medicamento y período de latencia. Fue necesario recurrir a esta prueba de confirmación diagnóstica cuando la historia clínica no era muy sugerente y las pruebas cutáneas así como los estudios *in vitro* resultaron negativos o dudosos. La metodología empleada fue la prueba de exposición oral controlada simple ciego con placebo, siguiendo las pautas dictadas por el comité de medicamentos de la SEAIC ⁽¹⁰²⁾. Se comenzó por dosis pequeñas, entre 1/16 y 1/8 de la dosis terapéutica. Se esperó una hora antes de administrar la siguiente dosis si la respuesta a la anterior fue negativa, y en el caso de los posibles intolerantes a AINEs este periodo de tiempo se prolongó tres horas asociándose un registro de pico-flujo cada 30 minutos, si los síntomas referidos eran de asma. En los casos de respuesta positiva, con reaparición de los síntomas, se suspendió la prueba de exposición y se administró inmediatamente 0,5 cc de adrenalina subcutánea al 1/1000, repitiendo la dosis a los 15 minutos. También se administró 6 mg de maleato de dexclorfeniramina subcutánea, así como 40 mg de 6-metilprednisolona IM o IV cuando se consideró necesario, y suero salino de mantenimiento para mantener una vía intravenosa. Si entre los síntomas desencadenados existía broncoespamo, se administró oxigenoterapia y aerosoles con 1 cc de salbutamol en 3 cc de suero fisiológico. El paciente quedaba en observación hasta comprobar que los síntomas habían remitido, entre 6 y 24 horas, según la gravedad de la reacción.

4. ESTUDIO ALERGOLÓGICO. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS *IN VITRO*

4.1. Determinación de IgE específica frente a penicilina y amoxicilina

Se realizó mediante el método CAP® de Pharmacia Diagnostics (Upssala, Sweden) mediante fluoroenzimoinmunoensayo. Se determinó la presencia de IgE específica frente a penicilina G, penicilina V y amoxicilina.

4.1.1. Principio del procedimiento

Se incuba el suero del paciente con el medicamento (penicilina o amoxicilina) unido covalentemente a una base cilíndrica del InmunoCAP. Después de lavar se añaden anticuerpos antiIgE humana marcados con una enzima. Tras la incubación se lava de nuevo y posteriormente el complejo se incuba con un sustrato. Después de parar la reacción se mide la emisión de luz por la fluorescencia en un detector FluoroCount 96. La intensidad de la luz es directamente proporcional a la concentración de la IgE específica presente en la muestra.

4.1.2. Equipo Pharmacia CAP System

Se ubica en el laboratorio de inmunología del Servicio de Inmunología del H.G.U. “Gregorio Marañón” de Madrid, que consta del equipo y el programa informático necesarios. El equipo incluye un aparato de posición de muestras (*Position Guide 96*), un dispensador de CAP (*ImmunoCAP dispenser*), placas de ensayo, un aparato automático lavador (*Assay Washer 96*) y un contador de fluorescencia (*FluoroCount 96*). También incluye un programa informático “Phamas” que permite preparar, manejar y procesar los ensayos, recoger y evaluar los datos obtenidos y finalmente emitir los informes correspondientes.

4.1.3. Reactivos

- Anti-IgE marcada con Beta-galactosidasa (anticuerpo monoclonal obtenido de conejo):
Anticuerpo monoclonal IgG anti IgE humana obtenido de conejo y unido a la enzima galactosidasa.
- Solución de revelado (4-metilumbeliferil-beta-D-galactósido)
- Solución de parada
- Anti-IgE immunoCAP (antisuero obtenido en oveja)
- IgE humana obtenida de pacientes con mieloma IgE. Concentraciones: 0,35; 0,7; 3,5; 17,5; 50 y 100 kU/l.
- ImmunoCAP con penicilina o con amoxicilina

4.1.4. Procedimiento

Volumen en cada pocillo:

Muestra	50 μ l
Complejo enzima-antiIgE	50 μ l
Solución de desarrollo	50 μ l
Solución de parada.....	400 μ l

Tiempo de incubación :

1 ^a incubación	30 \pm 5 min
2 ^a incubación	50 \pm 10 min
3 ^a incubación	10 \pm 1 min

Temperatura de incubación: 18-32° C.

Procedimiento de la prueba: los ensayos se realizaron por duplicado de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

4.1.5. Características del ensayo

Coefficiente de variación: < 10%.

Límite teórico de detección: 0,35 kU/l.

Rango de referencia: < 0,7 kU/l.

Límite de detección práctico máximo: 100 kU/l.

Los resultados se expresan en kU/l (kilounidades/litro) y se consideran positivos los superiores a 0,35 kU/l.

4.2. Determinación de triptasa sérica por método RIACT®

El sistema Pharmacia Triptasa RIACT® es un método cuantitativo para la determinación de triptasa sérica de los mastocitos humanos. La técnica utilizada para la detección de triptasa fue la descrita por Enander ⁽²⁰⁶⁾ en 1991 mejorando un inmunoensayo anterior ⁽²⁰⁷⁾. Se basa en un radioinmunoensayo que utiliza anticuerpos monoclonales antitriptasa, G5 en la fase sólida y G4 como detector a modo de “sandwich”. Con este método se reconoce solamente la triptasa inactiva o β -triptasa.

4.2.1. Recogida de la muestra de sangre

Para la determinación de triptasa sérica por el sistema RIACT® Pharmacia, se recogió la muestra hemática 2 horas después de iniciarse la reacción y se siguieron estos pasos:

- Extracción de muestras (5 ml) de sangre por venopunción con tubos Vacutainer® SST con silicagel en condiciones estériles.
- Coagulación en reposo a temperatura ambiente (20-25° C) entre 60-120 minutos.
- Centrifugación durante 10-15 minutos a 3500 rpm, para separar el suero.
- Obtención del suero, preparación de alícuotas de 200 microlitros y congelación a -70° C hasta el momento de ser analizadas en un mismo ensayo clínico.

La recogida de las muestras de sangre se practicó en las mismas condiciones en todos los pacientes, una vez 2 horas después de la reacción por el medicamento; y otra una semana después para disponer del valor de triptasa basal de cada uno de ellos.

Las muestras de sangre seriadas a lo largo de las primeras 4-6 horas postreacción en ocho pacientes, se obtuvieron mediante una llave de tres pasos en el catéter iv que les fue colocado para la administración de sueroterapia y medicación en el período de tiempo que permanecieron en observación, hasta su total recuperación.

4.2.2. Principio del procedimiento

Consiste en un radioinmunoensayo en fase sólida. En este ensayo la β -triptasa de la muestra reacciona simultáneamente con el anticuerpo anti-triptasa en fase sólida (unido a la pared del tubo de ensayo) y con la anti-triptasa ^{125}I en fase líquida, formando un complejo: anti-triptasa - triptasa - anti-triptasa ^{125}I . Tras el tiempo de incubación, el ^{125}I que no se ha fijado se elimina por lavado. La radioactividad que permanece es directamente proporcional a la concentración de triptasa en la muestra.

El límite inferior de detección de este ensayo es de 0,5 U/l (1 U= 1 μg de triptasa humana de pulmón purificada). Los coeficientes de variación en el ensayo y entre ensayos varían entre 1,7 y

2,8 U/l. El valor normal se considera < 2 U/l y el rango patológico > 5 U/l, según lo establecido por Schwartz⁽¹⁴³⁾.

4. 3. Determinación de triptasa sérica por método UniCAP®

Es un método cuantitativo para la determinación de triptasa sérica activa (α -triptasa) e inactiva (β -triptasa) de los mastocitos humanos. Se determinó la triptasa sérica en un grupo de pacientes seleccionados, mediante el fluoroenzimoinmunoensayo InmunoCAP (Pharmacia-Upjohn, Uppsala, Suecia), según las instrucciones del fabricante de modo automatizado. Schwartz y cols⁽²⁰⁸⁾ han desarrollado este nuevo sistema de detección de triptasa basado en el anticuerpo monoclonal B12 que puede cuantificar la triptasa activa e inactiva.

Estas mediciones se llevaron a cabo en Uppsala (Suecia), gracias a la colaboración de la Dra. J. Nystrand del Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Pharmacia-Upjohn.

4.3.1. Principio del procedimiento.

Consiste en un fluoroenzimoinmunoensayo. La anti-triptasa unida covalentemente al InmunoCAP reacciona con la triptasa del suero. Posteriormente se añaden anticuerpos ligados a la enzima y se forma un complejo. Tras la incubación el complejo enzima-anti-triptasa no unido es eliminado por lavado y el complejo final es incubado en solución de desarrollo. Tras parar la reacción se mide la fluorescencia del eluido que será proporcional a la concentración de triptasa en la muestra de suero.

Se ha asignado el valor de 1U/l a la cantidad de $1\mu\text{g/l}$ de estas preparaciones. Los valores de triptasa sérica superiores a $13,25\mu\text{g/l}$ son considerados por la casa comercial como elevados.

5. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

5.1. La variable triptasa

5.1.1. Definición de la variable

La cuantificación de los niveles de triptasa sérica es la variable de tipo cuantitativo que vamos a manejar.

5.1.2. Métodos estadísticos

La normalidad de esta variable se estudió mediante el test de normalidad de Shapiro-Wilks. Como ésta resultó ser no normal, para la comparación de los distintos grupos de sujetos se utilizó el test de Kruskal-Wallis. Como tests de comparaciones múltiples se utilizaron tests de U de Mann-Whitney. Se controló la tasa de error experimental mediante el ajuste de Bonferroni. Para la comparación de los valores basales de triptasa con los obtenidos en el pico, y para la comparación de las dos técnicas (RIACT® y UniCAP®) para comparar valor basal con basal y pico con pico, realizadas en los mismos sujetos, se utilizó el test de los rangos con signo de Wilcoxon para datos pareados.

Para la obtención de las correlaciones se aplicó la rho de Spearman ⁽²⁰⁹⁾.

Para el cálculo de los incrementos se utilizaron el valor de triptasa basal y postreacción obtenidos en cada uno de los pacientes. Se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Incremento de triptasa sérica} = \frac{\text{Pico de triptasa} - \text{triptasa basal}}{\text{Triptasa basal}} \times 100$$

5.1.3. Expresión de resultados

Los resultados se presentan como mediana (percentil 25; percentil 75). El límite de confianza es del 95%, para todos los análisis estadísticos se definió como significativo el valor de p bilateral inferior a 0,05. La valoración de la capacidad diagnóstica de la triptasa se realizó mediante curvas de rendimiento diagnóstico, o curvas ROC ⁽²¹⁰⁾ (características operativas del receptor o *receiver operating characteristics*).

Los incrementos se expresaron en porcentaje %.

5.2. Valoración de la capacidad diagnóstica

Para determinar la validez interna de la serie de pacientes de la muestra, fue fundamental valorar la sensibilidad y especificidad de los incrementos de triptasa.

Sensibilidad: es la capacidad del test de identificar correctamente a pacientes con la enfermedad. Probabilidad de que un sujeto con la enfermedad de positivo en el test. Es el porcentaje de *verdaderos positivos*. Los sujetos con la enfermedad que dan negativo en el test se llaman *falsos negativos*.

Especificidad: es la capacidad del test de identificar correctamente a los sujetos que no tienen la enfermedad. Probabilidad de que un sujeto sano de negativo en el test. Es el porcentaje de *verdaderos negativos*. Los sujetos sanos que dan positivo en el test son los *falsos positivos*.

5.3. Curvas COR o ROC

Al tratarse de una variable pronóstica cuantitativa, el primer problema fue determinar el punto de corte óptimo que separara un resultado negativo de uno positivo, buscar el equilibrio entre la sensibilidad y la especificidad. Como los valores en sujetos sanos y enfermos habitualmente se solapan, se usa un punto de corte en la zona de solapamiento que puede ser variado para alterar la sensibilidad y especificidad del test.

Una curva ROC es una forma muy útil de presentar las características de un test de diagnóstico continuo (fig. 1). Es una gráfica que tiene en el eje X la proporción de falsos positivos (1-especificidad) y en el eje Y la proporción de verdaderos positivos (sensibilidad). A medida que se cambia el punto de corte, se obtienen diferentes parejas de valores de 1-especificidad y sensibilidad que se representan como puntos. La unión de esos puntos es la curva ROC.

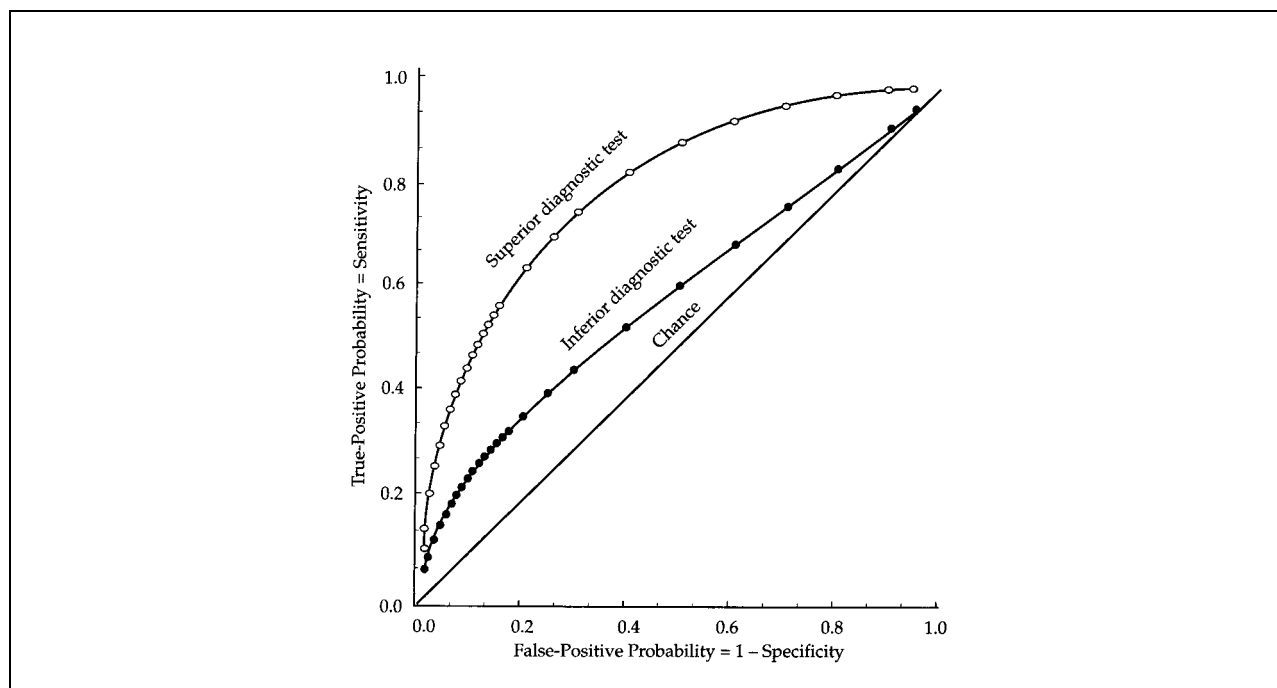


Fig. 1. Curva ROC. *Superior diagnostic test*= test diagnóstico superior; *Inferior diagnostic test*= test diagnóstico inferior; *Sensitivity*= sensibilidad; *True positive probability*= probabilidad de verdaderos positivos; *False positive probability*= probabilidad de falsos negativos; *Specificity*= especificidad. (Figura obtenida de Lang TA y Secic M. How to Report Statistics in Medicine: Annotated Guidelines for Authors, Editors, and Reviewers. ACP, Philadelphia. 1997 ⁽²¹¹⁾).

Cuanto más se aleja la curva ROC de la diagonal, mejor es el procedimiento diagnóstico. Una manera de cuantificar ese alejamiento es mediante el área bajo la curva. Como ambos ejes van de 0 a 1, el área estará comprendida entre 0,50 (nula eficacia) y 1 (máxima eficacia). Representa la probabilidad de que un sujeto enfermo tenga un valor más anormal que un sujeto sano, en este caso, que un sujeto con reacción alérgica tenga un valor de triptasa más alto que uno sano. Se considera que valores comprendidos entre 0,5 y 0,7 indican baja exactitud, entre 0,7 y 0,9 pueden ser útiles para algunos propósitos y un valor mayor de 0,9 indica exactitud alta ⁽²¹²⁾.

El punto de corte óptimo, desde el punto de vista estadístico, viene dado por la combinación de máxima sensibilidad y especificidad, y es el que tiene como coordenadas al punto en el que la curva más se aleja de la diagonal (fig. 2). A veces, puede haber criterios económicos o médicos que hagan variar el punto de corte.

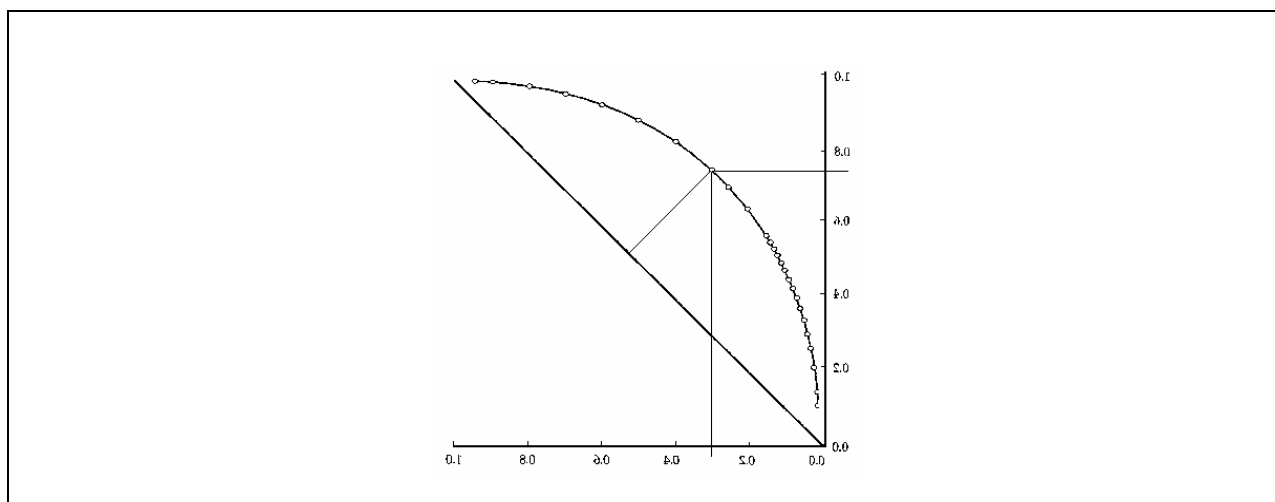


Fig. 2. Curva ROC, punto de corte óptimo.

5.4. Soporte informático

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa informático SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) para Windows v 9.0. Para el cálculo de los intervalos de confianza para porcentajes se utilizó Epicalc 2000 v1.02. Para correlaciones Simcalc 1.0. Provalis Research.

IV. RESULTADOS

1. MEDICAMENTOS IMPLICADOS EN LAS DISTINTAS REACCIONES

Se seleccionaron 66 pacientes, 56 de los cuales habían presentado una reacción tras la administración de un medicamento y 10, sufrieron reacciones tras la exposición a placebo (Tabla III).

Los dos grupos farmacológicos más frecuentes fueron los AINEs en 25 casos que corresponden al 44,60% y los antibióticos betalactámicos causantes del 35,70% en 20 reacciones.

Tabla III. Medicamentos implicados en las distintas reacciones

	SA	ANA	URT-AE	IDIO	RANA	TOTAL
AAS		3	1	2	1	7
Indometacina				6		6
Dipirona	1	1	2			4
Paracetamol			2	1		3
Propifenazona		2				2
Naproxeno				1		1
Salsalato				1		1
Isonixina				1		1
Amoxicilina	3	3	5		2	13
Cefadroxilo			1			1
Cefaclor					1	1
Cefuroxima			1			1
Penicilina			1			1
MDM		1	1			2
PPL			1			1
Acido pipemídico		1				1
Trimetoprím		2				2
Cotrimoxazol	1					1
Eritromicina	1					1
Metronidazol+espiramicina					1	1
Nitrofurantoína			1			1
Polen en grano			1			1
Albúmina sérica bovina	1					1
Fluoresceína		1				1
Oxibutina					1	1
TOTAL	7	14	17	12	6	56

1.1. AINEs

Desglosando por tipo de medicamentos el grupo de las 25 reacciones protagonizadas por AINEs cabe destacar la importancia del ácido acetilsalicílico (AAS) causante de reacciones en 7 ocasiones, y de las pirazolonas; especialmente la dipirona magnésica (metamizol), implicada en 4 casos y la propifenazona en 2. La indometacina provocó reacciones en 6 pacientes. Otros AINEs a destacar fueron el paracetamol en 3 casos, y la isonixina, el salsalato y el naproxeno implicados cada uno en una reacción (Tabla IV).

Para la confirmación del diagnóstico de IDIO fue preciso realizar una prueba de exposición oral controlada simple ciego con placebo con otro AINE potente (AAS o indometacina) en todos los casos en que estuviera implicado uno de ellos.

Las pirazolonas protagonizaron el cuadro clínico, 4 por dipirona y 2 por propifenazona; en primer lugar se realizaron pruebas cutáneas en prick-test y si éste resultaba negativo, se procedió a la intradermorreacción. Las pruebas cutáneas resultaron positivas en los 6 casos que se etiquetaron como reacciones alérgicas.

Tabla IV. Diagnóstico de confirmación en reacciones protagonizadas por AINEs

Medicamento	Prick-test(+)	ID(+)	Prueba de exposición(+)	TOTAL
AAS			7	7
Indometacina			6	6
Dipirona	1	3		4
Paracetamol			3	3
Propifenazona		2		2
Naproxeno			1	1
Salsalato			1	1
Isonixina			1	1
TOTAL	1	5	19	25

1.2. Antibióticos y antiinfecciosos

Los antibióticos fueron los causantes de los síntomas en un total de 27 pacientes que corresponde al 48,20%, detallando a continuación cuáles fueron los implicados. De los 20 casos desencadenados por betalactámicos, 13 fueron causadas por amoxicilina, la penicilina y distintas cefalosporinas completaron este grupo. En un paciente fue un macrólido, la eritromicina, la causa de un SA. El ácido pipemídico del grupo de quinolonas fue causante de un cuadro de ANA. Tres pacientes presentaron reacciones graves por trimetoprim (TMP), en una de ellas asociado a sulfametoxazol, confirmándose la sensibilización inmediata a ambos por prick-test positivo. También hubo una urticaria por nitrofurantoína y una RANA por metronidazol-espíramicina (Tabla V).

Tabla V. Diagnóstico de confirmación en reacciones por antibióticos y antiinfecciosos

Medicamento	Prick-test (+)	Prick-test (+) e IgE > 0,35 kU/l	ID (+)	IgE específica > 0,35 kU/l	Prueba de exposición (+)	TOTAL
Amoxicilina		4	2	1	6	13
Cefadroxilo					1	1
Cefaclor					1	1
Cefuroxima			1			1
Penicilina					1	1
MDM		2				2
PPL			1			1
Ac. Pipemídico					1	1
Trimetoprim					2	2
Cotrimoxazol	1					1
Eritromicina					1	1
Metronidazol+Espiramicina					1	1
Nitrofurantoína					1	1
TOTAL	1	6	4	1	15	27

1.3. Miscelánea

El grupo miscelánea se compone de medicamentos menos frecuentemente implicados, probablemente por ser escasamente utilizados. Cabe destacar los siguientes: fluoresceína, albúmina sérica bovina (BSA) del preparado de orgoteína, oxibutina y polen en grano.

1.3.1. La **fluoresceína** intravenosa causó un cuadro de anafilaxia en una paciente que se sometía por tercera vez a una angiografía, habiendo presentado reacciones leves en las dos anteriores. Las pruebas cutáneas en prick-test con fluoresceína a la concentración de 200 mg/ml y la intradermorreacción a 2 mg/ml fueron positivas, con 15 controles negativos, resultado que apoya la existencia de un mecanismo inmediato mediado por IgE ⁽¹⁴⁸⁾.

1.3.2. La **BSA** fue la causante de una reacción muy grave al desencadenar un shock anafiláctico tras ser administrada por vía intraarticular. En el estudio *in vitro* se confirmó la presencia de IgE específica frente a la BSA, contaminante del preparado. Esta proteína es en realidad un excipiente del preparado comercial que se inyectó acompañando a la orgoteína ⁽²¹³⁾.

1.3.3. La **oxibutina** produjo una reacción exantemática leve que se etiquetó como RANA. La exposición oral controlada simple ciego con placebo resultó negativa.

1.3.4. En el caso del **polen en grano**, fue considerado como medicamento porque el paciente lo tomaba con fines curativos, según prescripción facultativa de un médico naturista. En esta ocasión se sumó el desconocimiento de la sensibilización del paciente al polen, ya que con anterioridad nunca había presentado síntomas en primavera.

1.4. Vía de administración

En casi todos los casos la administración de los medicamentos había sido por vía oral, excepto en 5 pacientes que recibieron medicación por vía parenteral, uno por vía intravenosa (fluoresceína), otra por inyección intraarticular (orgoteína) y en otros 3 pacientes por vía subcutánea o intradérmica (β -lactámicos). En cuanto a la gravedad de los síntomas, se puede señalar que en dos casos de administración parenteral se produjo un cuadro clínico grave con manifestaciones generalizadas multisistémicas desencadenando una anafilaxia en el caso de la fluoresceína y un shock anafiláctico tras la inyección intraarticular de orgoteína. De todos modos también hubo incrementos de triptasa muy llamativos en reacciones graves desencadenadas por medicamentos administrados por vía oral, como es el caso de varias reacciones sistémicas por amoxicilina.

1.5. Tiempo de latencia

El tiempo de latencia desde la administración del fármaco hasta la aparición de los primeros síntomas, varió muy poco entre nuestros pacientes alérgicos (tabla VI). Todos ellos presentaron reacciones inmediatas entre unos minutos y 1 hora y $\frac{1}{2}$ tras la administración del medicamento.

El período de latencia fue más amplio en los casos de idiosincrasia a AINEs, que fluctuó entre los 30 minutos y 3 horas, y los valores pico de triptasa fueron muy próximos a los niveles basales.

Tabla VI. Relación entre el tiempo de latencia y los valores de triptasa detectada postreacción

T° de latencia m = minutos	SA Triptasa	ANA Triptasa	URT-AE Triptasa	IDIO Triptasa
5 m	53,04 U/l 27,50 U/l	66,21 U/l	1,08 U/l 0,98 U/l	
10 m	4,09 U/l	9,05 U/l 1,36 U/l 1,07 U/l	1,05 U/l 0,74 U/l	
15 m			2,60 U/l 0,93 U/l 0,54 U/l	0,78 U/l
20 m				1,15 U/l 0,67 U/l
30 m	5,87 U/l	2,04 U/l 1,47 U/l	2,25 U/l 0,85 U/l 0,70 U/l	2,50 U/l
35 m		0,80 U/l		
40 m	20,70 U/l 6,32 U/l		0,94 U/l 0,88 U/l	
45 m	5,86 U/l			
50 m		1,94 U/l		
60 m		4,83 U/l 1,30 U/l 1,29 U/l 1,40 U/l 1,22 U/l	1,10 U/l 0,82 U/l	0,94 U/l 0,65 U/l
90 m		1,30 U/l	1,41 U/l 1,14 U/l 0,66 U/l	0,73 U/l 0,68 U/l
120 m				1,40 U/l 0,73 U/l 0,67 U/l
180 m				0,79U/l

1.5.1. La correlación entre el tiempo de latencia y el pico de triptasa obtenido en el conjunto de todas las reacciones alérgicas y de idiosincrasia, se expresa a continuación:

rho de Spearman= -0,3 (IC 95%: -0,53; -0,02) p = 0,034

1.5.2. La correlación entre el tiempo de latencia y el pico de triptasa obtenido en las reacciones alérgicas (SA, ANA y URT-AE), con exclusión de las reacciones de IDIO, que de por sí tienen un tiempo de latencia mayor y pueden artefactar el resultado, es la siguiente:

rho de Spearman= -0,16 (IC 95%: -0,45; 0,16) p= 0,329

Al considerar en conjunto las reacciones alérgicas y las de idiosincrasia, se obtiene una correlación muy débil. Sin embargo, si se excluyen las reacciones idiosincrásicas, no se observa correlación entre los niveles postreacción de triptasa sérica detectados y el tiempo de latencia transcurrido.

Por tanto, no existe asociación estadísticamente significativa entre el tiempo de latencia y el nivel pico de triptasa sérico obtenido en las reacciones alérgicas graves y leves a medicamentos.

2. RESULTADOS DE NIVELES BASALES DE TRIPTASA

Tabla VII. Valores basales de triptasa sérica en U/l, medidos por la técnica RIACT®

Shock anafiláctico	Anafilaxia	Urticaria-Angioedema	Idiosincrasia	Placebo	Reacciones adversas no alérgicas	Sueros control
n= 7	n= 14	n= 17	n= 12	n= 10	n= 6	n= 10
0,67 U/l	0,59 U/l	0,50 U/l	0,58 U/l	0,60 U/l	0,68 U/l	0,64 U/l
0,70 U/l	0,66 U/l	0,50 U/l	0,60 U/l	0,64 U/l	0,80 U/l	0,65 U/l
0,84 U/l	0,67 U/l	0,51 U/l	0,61 U/l	0,80 U/l	0,80 U/l	0,70 U/l
0,88 U/l	0,67 U/l	0,62 U/l	0,67 U/l	0,80 U/l	0,84 U/l	0,73 U/l
0,89 U/l	0,70 U/l	0,67 U/l	0,69 U/l	0,80 U/l	0,95 U/l	0,73 U/l
0,95 U/l	0,70 U/l	0,67 U/l	0,70 U/l	0,87 U/l	1,74 U/l	0,74 U/l
1,17 U/l	0,77 U/l	0,67 U/l	0,70 U/l	1,04 U/l		0,75 U/l
	0,88 U/l	0,70 U/l	0,72 U/l	1,06 U/l		0,78 U/l
	0,91 U/l	0,71 U/l	0,73 U/l	1,06 U/l		0,95 U/l
	0,92 U/l	0,74 U/l	0,80 U/l	1,16 U/l		1,00 U/l
	0,99 U/l	0,77 U/l	0,80 U/l			
	1,00 U/l	0,82 U/l	0,86 U/l			
	1,08 U/l	0,85 U/l				
	1,24 U/l	0,96 U/l				
		0,96 U/l				
		1,02 U/l				
		1,02 U/l				

Se valoró el comportamiento de los niveles basales de triptasa por la técnica RIACT® en los pacientes pertenecientes a los grupos SA, ANA, URT-AE, IDIO, PLA y RANA; y también en un grupo control de población sana no expuesta a medicamentos (Tabla VII).

Los resultados se expresan a continuación, calculando la mediana de los niveles basales en cada grupo y sus percentiles 25 y 75.

Grupos de reacciones	Triptasa basal Mediana (p25; p75)	Técnica RIACT®
SA y ANA	0,77 U/l (0,71; 1,00)	p= 0,239
URT-AE	0,84 U/l (0,73; 0,85)	
IDIO	0,72 U/l (0,61; 0,81)	
RANA	0,82 U/l (0,68; 1,1)	
PLA	0,84 U/l (0,76; 1,06)	
CONTROL	0,74 U/l (0,69; 0,82)	

Tabla VIII. Valores basales de triptasa sérica en U/l, medidos por la técnica UniCAP®

Shock anafiláctico y Anafilaxia	Urticaria-Angioedema	Idiosincrasia	Controles
n= 13	n= 14	n= 9	n= 10
3,03 U/l	2,60 U/l	1,50 U/l	2,40 U/l
3,27 U/l	2,90 U/l	1,70 U/l	2,60 U/l
3,35 U/l	2,99 U/l	1,70 U/l	2,60 U/l
4,00 U/l	3,10 U/l	2,45 U/l	2,90 U/l
4,30 U/l	3,21 U/l	2,70 U/l	3,20 U/l
4,98 U/l	3,50 U/l	2,99 U/l	3,30 U/l
5,15 U/l	4,20 U/l	5,80 U/l	4,20 U/l
6,81 U/l	4,23 U/l	6,77 U/l	5,10 U/l
7,02 U/l	4,73 U/l	7,30 U/l	6,80 U/l
7,14 U/l	5,03 U/l		7,20 U/l
7,77 U/l	5,17 U/l		
7,88 U/l	6,60 U/l		
9,10 U/l	8,55 U/l		
	9,20 U/l		

Se estudió también por la técnica UniCAP®, el comportamiento de los niveles basales de triptasa en los pacientes seleccionados pertenecientes a los grupos SA, ANA, URT-AE, IDIO así como el grupo control de población sana no expuesta a medicamentos (Tabla VIII). Los resultados se expresan a continuación, valorando la mediana de los niveles basales en cada grupo y su amplitud intercuartílica (p25 y p75).

Grupos de reacciones	Triptasa basal Mediana (p25; p75)	Técnica UniCAP®
SA y ANA	4,98 U/l (3,31; 7,46)	p= 0,202
URT-AE	4,48 U/l (3,16; 6,79)	
IDIO	2,90 U/l (1,70; 6,65)	
CONTROL	3,10 U/l (2,60; 5,53)	

Los niveles basales de los pacientes que sufrieron reacciones alérgicas graves y los demás grupos, mostraron niveles basales de triptasa similares y superponibles a los del grupo control de sueros de personas sanas no expuestas a medicamentos. Los valores basales obtenidos con ambas

técnicas (RIACT® y UniCAP®) no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos (Tablas VII y VIII).

2.1. MT “Missing tubes”

Se denomina de este modo, a los tubos de suero cuyo nivel de triptasa fue menor que el umbral inferior de detección. Se consideran por debajo del nivel de detección.

2.1.1. Técnica RIACT®

Al utilizar la técnica RIACT® para determinar los valores basales en suero de la triptasa en los pacientes estudiados, se obtuvo en 9 casos un resultado inferior al mínimo que la técnica puede detectar, que fueron considerados como MT (“missing tubes”) y se les adjudicó el mínimo valor detectado en la técnica. En la distribución por grupos según los síntomas, se objetivó este hallazgo en cuatro reacciones graves (ANA y SA) que representan el 40% de los MT y el 8,5% de los SA y ANA. También se observó en 4 URT y en un sujeto control, en esta ocasión también fue MT por la técnica UniCAP®. En cuanto a los medicamentos implicados, el 50% de los casos fue protagonizado por AINEs, 5 casos de los 9 MT, otros 3 fueron desencadenados por antibióticos.

2.1.2. Técnica UniCAP®

Al utilizar el método UniCAP® en la medición de triptasa sérica, se observa que sólo en un caso el ensayo dio un valor de MT que con esta técnica es $< 1,0$ U/l; y correspondió al suero de un sujeto control.

3. VARIACION DE LOS VALORES DE TRIPTASA SÉRICA CON LA TÉCNICA RIACT®

3.1. Incremento de triptasa sérica vs el valor absoluto postreacción

Para los valores absolutos bajos de triptasa sérica observados en niveles basales y en las discretas elevaciones de las reacciones más leves, tanto la técnica RIACT® como la UniCAP® utilizadas son de escasa utilidad. Cuando no se aprecian diferencias por ser tan cercanos unos a otros, no se puede saber si ha existido una elevación absoluta de triptasa.

Desde un principio se consideró en cada sujeto el valor basal individual y el obtenido después de la reacción, al existir una gran variabilidad de los valores. Por esta razón se optó por tener en cuenta también el valor de triptasa sérica basal de cada sujeto y considerar de este modo el incremento de forma individual y por grupos en vez de los valores absolutos. Se prefirió utilizar las curvas ROC, para intentar obtener un punto de corte óptimo y considerar el incremento objetivado en cada paciente, en lugar del valor absoluto cuantificado en la medición de triptasa sérica tras la reacción.

3.2. Incremento global de todas las reacciones

Al analizar el incremento de los niveles de triptasa sérica determinada mediante la técnica RIACT® en cada una de las reacciones, se consideran las variaciones entre el valor basal y el obtenido a las 2 horas de la reacción o, el pico objetivado tras seriar las determinaciones. Se incluyen todos los pacientes de los siguiente grupos: reacciones graves de tipo SA (n= 7) y ANA (n= 14), leves con URT-AE (n= 17) e IDIO (n= 12).

A continuación se muestran las tablas de los pacientes con sus datos: medicamento implicado, vía de administración, sexo, edad, nivel de triptasa detectado tras la reacción y triptasa basal por RIACT®, y su incremento expresado en porcentaje obtenido de este modo:

$\% \Delta = (\text{triptasa pico} - \text{triptasa basal} / \text{triptasa basal}) \times 100$. (Tablas IX - XIV).

Tabla IX. Grupo de pacientes que sufrieron shock anafiláctico

Medicamento	Sexo	Edad	Vía admón	Tº del pico	Triptasa basal U/l	Triptasa pico U/l	% Δ triptasa
Amoxicilina	M	39	Oral	4 h	0,67	27,50	4004,48%
BSA	M	49	Intrart	2,5 h	0,84	6,32	652,38%
Eritromicina	V	37	Oral	30 m	0,70	53,04	7477,14%
Dipirona	V	85	Oral	3 h	0,88	5,86	565,91%
Amoxicilina	V	42	Oral	2h	0,95	5,87	517,89%
Cotrimoxazol	M	47	Oral	20 m	1,17	4,09	249,57%
Amoxicilina	V	69	Oral	6 h	0,89	20,70	2225,84%

Tabla X. Grupo de pacientes que sufrieron anafilaxia

Medicamento	Sexo	Edad	Vía admón	Tº pico	Triptasa basal U/l	Triptasa pico U/l	% Δ triptasa
AAS	M	21	Oral	2 h	0,77	0,80	3,90%
Ac pipemídico	M	44	Oral	2 h	1,08	1,22	12,96%
AAS	V	18	Oral	2 h	1,24	4,83	289,52%
MDM	M	63	ID	2 h	0,67	1,07	59,70%
Amoxicilina	V	25	Oral	2 h	1,00	1,36	36%
Trimetoprím	M	25	Oral	2 h	0,66	1,47	122,72%
AAS	M	16	Oral	2 h	0,59	1,30	120,34%
Trimetoprím	M	30	Oral	2 h	0,99	1,94	95,96%
Propifenazona	V	31	Oral	2 h	0,67	1,40	108,96%
Amoxicilina	M	35	Oral	2 h	0,88	1,29	46,59%
Fluoresceína	M	67	IV	30 m	0,92	66,21	7096,74%
Dipirona	V	43	Oral	30 m	0,72	9,05	1219,45%
Propifenazona	M	19	Oral	1 h	0,70	1,30	85,71%
Amoxicilina	V	24	Oral	2 h	0,91	2,04	124,18%

Tabla XI. Grupo de pacientes que sufrieron urticaria-angioedema

Medicamento	Sexo	Edad	Vía admón	T° pico	Triptasa basal U/l	Triptasa pico U/l	% Δ triptasa
Nitrofurantoína	M	57	Oral	2 h	0,71	1,10	54,93%
Amoxicilina	V	18	Oral	2 h	1,02	1,41	38,24%
Amoxicilina	M	30	Oral	2 h	0,82	0,93	13,41%
AAS	M	15	Oral	2 h	0,67	0,85	26,87%
PPL	M	55	ID	2 h	0,67	0,98	46,27%
Polen en grano	V	35	Oral	2 h	0,67	2,25	235,82%
Penicilina	V	52	Oral	2 h	0,96	1,08	12,50%
Paracetamol	M	42	Oral	2 h	0,50	0,94	88%
Amoxicilina	V	26	Oral	2 h	1,02	1,14	11,76%
Cefuroxima	M	32	ID	2 h	0,96	1,05	9,37%
Cefadroxilo	M	31	Oral	30 m	0,51	0,88	72,55%
MDM	M	45	ID	30 m	0,50	0,54	8%
Amoxicilina	M	60	Oral	1 h	0,77	0,66	-14,30%
Amoxicilina	M	35	Oral	2 h	0,74	0,74	0%
Dipirona	V	32	Oral	30 m	0,62	0,82	12,40%
Paracetamol	M	34	Oral	1 h	0,85	0,70	-17,65%
Dipirona	M	30	Oral	2 h	0,70	2,60	271,43%

Tabla XII. Grupo de pacientes que sufrieron reacciones de idiosincrasia

Medicamento	Sexo	Edad	Vía admón	T° pico	Triptasa basal U/l	Triptasa pico U/l	% Δ triptasa
Naproxeno	V	11	Oral	2 h	0,80	1,40	75%
AAS	V	16	Oral	2 h	0,67	0,94	40,30%
Paracetamol	M	22	Oral	2 h	0,86	1,15	33,72%
Indometacina	V	16	Oral	2 h	0,70	0,73	4,29%
Indometacina	M	30	Oral	2 h	0,61	0,68	11,48%
Indometacina	M	35	Oral	2 h	0,72	0,67	-6,95%
Isonixina	M	35	Oral	2 h	0,73	0,65	-10,96%
Indometacina	V	21	Oral	2 h	0,58	0,73	25,86%
Indometacina	M	19	Oral	2 h	0,60	0,79	31,67%
Salsalato	M	35	Oral	2 h	0,69	0,78	13,04%
AAS	M	74	Oral	30 m	0,80	0,67	-16,25%
Indometacina	V	54	Oral	30 m	0,70	2,50	257,14%

Los pacientes que presentaron reacciones tras provocación con placebo y los pertenecientes al grupo que sufrieron reacciones adversas no alérgicas, no experimentaron incremento valorable en los niveles de triptasa sérica, con niveles postreacción y basales similares a los basales del resto de los grupos (Tablas XIII y XIV). Se agrupó PLA (n= 10) y RANA (n= 6) como un grupo control de reacciones adversas no alérgicas, para poder realizar comparaciones con los otros grupos de reacciones alérgicas y el grupo IDIO.

Tabla XIII. Grupo de pacientes que sufrieron reacciones adversas no alérgicas

Medicamento	Sexo	Edad	Vía admón	Tº pico	Triptasa basal U/l	Triptasa pico U/l	% Δ triptasa
Oxibutina	M	61	Oral	2 h	0,84	0,91	8,34%
Cotrimoxazol	M	18	Oral	2 h	0,80	0,96	20%
AAS	M	17	Oral	2 h	1,74	1,20	-31,03%
Amoxicilina	M	80	Oral	2 h	0,95	0,82	-13,60%
Cefaclor	M	56	Oral	2 h	0,68	0,78	14,71%
Amoxicilina	V	45	Oral	2 h	0,80	0,80	0%

Tabla XIV. Grupo de pacientes expuestos a placebo

Medicamento	Sexo	Edad	Vía admón	Tº pico	Triptasa basal U/l	Triptasa pico U/l	% Δ triptasa
Placebo	M	41	Oral	2 h	0,80	0,80	0%
Placebo	M	60	Oral	2 h	0,80	0,80	0%
Placebo	M	61	Oral	2 h	1,16	1,12	-3,45%
Placebo	M	33	Oral	2 h	0,64	0,72	12,50%
Placebo	M	57	Oral	2 h	0,87	0,96	10,34%
Placebo	M	50	IM	2 h	1,04	1,09	4,81%
Placebo	M	41	Oral	2 h	1,06	1,19	12,26%
Placebo	M	61	Oral	2 h	1,06	1,23	16,04%
Placebo	M	38	Oral	2 h	0,80	0,80	0%
Placebo	M	62	Oral	2 h	0,60	0,60	0%

De este modo considerando el total de los pacientes, se encuadran 50 reacciones alérgicas e idiosincrásicas y 16 controles. Se obtiene una curva ROC (fig. 3) con un área bajo la curva (ABC) de 0,84 para un límite de confianza del 95%, objetivando un incremento de triptasa sérica del 25% con una especificidad del 100% y 60% de sensibilidad. Los valores obtenidos de las extracciones en condiciones basales no mostraron diferencias entre los diferentes grupos.

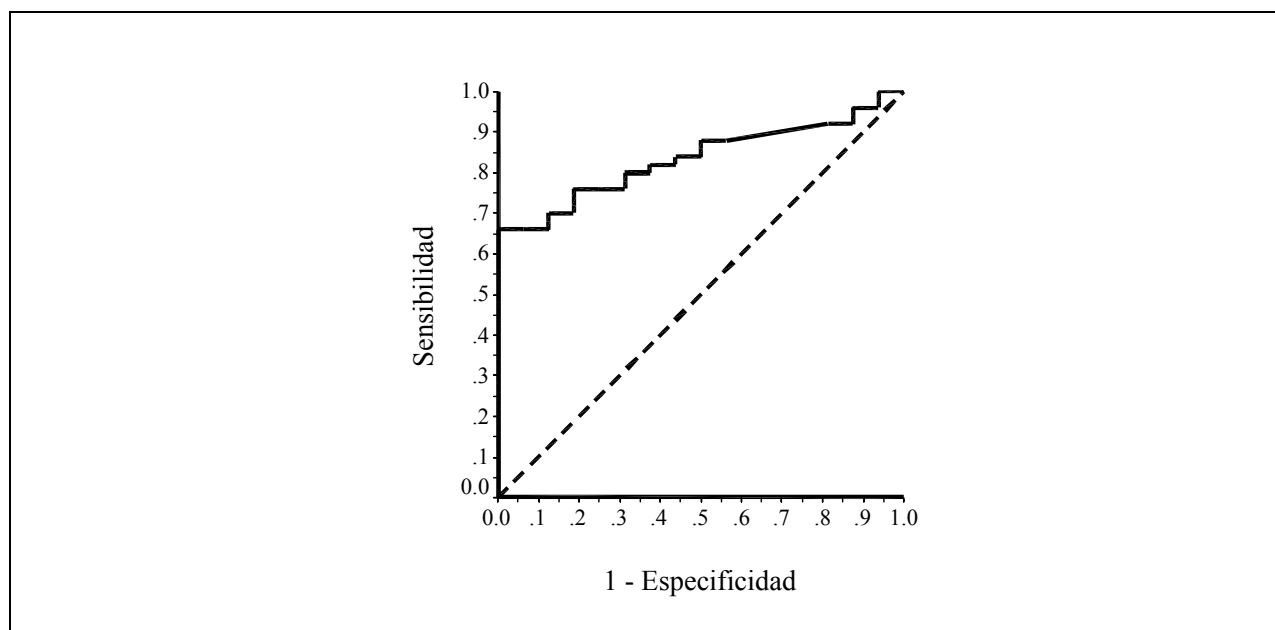


Fig. 3. Curva ROC global, incluyendo todos los pacientes

ABC (ROC)= 0,84 (IC 95%: 0,74; 0,93) $p < 0,001$

	Reacciones medicamentosas: alérgicas y de idiosincrasia	Controles
Incremento > 25%	33	0
Incremento ≤ 25%	17	16
Total	50	16

Sensibilidad: 60% (52,90%; 79,10%)

Especificidad: 100% (76%; 100%)

3.3. Incremento por grupos

Los niveles de triptasa sérica en los pacientes que sufrieron reacciones alérgicas y reacciones idiosincrásicas por AINEs se elevaron, comparando los niveles basales con los obtenidos después de la reacción.

Se aprecia cómo el incremento de triptasa sérica es más alto cuanto más graves son las manifestaciones clínicas. En estudios preliminares del trabajo actual, ya se observó este comportamiento de la triptasa sérica en reacciones alérgicas a medicamentos ⁽²¹⁴⁾, con incrementos de triptasa cuantificada por el método RIACT®.

3.3.1. Reacciones alérgicas: shock anafiláctico, anafilaxia y urticaria-angioedema

Las reacciones con un mecanismo alérgico inmediato confirmado comprenden un total de 38. En estos casos el punto de corte del incremento de triptasa sérica correspondió al 26% sobre los niveles basales, para una especificidad del 100% y sensibilidad del 74% con un valor de $p < 0,001$ y un intervalo de confianza del 95% (fig.4). Así el área obtenida bajo la curva ROC es de 0,88 indicando una exactitud intermedia, útil sólo en determinadas circunstancias.

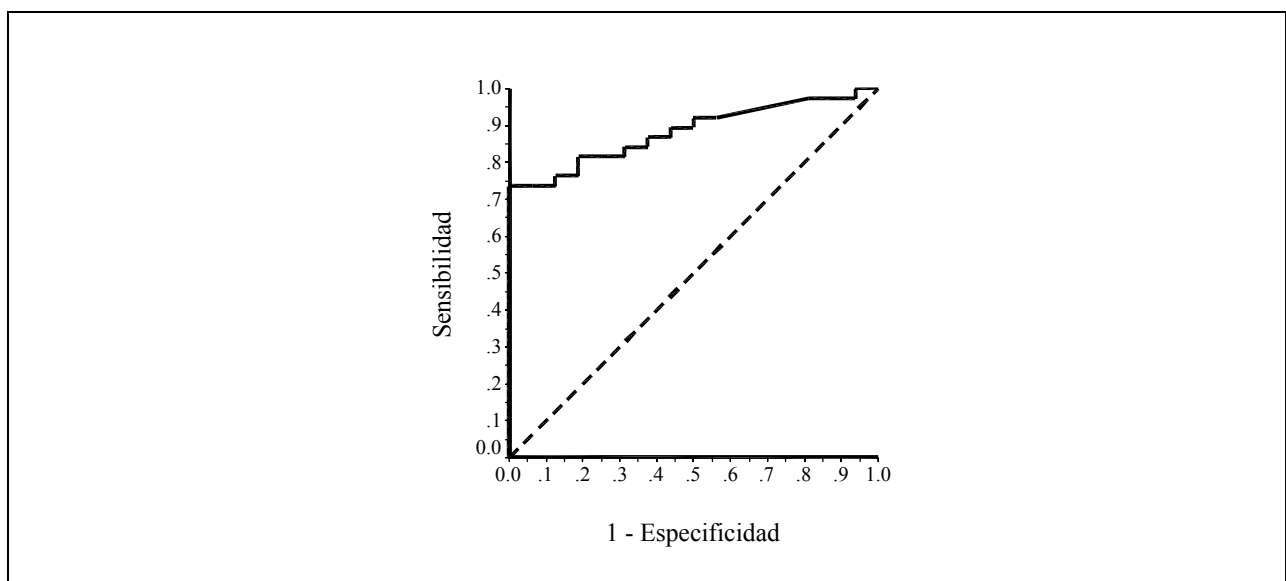


Fig. 4. Curva ROC reacciones alérgicas inmediatas

ABC (ROC)= 0,88 (IC 95%: 0,80; 0,97) $p < 0,001$

	Reacciones alérgicas (SA, ANA y URT-AE)	Controles
Incremento > 25%	28	0
Incremento ≤ 25%	10	16
Total	38	16

Sensibilidad: 74% (57%; 86%)

Especificidad: 100% (76%; 100%)

3.3.2. Reacciones alérgicas graves: shock anafiláctico y anafilaxia

Al estudiar el grupo con síntomas más graves, incrementos de triptasa del 30% aportan una especificidad del 100% con una sensibilidad elevada que alcanza el 91%. La curva ROC dibujada deja un (ABC) área de 0,97 bajo la curva con un intervalo de confianza del 95%, que indica alta exactitud (fig.5). Este grupo presentó los mayores incrementos de los valores de triptasa sérica medida por RIACT® que se elevaron de modo dramático en algunos casos, llegando a incrementos de más del 7000%. (Tablas IX y X).

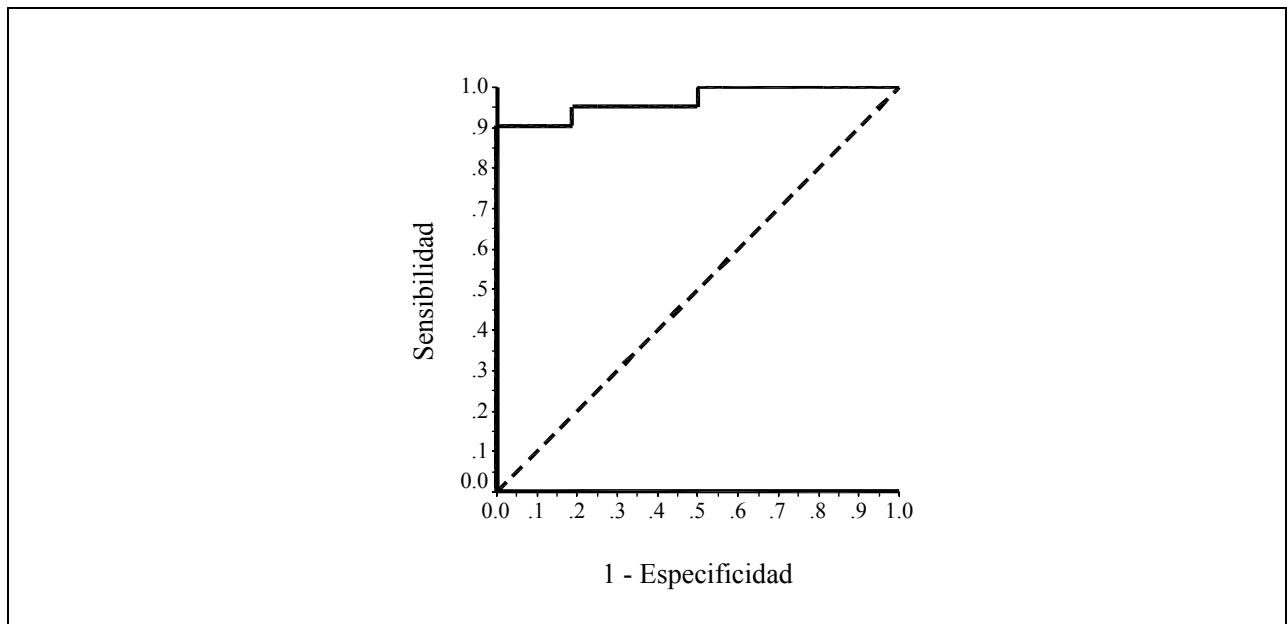


Fig. 5. Curva ROC, reacciones graves

ABC (ROC)= 0,97 (IC 95%: 0,94; 1,0) p < 0,001

	Shock anafiláctico y Anafilaxia	Controles
Incremento > 30%	19	0
Incremento ≤ 30%	2	16
Total	21	16

Sensibilidad: 91% (68%; 98%)

Especificidad: 100% (76%; 100%)

3.3.3. Reacciones alérgicas leves: urticaria-angioedema

Diecisiete pacientes sufrieron episodios de URT-AE. Al valorar el punto de corte del incremento de triptasa cuantificada por la técnica RIACT® se observa que cuando éste alcanza el 26% presenta una especificidad del 100% para una sensibilidad del 53% con $p < 0,001$ (fig.6).

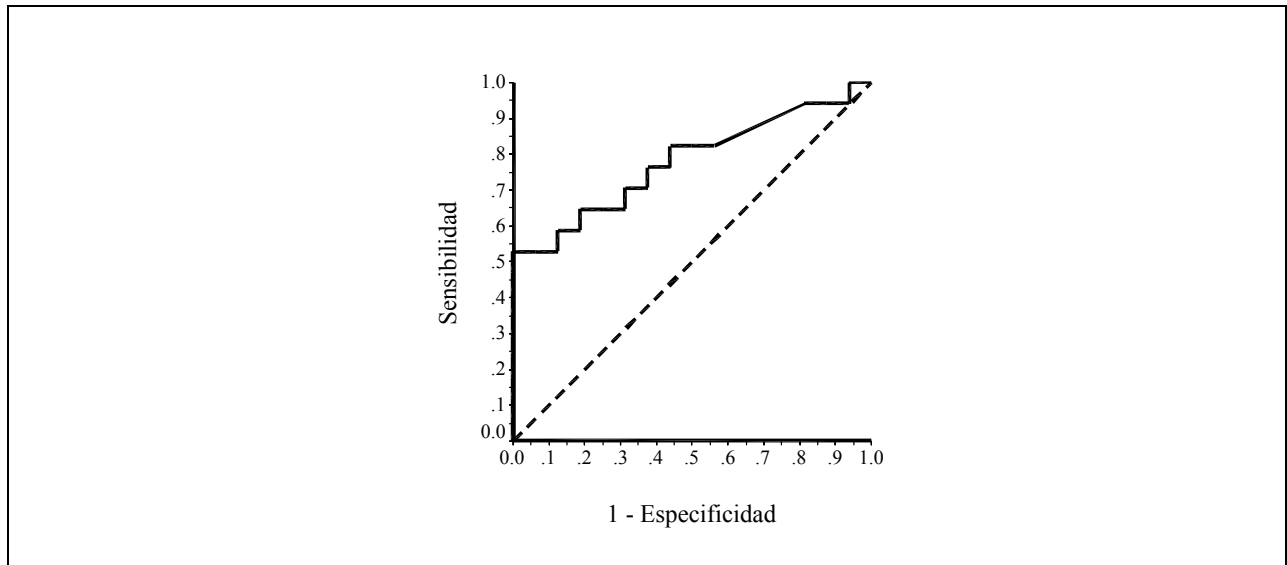


Fig. 6. Curva ROC, reacciones leves (URT-AE)

ABC (ROC)= 0,78 (IC 95%: 0,62; 0,94) $p < 0,001$

	URT-AE	Controles
Incremento > 25%	9	0
Incremento ≤ 25%	8	16
Total	17	16

Sensibilidad: 53% (29%; 76%)

Especificidad: 100% (76%; 100%)

3.3.4. Reacciones de idiosincrasia

En doce pacientes se confirmó el diagnóstico de intolerancia a AINEs o IDIO. En este grupo el incremento objetivado tras la cuantificación de triptasa sérica por la técnica RIACT®, fue un 25% correspondiente a una especificidad del 100%, que asoció con una sensibilidad muy baja, tan sólo el 42% con $p < 0,001$ (fig. 7).

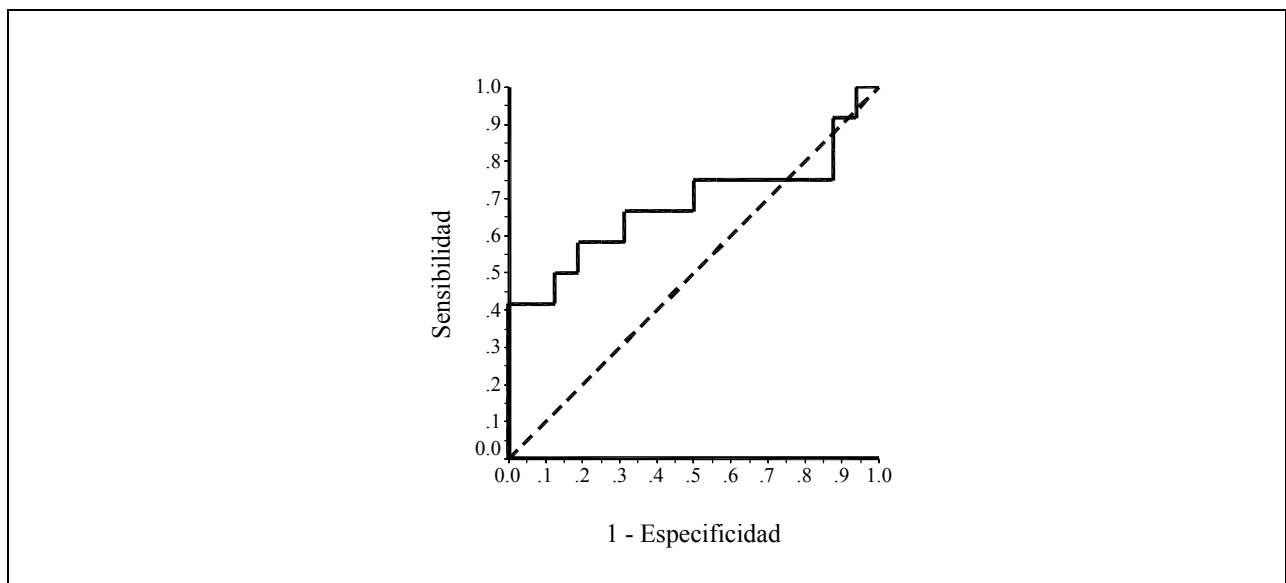


Fig. 7. Curva ROC, reacciones de idiosincrasia

ABC (ROC)= 0,68 (IC 95%: 0,46; 0,90) $p = 0,008$

	IDIO	Controles
Incremento > 25%	5	0
Incremento ≤ 25%	7	16
Total	12	16

Sensibilidad: 42% (16%; 71%)

Especificidad: 100% (76%; 100%)

4. COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS RIACT® Y UNICAP®

4.1 Comparación global

Se midieron los valores de triptasa utilizando ambas técnicas para poder compararlas. La correlación de Pearson $r = 0,86$ con intervalo de confianza (0,80; 0,90) fue significativa para $n = 104$ determinaciones de los niveles de triptasa sérica, medidos por ambas técnicas RIACT® y UniCAP®. Al analizar la curva se obtiene una correlación clara con $r = 0,85$ y $p < 0,001$ para los valores de UniCAP® > 15 U/L y de RIACT > 2 U/L, siendo $n = 22$. Sin embargo, considerando únicamente los valores más bajos se aprecia cierta confusión. Los niveles de triptasa sérica obtenidos con el método RIACT® menores de $2 \mu\text{g/l}$ y los que se objetivan con el método UniCAP® por debajo de $15 \mu\text{g/l}$, reducen drásticamente el valor de r hasta $0,19$; con una $p = 0,092$ siendo $n = 82$ (fig. 8).

Al seleccionar los niveles superiores a $2 \mu\text{g/l}$ por RIACT® y a $15 \mu\text{g/l}$ por UniCAP®, el valor de r se incrementa hasta $0,85$ con $p < 0,001$ para $n = 22$, siendo el intervalo de confianza (0,80;0,90).

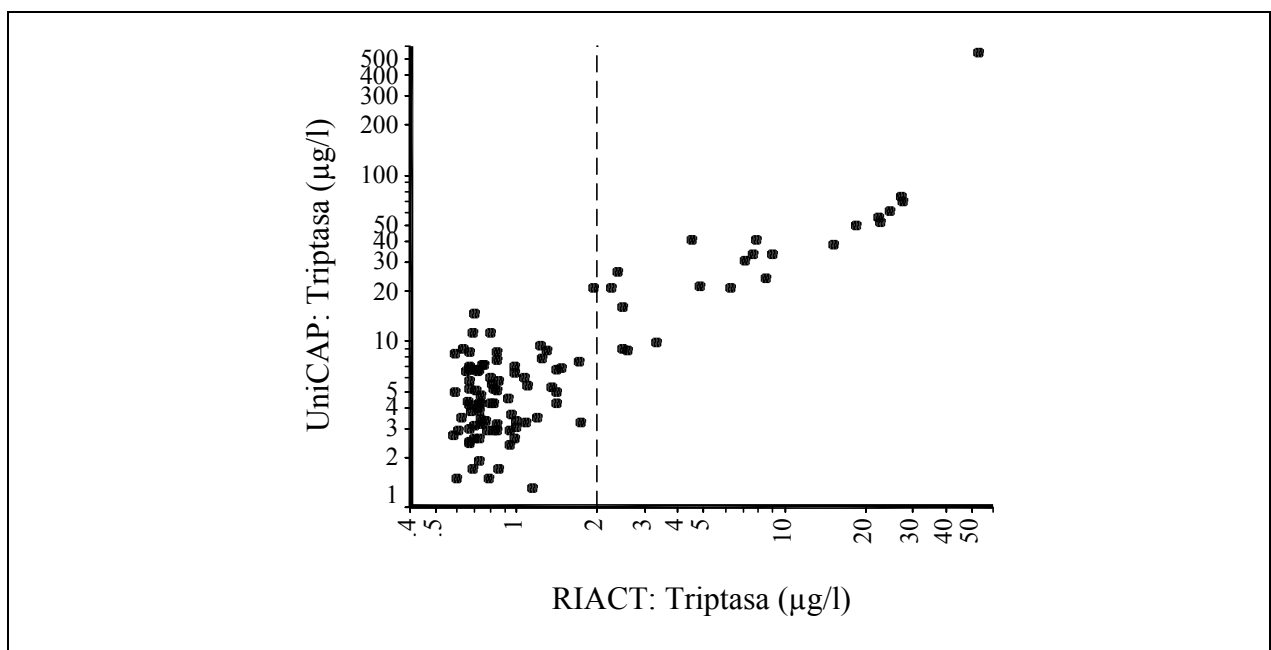


Fig. 8. Diagrama de dispersión de niveles de triptasa, con ambas técnicas

4.2. Distribución de los valores de triptasa sérica obtenidos en 50 sujetos

Los niveles de triptasa sérica determinados por ambas técnicas se comportan de la misma manera, tendiendo a una distribución de tipo asimétrico sin seguir un patrón gaussiano normal. De este modo, la curva dibujada resulta positiva y se desplaza hacia la derecha.

Se determinaron los niveles de triptasa sérica postreacción y los basales en los 36 pacientes y los niveles basales en 14 controles. Los tests no paramétricos utilizados presentaron los siguientes resultados considerando la mediana y los percentiles 25 y 75. Se expresan de este modo: mediana y amplitud intercuartil (p25; p75).

	Triptasa basal: Mediana (p 25; p 75)	Triptasa postreacción: Mediana (p 25; p 75)	
UniCAP®U/l	4,20 U/l (2,90; 6,77)	5,89 U/l (3,80; 9,31)	p < 0,001
RIACT® U/l	0,80 U/l (0,70; 0,85)	1,10 U/l (0,79; 1,82)	p < 0,001
	p < 0,001	p < 0,001	

Los niveles de triptasa sérica en U/l o µg/l se determinaron con ambos métodos UniCAP® y RIACT®, manejando los valores brutos obtenidos tanto postreacción como basales en 36 pacientes con distintas manifestaciones graves y leves; y los niveles basales en 14 controles sanos.

Al comparar ambas técnicas de modo global, se observa, que entre los valores postreacción con ambas técnicas todos se comportan con elevaciones en las mismas ocasiones y entre los basales existe también la misma tendencia.

4.2.1. Reacciones graves (SA y ANA) para n= 13

	Triptasa basal: Mediana (p 25; p 75)	Triptasa postreacción: Mediana (p 25; p 75)	
UniCAP® U/l	4,98 U/l (3,31; 7,46)	9,45 U/l (6,05; 31,10)	p < 0,001
RIACT® U/l	0,77 U/l (0,71; 0,99)	1,47 U/l (1,15; 7,07)	p < 0,001
	p < 0,001	p < 0,001	

4.2.2. Reacciones leves (URT-AE) para n= 14

	Triptasa basal: Mediana (p 25; p 75)	Triptasa postreacción: Mediana (p 25; p 75)	
UniCAP® U/l	4,48 U/l (3,15; 6,80)	4,70 U/l (3,59; 8,04)	p < 0,001
RIACT® U/l	0,83 U/l (0,73; 0,85)	0,97 U/l (0,82; 1,40)	p < 0,001
	p < 0,001	p < 0,001	

4.2.3. Reacciones de idiosincrasia (IDIO) para n= 9

	Triptasa basal: Mediana (p25; p75)	Triptasa postreacción: Mediana (p25; p75)	
UniCAP® U/l	2,90 U/l (1,70; 6,65)	3,80 U/l (1,70; 6,20)	p < 0,001
RIACT® U/l	0,72 U/l (0,60; 0,81)	0,73 U/l (0,67; 0,97)	p < 0,001
	p < 0,001	p < 0,001	

4.2.4. Controles para n= 14

	Triptasa basal: Mediana (p 25; p 75)
UniCAP® U/l	3,20 U/l (2,60; 5,10)
RIACT® U/l	0,75 U/l (0,70; 0,84)
	p < 0,001

4.3. Estadísticos de contraste Wilcoxon, con incrementos de triptasa por grupos

El incremento de triptasa sérica, expresado en porcentaje, se obtuvo con la fórmula:

$$\% \text{ Incremento de triptasa sérica} = \frac{\text{Pico de triptasa} - \text{Triptasa basal}}{\text{Triptasa basal}} \times 100$$

El incremento obtenido se estudió por grupos considerando la mediana y los percentiles 25 y 75.

De este modo se comprobó que los incrementos de triptasa sérica, cuantificada por ambas técnicas; son significativos. A continuación se detallan los resultados de los distintos grupos, clasificados según las manifestaciones clínicas.

4.3.1. Reacciones graves: shock anafiláctico y anafilaxia

El promedio ponderado para estos dos grupos unificados se calculó para el conjunto de pacientes seleccionados, n= 13. Con ambas técnicas se aprecian grandes incrementos (fig. 9).

	Incremento de triptasa en % Mediana (p 25; p 75)	
UniCAP® U/I	168,98% (68,29; 555,96)	p < 0,001
RIACT® U/I	120,34% (24,48; 819,25)	p < 0,001

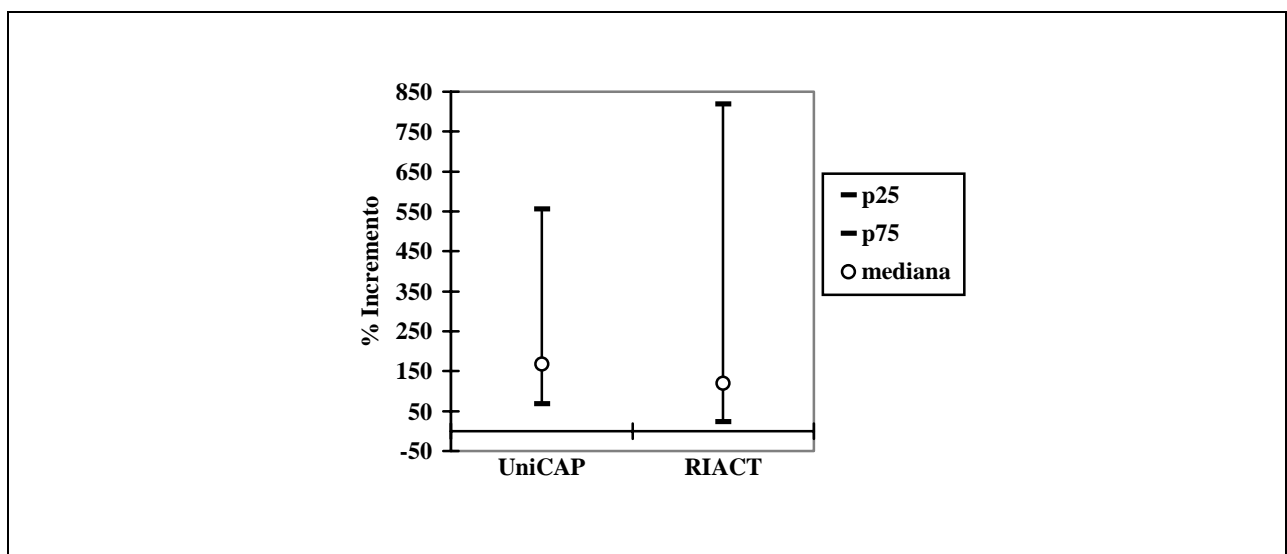


Fig. 9. Incrementos de triptasa en reacciones graves con ambas técnicas.

4.3.2 Urticaria-angioedema

Se calculó el incremento en un grupo de 14 pacientes con reacciones alérgicas leves, de tipo URT-AE. Curiosamente se obtiene un mayor incremento con la técnica RIACT®, el 14,35% que con UniCAP®, tan sólo el 5,46% (fig. 10).

	Incremento de triptasa en % Mediana (p 25; p 75)	
UniCAP® U/I	5,46 % (-6,22; 20,27)	p < 0,001
RIACT® U/I	14,35 % (-3,42; 78,89)	p < 0,001

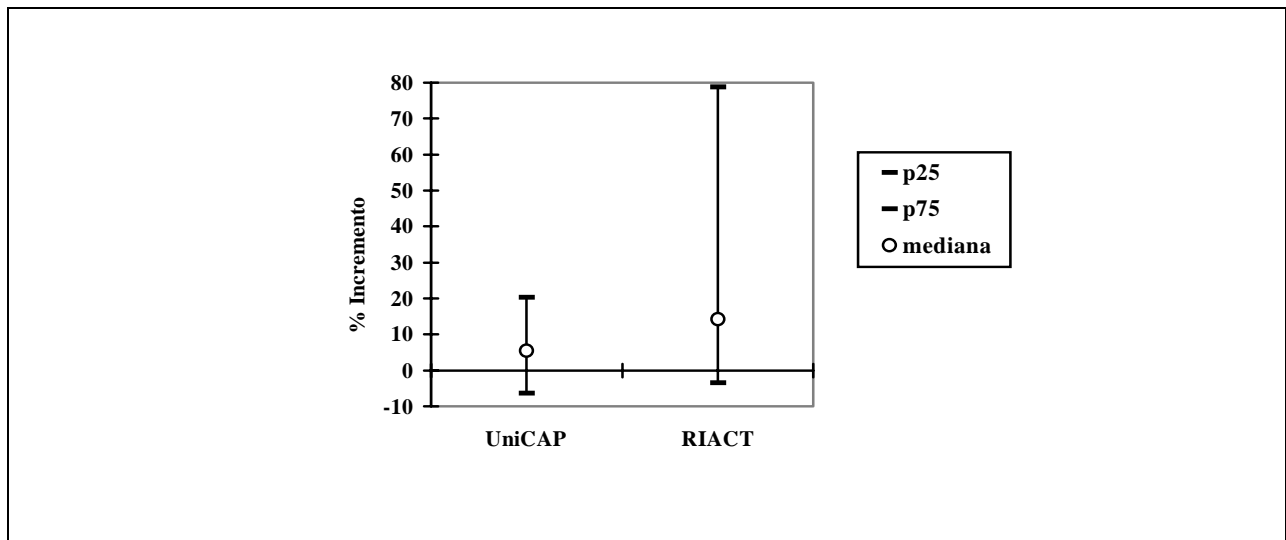


Fig. 10. Incrementos de triptasa con ambas técnicas en URT-AE

4.3.3. Reacciones de idiosincrasia

El incremento en porcentaje, calculado para el grupo de 9 reacciones de IDIO fue nulo con la técnica UniCAP® y, escaso, pero existente, al utilizar RIACT® alcanzando un incremento del 11,47% (fig. 11).

	Incremento de triptasa en % Mediana (p 25; p 75)	
UniCAP® U/I	0% (-17,83; 35,89)	p < 0,001
RIACT® U/I	11,47% (-8,95; 32,69)	p < 0,001

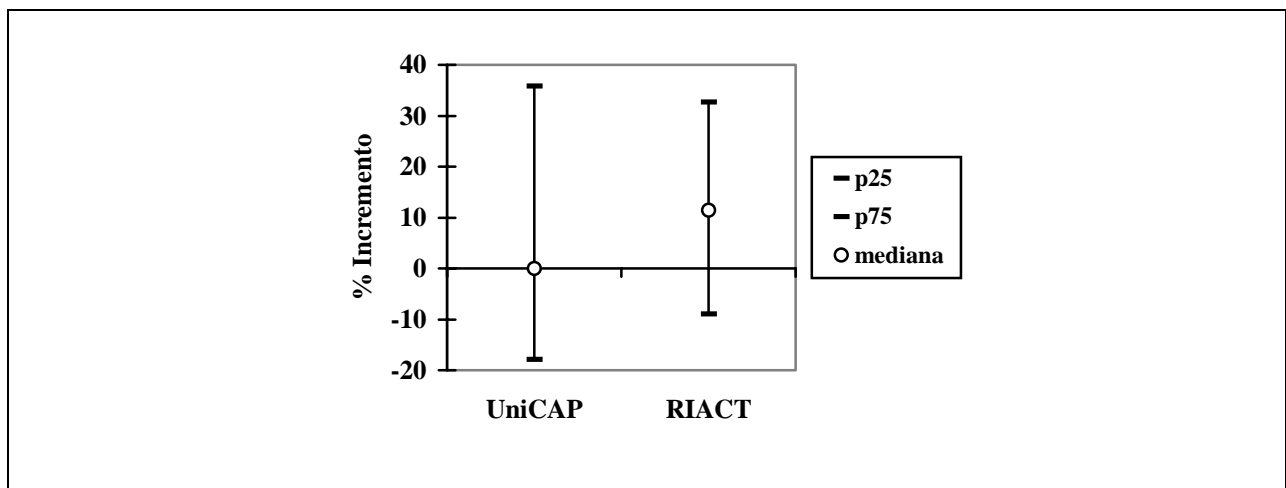


Fig. 11. Incrementos de triptasa con ambas técnicas en IDIO

5. RESULTADOS SERIADOS POR RIACT®

5.1. Tiempo de obtención del valor máximo o pico de triptasa

5.1.1. Seriación en shock anafiláctico y anafilaxia

En el grupo de pacientes seleccionados con cuadros clínicos de mayor gravedad, SA y ANA, se realizaron mediciones seriadas de triptasa sérica. En total fueron ocho pacientes de los cuales 6 sufrieron SA y los dos restantes ANA. (fig. 12 y 13)

El tiempo de obtención del valor máximo o pico de triptasa sérica varió ampliamente entre los distintos pacientes que padecieron reacciones graves. El valor máximo se obtuvo en los primeros 30 minutos tras la reacción, en dos casos, uno de ellos fue un SA desencadenado por eritromicina oral con un nivel postreacción máximo (PR máx) de 53,04 U/l y el segundo por cotrimoxazol oral (PR máx= 4,09 U/l). También dentro de los primeros treinta minutos se obtuvieron los niveles máximos en dos casos de ANA, uno de ellos provocado por la administración de fluoresceína intravenosa (PR máx= 66,23 U/l) y el otro por dipirona oral (PR máx = 9,05 U/l). El nivel más alto se detectó después de 2 horas en un paciente que presentó un cuadro de AS por amoxicilina oral (PR máx= 5,87 U/l). La triptasa sérica alcanzó el valor pico entre las 3-4 horas después del inicio de los síntomas en un caso de SA inducido por amoxicilina oral (PR máx= 27,54 U/l) y en otro SA desencadenado por dipirona oral (PR máx = 5,86 U/l). El pico de triptasa más tardío se objetivó a las 6 horas en un SA, tras la toma de amoxicilina oral (PR máx= 20,70 U/l). Los niveles séricos de triptasa fueron disminuyendo hasta alcanzar valores basales a lo largo de las 24 horas siguientes en todos los pacientes (Tabla XV). El tiempo de aparición del valor pico de triptasa no se relacionó con la gravedad de los síntomas, el período de latencia hasta la aparición del cuadro clínico o la cantidad de triptasa liberada.

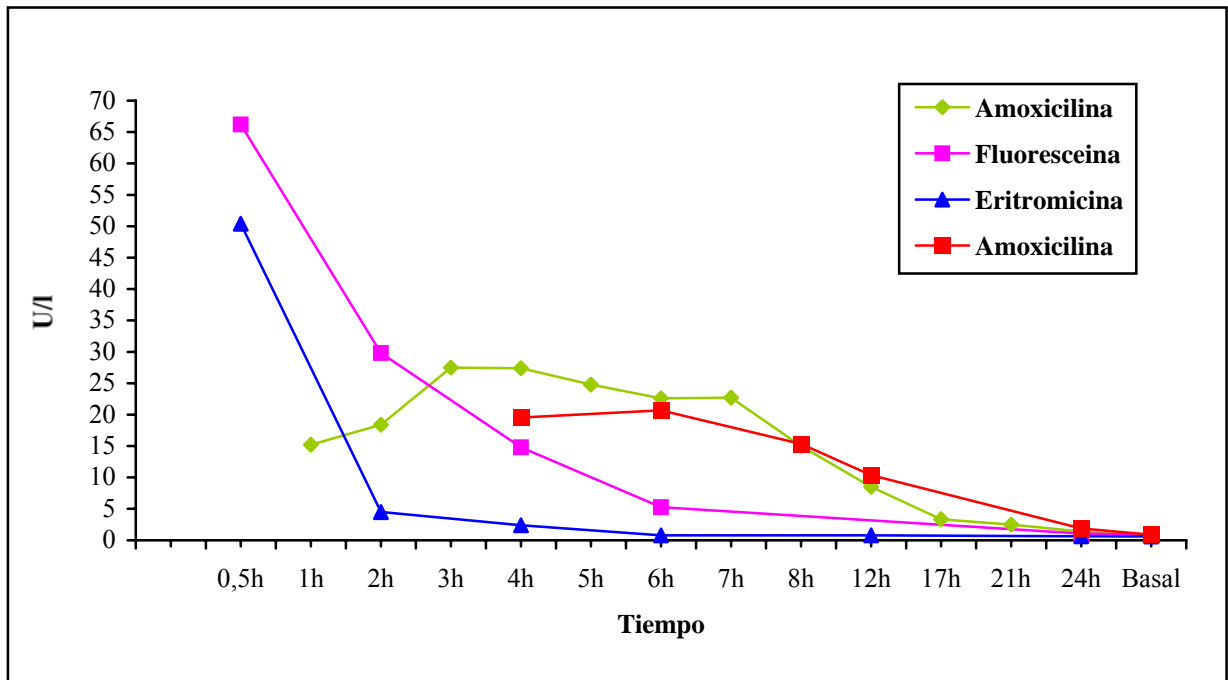


Fig. 12. Seriación de triptasa sérica por RIACT® en 4 reacciones graves (3 SA y 1ANA)

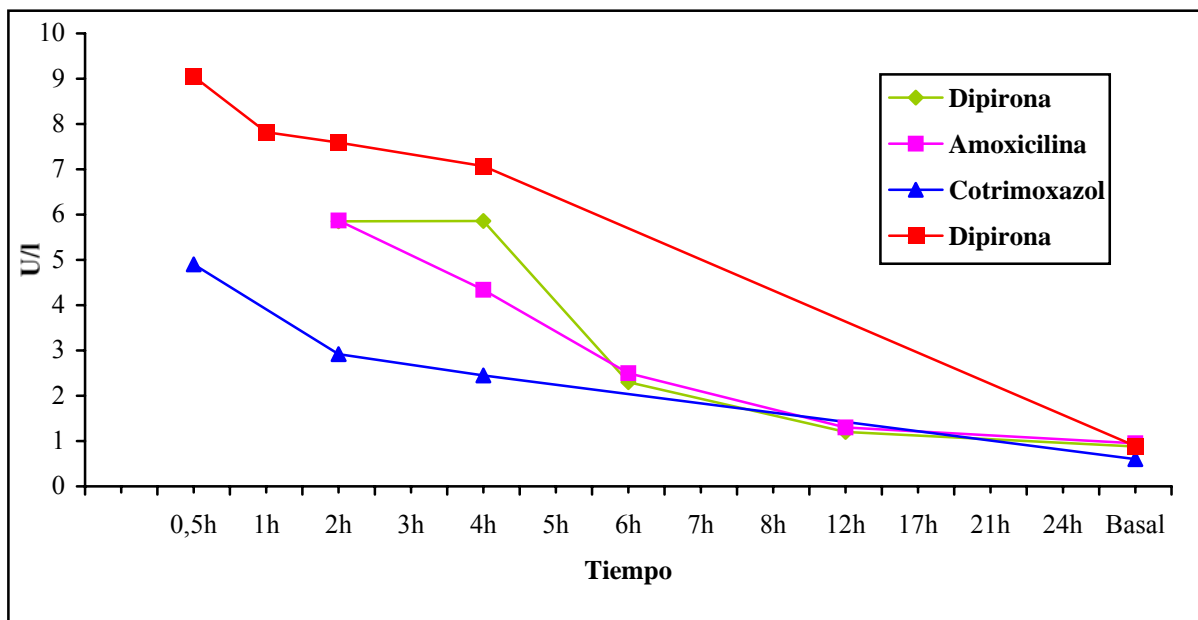


Fig. 13. Seriación de triptasa sérica por RIACT® en 4 reacciones graves (3 SA y 1ANA)

Tabla XV. Valores seriados en SA y ANA, por el método RIACT® (sombreado = pico de triptasa)

Amoxicilina (vo)	Fluoresceína (iv)	Eritromicina (vo)	Dipirona (vo)	Amoxicilina (vo)	Cotrimoxazol (vo)	Dipirona (vo)	Amoxicilina (vo)
<i>Shock anafiláctico</i>	<i>Anafilaxia</i>	<i>Shock anafiláctico</i>	<i>Shock anafiláctico</i>	<i>Shock anafiláctico</i>	<i>Shock anafiláctico</i>	<i>Anafilaxia</i>	<i>Shock anafiláctico</i>
	35 m → 66,21 U/l	30 m → 53,04 U/l			20 m → 4,09 U/l	30 m → 9,05 U/l	
1,5 h → 15,20 U/l						1 h → 7,82 U/l	
2 h → 8,40 U/l	2 h → 29,83 U/l	2 h → 4,50 U/l	2 h → 5,85 U/l	2 h → 5,87 U/l		2 h → 7,59 U/l	
3 h → 27,50 U/l					2,45 h → 2,92 U/l	3 h → 7,07 U/l	
4 h → 27,40 U/l	4 h → 14,78 U/l	4 h → 2,40 U/l	4 h → 5,86 U/l	4 h → 4,34 U/l	4 h → 2,45 U/l		4 h → 19,55 U/l
5 h → 24,80 U/l							
6 h → 22,60 U/l	6 h → 5,26 U/l	6 h → 0,69 U/l	6 h → 2,30 U/l				6 h → 20,69 U/l
7 h → 22,70 U/l				7 h → 2,50 U/l			
12 h → 8,50 U/l		12 h → 0,80 U/l	12 h → 1,20 U/l	12 h → 1,13 U/l			8 h → 15,32 U/l
17 h → 3,34 U/l							12 h → 10,35 U/l
21 h → 2,50 U/l							
24 h → 1,40 U/l	24 h → 1,08 U/l	24 h → 0,63 U/l					24 h → 1,88 U/l
Basal → 0,67 U/l	Basal → 0,92 U/l	Basal → 0,70 U/l	Basal → 0,88 U/l	Basal → 0,95 U/l	Basal → 1,17 U/l	Basal → 0,72 U/l	Basal → 0,89 U/l

6. COMPARACIÓN DE AMBAS TÉCNICAS EN UN SHOCK ANAFILÁCTICO POR AMOXICILINA

Se obtuvieron muestras de sangre de modo seriado en una paciente de 39 años de edad que ingresó en urgencias con un cuadro de shock anafiláctico de inicio inmediato tras la toma de un comprimido oral de 500 mg de amoxicilina. Los primeros síntomas fueron prurito cutáneo generalizado con eritema acompañante, asociándose edema facial con intensa afectación labial y palpebral, de pies y manos, mareo, náuseas y vómitos con posterior pérdida de conocimiento. A su llegada al Servicio de Urgencias recuperó la conciencia con TA= 70/40, que fue estabilizándose tras recibir adrenalina y dexclorfeniramina sc, sueroterapia e hidrocortisona iv.

Las extracciones de sangre se llevaron a cabo mediante la colocación de una llave de tres pasos en el catéter iv utilizado para la administración de suero salino de mantenimiento. Los tiempos de extracción fueron: ½ h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 7 h, 12 h, 17 h, 21 h y 24 horas. Permaneció en observación durante 30 horas y se le citó en consulta de Alergología para completar el estudio. La IgE específica frente a amoxicilina y penicilina resultó elevada.

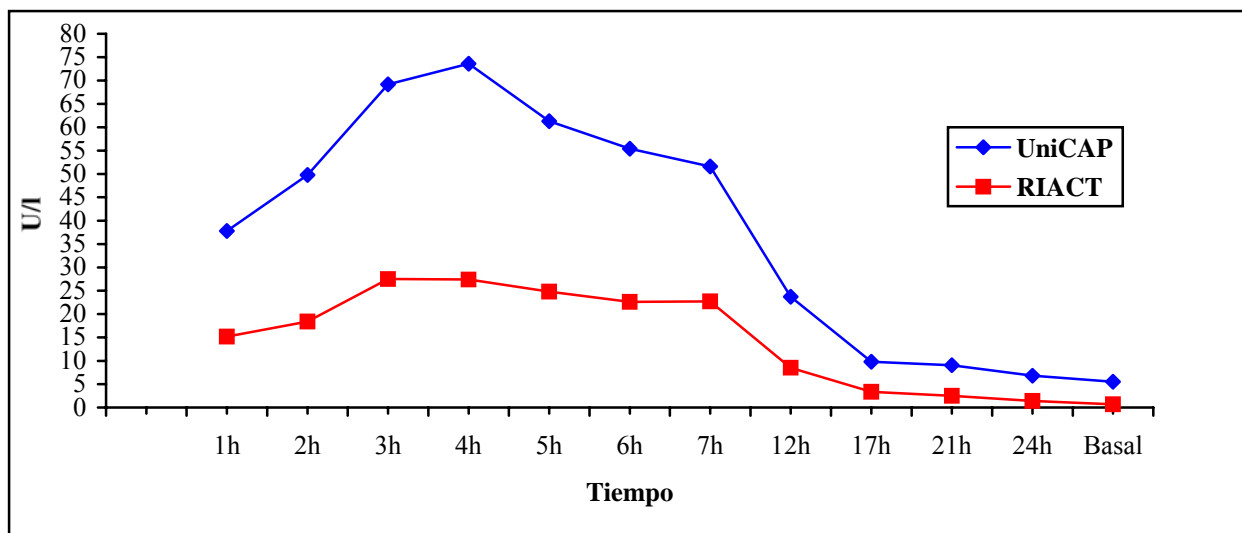
En el gráfico adjunto (fig. 14) se puede apreciar el comportamiento de la triptasa sérica a lo largo de 24 horas tras el inicio de la reacción, con las dos técnicas de medición. Se objetiva un pico de triptasa con ambas entre las 3 y 4 horas del inicio de los síntomas que alcanza un nivel de 73,60 U/l con UniCAP® y 27,50 U/l con RIACT®. Los niveles descienden poco a poco a lo largo de las 24 horas siguientes hasta los valores basales de 5,50 por UniCAP® y 0,67 U/l por RIACT®, obtenidos en una muestra de sangre extraída una semana después del episodio (tabla XVI).

La asociación entre ambas técnicas de cuantificación de triptasa en las mediciones realizadas en esta paciente, se expresa a continuación y es estadísticamente muy significativa:

rho de Spearman= 0,99 (IC 95%: 0,95; 1,00) p < 0,001 (fig.14)

Tabla XVI. Valores seriados por ambos métodos en un SA por amoxicilina

T° de extracción	RIACT® U/l	UniCAP® U/l
1,5 h	15,20 U/l	37,80 U/l
2 h	18,40 U/l	49,80 U/l
3 h	27,50 U/l	69,20 U/l
4 h	27,40 U/l	73,60 U/l
5 h	24,80 U/l	61,30 U/l
6 h	22,60 U/l	55,40 U/l
7 h	22,70 U/l	51,60 U/l
12 h	8,50 U/l	23,70 U/l
17 h	3,34 U/l	9,80 U/l
21 h	2,50 U/l	9,05 U/l
24 h	1,40 U/l	6,81 U/l
Basal	0,67 U/l	5,15 U/l

**Fig. 14.** Niveles de triptasa sérica en muestras seriadas en una paciente con SA por amoxicilina, obtenidos por UniCAP® y RIACT®.

V. DISCUSIÓN

En este trabajo se estudiaron 66 pacientes con historia previa de reacciones a medicamentos. Se realizó el estudio *in vivo* e *in vitro* habitual que se aplica a este tipo de pacientes y se determinó el nivel sérico de triptasa basal y postreacción para valorar la validez diagnóstica del incremento de esta proteasa, que se cuantificó mediante la técnica RIACT® en todos ellos y por UniCAP® en un grupo seleccionado.

De este modo con el diagnóstico de confirmación realizado por la provocación tras completar el estudio, nuestro objetivo fue valorar la utilidad como apoyo diagnóstico, de la medición sérica de triptasa en las distintas reacciones como marcador de activación mastocitaria; determinar el momento óptimo de obtención de la muestra hemática para cuantificar el mayor nivel de triptasa liberada, así como observar el comportamiento de esta proteasa según la gravedad de las manifestaciones clínicas.

1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA

1.1. Medicamentos implicados por orden de frecuencia

1.1.1. AINEs

En este estudio los AINEs fueron responsables de 25 reacciones, las más numerosas como también se refleja en otros estudios debido a la amplia utilización de este grupo farmacológico ⁽²¹⁵⁾. La mayoría de las reacciones fueron protagonizadas por AAS, indometacina y pirazolonas. En el estudio Alergológica ⁽²¹⁶⁾, realizado en España por la SEAIC en 1992, las pirazolonas aparecen como causantes del 10,10% de todas las sensibilizaciones a fármacos, con resultados similares en otros estudios de Rubio ⁽⁹⁷⁾ y cols que arrojan un valor del 11,80%. Cuatro de nuestros pacientes sufrieron reacciones desencadenadas por dipirona y 2 por propifenazona, diagnosticándose por pruebas cutáneas positivas en todos los casos, que se valoraron como reacciones alérgicas. Nuestro país es todavía un gran consumidor de pirazolonas aunque en los últimos años están siendo desplazadas junto al AAS, por el uso generalizado de paracetamol. Este es considerado entre la población general como un fármaco seguro al no ser gastroerosivo, pero el paracetamol puede ser responsable de reacciones de IDIO y reacciones alérgicas inmediatas, con una incidencia creciente sobre todo pautado a dosis altas, de 1 gramo o incluso más. Tres pacientes de nuestra serie sufrieron reacciones por paracetamol, dos de ellos URT-AE y el tercero IDIO.

1.1.2. Antibióticos y antiinfecciosos

1.1.2.1. Antibióticos β -lactámicos

Al igual que la mayoría de autores que consideran a los antibióticos β -lactámicos como los más frecuentemente implicados en las reacciones a fármacos, se encontró un claro predominio de este grupo como protagonista de las reacciones por medicamentos, ocupando en nuestra serie el 2º lugar tras los AINEs⁽²¹⁷⁻²²¹⁾. De todos ellos el más frecuente en este estudio coincidió con el más referido en nuestro medio, la amoxicilina, debido a su uso tan extendido en niños y adultos⁽²²²⁾.

1.1.2.2. Otros antibióticos

Los macrólidos y las quinolonas estuvieron implicados tan sólo en dos reacciones graves; un shock anafiláctico por eritromicina con elevación dramática de la triptasa sérica hasta 53 kU/l (RIACT®) en los primeros 30 minutos para normalizarse en dos horas, y una anafilaxia por ácido pipemídico. Estos dos grupos de antibióticos han sido considerados por muchos médicos de atención primaria como una alternativa segura en los pacientes alérgicos a betalactámicos y/o sulfamidas. Sin embargo se observa que, en ocasiones, pueden desencadenar reacciones inmediatas muy graves, si bien su frecuencia de presentación sigue siendo muy baja, al compararla con AINEs y antibióticos β -lactámicos.

1.1.3. Miscelánea

1.1.3.1. La fluoresceína intravenosa causó un cuadro de anafilaxia al realizar una angiografía. Las pruebas cutáneas en prick-test e ID fueron positivas, y la drástica elevación de la triptasa sérica que alcanzó 66,21 U/l a la media hora orientaron hacia un mecanismo alérgico inmediato comunicado raramente en la bibliografía⁽¹⁴⁸⁾. Recientemente varios autores como Butrus⁽¹⁴⁷⁾ y

Fineschi ⁽¹³⁸⁾, han descrito nuevos casos de reacciones inmediatas por fluoresceína, que incluso llevaron en una ocasión al éxitus, con detección de elevaciones de triptasa sérica.

1.1.3.2. La BSA, un excipiente del preparado de orgoteína intraarticular, causó un shock anafiláctico. Realmente la causante no fue la orgoteína sino un excipiente del preparado comercial Peroxinorm®, la seroalbúmina bovina (BSA), cuya implicación se pudo demostrar mediante la realización de un *immunoblotting* utilizando el suero de la paciente. Esta proteína ya es conocida como potencial desencadenante de reacciones anafilácticas en pacientes atópicos con alergia previa a leche, carnes o epitelios de mamíferos como gatos, que reciben preparados farmacológicos conteniendo BSA. Se han descrito varias reacciones anafilácticas tras inseminaciones artificiales por sensibilización a BSA ⁽²²³⁻²²⁵⁾.

1.1.3.3. El paciente que sufrió el episodio de urticaria-angioedema tras la ingestión de polen se suma a varios casos publicados en los últimos años. La ingestión indiscriminada de polen entre la población general que acude a naturópatas y herboristerías en busca de remedios “seguros” y “naturales”, desencadena a veces reacciones alérgicas, produciendo cuadros graves de anafilaxia ⁽²²⁶⁻²²⁸⁾. También la ingestión de miel y manzanilla con alto contenido en polen de compuestas ⁽²²⁹⁾, se ha visto implicada en reacciones alérgicas.

2. LA SELECCIÓN DE PACIENTES Y EL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Todos los pacientes incluidos en el trabajo fueron estudiados en consulta hasta obtener un diagnóstico de confirmación del tipo de reacción, bien de mecanismo alérgico o, de tipo adverso no alérgico. Aquéllos que fueron seleccionados definitivamente habían sido informados previamente por escrito de la finalidad del estudio y autorizaron la extracción de sangre para la medición de triptasa postreacción y basal. Los que precisaron confirmación diagnóstica por prueba de exposición controlada con medicamento, siguieron el protocolo de estudio habitual en las reacciones a medicamentos y firmaron el consentimiento informado como siempre se efectúa en nuestra consulta, antes de su realización. Los pacientes menores de edad fueron representados en la autorización del consentimiento informado subrogado por ambos progenitores.

3. VALORACIÓN DE LOS NIVELES BASALES DE TRIPTASA

Los niveles de triptasa sérica basal en los sujetos del grupo control no expuestos a medicamentos, fueron superponibles a los niveles detectados en condiciones basales en todos nuestros pacientes. No se observaron diferencias significativas entre los grupos de pacientes y los controles. Este hecho se constató con ambas técnicas de cuantificación de triptasa. Con la técnica UniCAP® los valores basales parecían ser discretamente más elevados en reacciones graves (SA y ANA) que en el resto de los grupos, pero al estudiarlo estadísticamente se objetivó que no existen diferencias significativas entre los niveles séricos de triptasa basal de los distintos grupos y controles.

La técnica UniCAP® detecta triptasa activa e inactiva, de tal modo que cuantifica mayor cantidad de esta proteasa y arroja un valor absoluto basal mayor que con el método RIACT®, y evita del mismo modo la aparición de MT. No hay diferencias entre los sujetos sanos del grupo control y los niveles son superponibles a los valores basales de los pacientes. En muchos casos, fundamentalmente en las reacciones leves de URT-AE e IDIO, los niveles postreacción fueron muy próximos a los niveles basales entre sí, a veces prácticamente iguales. Esta observación puede significar una escasa o nula participación mastocitaria en la reacción o, por otro lado, una sensibilidad baja de la técnica de cuantificación de triptasa sérica.

En la actualidad el método de detección de triptasa disponible comercializado en el mercado es UniCAP®, que resulta más rápido y fácil de realizar al estar automatizado. Un nuevo ensayo ⁽¹⁶³⁾ basado en un ELISA con B12 para capturar y detectar biotina-G5 mAb ha sido utilizado en trabajos experimentales. Esta técnica detecta β -triptasa y de momento no hay estudios suficientes para poder valorar si podría aportar información nueva respecto al actual UniCAP®.

4. TRIPTASA SÉRICA EN REACCIONES ADVERSAS A MEDICAMENTOS

El incremento de triptasa observado en las reacciones alérgicas de este estudio, se relaciona con la gravedad de la reacción (SA y ANA), pero la variabilidad interindividual es llamativamente grande. En estos grupos de manifestaciones clínicas graves, las mediciones de esta proteasa son, en efecto, útiles para el diagnóstico. Sin embargo en las reacciones leves, como urticarias alérgicas inducidas por medicamentos y en idiosincrasia a AINEs, sólo se aprecian mínimos incrementos en los niveles de triptasa que no son suficientes para validar esta técnica como test diagnóstico de rutina. Al utilizar la técnica UniCAP® no se obtiene ningún incremento de triptasa en el grupo de pacientes que sufrieron IDIO y sin embargo sí que se objetiva, aunque es mínimo, cuando se utiliza la técnica RIACT®. Este resultado significa que existe una activación mastocitaria en el grupo IDIO que, no logra alcanzar un incremento suficiente como para validar esta técnica como método diagnóstico en estos pacientes. La sensibilidad de ambos test para las reacciones leves es por tanto, escasa.

Los valores de triptasa muy bajos pero en los que se observa un incremento sobre sus respectivos basales, se confunden con los niveles basales y los controles al encontrarse muy próximos y existir grandes diferencias entre sujetos. De este modo, los incrementos individuales pequeños son más difíciles de valorar por la variabilidad interindividual entre los sujetos. Los niveles de triptasa postreacción tomados 2 horas después del inicio de los síntomas en los dos grupos últimos (URT-AE e IDIO), son difíciles de interpretar porque los valores obtenidos tras la reacción, están demasiado próximos a los niveles basales de esta proteasa y a los niveles detectables por los dos ensayos utilizados, tanto con el método RIACT® como con el método UniCAP®, por lo que no podemos validar estos métodos en caso de urticaria.

A pesar de haber obtenido los mayores incrementos en las reacciones graves, se objetivó una gran variación de los niveles de triptasa entre los pacientes que sufrieron un shock anafiláctico o

una anafilaxia de similares características. Probablemente, existan otros factores no contemplados en este estudio que puedan estar modificando la respuesta de los mediadores mastocitarios como la distribución del alérgeno, la activación mastocitaria y de otras células como los basófilos, o el tejido diana implicado en la reacción. La cuantificación del incremento de triptasa sérica resulta a veces difícil de determinar con una sola extracción tras el inicio de la reacción, porque el tiempo en que alcanza su nivel máximo detectable o pico y la cinética de la liberación difiere enormemente entre los pacientes.

5. VALORACIÓN DE LOS NIVELES DE TRIPTASA SÉRICA CON LA TÉCNICA RIACT®

5.1. Incremento de triptasa sérica vs su valor absoluto postreacción

Este trabajo se ha centrado en el estudio de las reacciones adversas producidas por fármacos y en el comportamiento de la triptasa en cada paciente, valorando las modificaciones de los niveles de triptasa sérica objetivadas en los grupos definidos según las manifestaciones clínicas. Se ha comparado el nivel de triptasa sérico basal con el nivel obtenido tras la reacción. De este modo se ha podido comprobar la existencia de grandes diferencias interindividuales, entre los pacientes de un mismo grupo y entre los distintos grupos. Así se puede dar valor y tener en cuenta las pequeñas variaciones de la triptasa sérica observadas que, aunque en valor absoluto se puedan encontrar por debajo del umbral de positividad recomendado por la casa comercial de 2 U/l para la técnica RIACT®, al extrapolar los valores en las curvas resultan, al fin y al cabo, incrementos evidentes respecto de sus basales. Se producen incrementos de más del 25% prácticamente en todos los grupos, y se observan situaciones puntuales de hasta más del 7000% en dos reacciones graves con compromiso vital.

Ante los resultados obtenidos hay que resaltar que el aumento del nivel de triptasa respecto de su basal, objetivado en las reacciones adversas a medicamentos, es valorable y está traduciendo la existencia de actividad mastocitaria en el desencadenamiento de las manifestaciones clínicas.

Otros autores utilizan la medición de triptasa sérica en el diagnóstico de reacciones a medicamentos y no comparan los resultados obtenidos después de la reacción con el nivel basal propio de cada paciente. Se basan en el nivel mínimo diferenciador de los valores normales marcado por la casa comercial ^(145, 146, 230, 231), y siguen las curvas del ensayo sin tener en cuenta los valores situados por debajo del valor mínimo establecido de 2 U/l para la técnica RIACT® y

13,50 U/l para la técnica UniCAP®. En estos trabajos no se contempla el incremento individual de la triptasa sérica, hecho que puede provocar resultados discordantes con los obtenidos en este estudio. En algunas publicaciones las series no son muy numerosas a la hora de seleccionar pacientes que cumplan los criterios de inclusión adecuados^(145, 230, 232) y de este modo no siempre puede ser aceptable aplicar lo observado en unos pocos pacientes sobre el resto de sujetos.

La mayoría de estos trabajos sobre reacciones anafilácticas y urticarias, aglutinan una serie de pacientes con reacciones producidas no solamente por medicamentos, sino también por alimentos, picaduras de himenópteros, reacciones tras la administración de inmunoterapia e idiopáticas. Posiblemente la cinética de la reacción sea variable según el comportamiento de los distintos alérgenos implicados, y de este modo sus resultados no resulten comparables. Probablemente el tiempo de latencia, la vía de administración y el procesamiento del antígeno, así como el pico de triptasa y el valor absoluto obtenido al cuantificarla tras la reacción, difieran entre todos ellos y no puedan extraerse las mismas conclusiones aplicables en todos los casos.

5.2. Incremento de triptasa global en todas las reacciones

Si se analiza el comportamiento de la triptasa sérica en el total de la muestra considerando el conjunto de los 66 pacientes, la técnica de detección sérica de triptasa es útil sólo en determinadas situaciones. El incremento de triptasa objetivado de un 25% se corresponde con una sensibilidad del 60% con una especificidad del 100% para el conjunto de todas las reacciones adversas. Aún a riesgo de mermar la sensibilidad, es preferible una especificidad del 100%, ya que la finalidad de este trabajo es valorar si la técnica es útil como medio diagnóstico que separe las reacciones adversas no alérgicas, de las que tienen un mecanismo con activación mastocitaria y por tanto, tratar de evitar la prueba de exposición sistémica al medicamento implicado. De ese modo la sensibilidad al considerar a todos los pacientes sólo llega al 60%, ya

que incluye las reacciones alérgicas leves y las de intolerancia que presentan una tendencia de menor incremento que los cuadros clínicos más graves.

5.3. Incremento de triptasa en las distintas reacciones

Al desglosar en grupos según el tipo de reacción, se aprecian diferencias según la gravedad de las manifestaciones clínicas.

5.3.1. Reacciones alérgicas: shock anafiláctico, anafilaxia y urticaria-angioedema

Si se considera el grupo de 38 pacientes con reacción alérgica confirmada, no en todas las reacciones leves se elevan los niveles de triptasa sérica. Este comportamiento influye en la obtención de una sensibilidad del 74% con un 100% de especificidad para incrementos de triptasa del 25%. Lo ideal sería conseguir una mayor sensibilidad de la técnica para todas las reacciones alérgicas, independientemente de la gravedad de los síntomas pero como se comenta a continuación, quizás en la actualidad sólo sea posible alcanzar una sensibilidad y especificidad altas en las reacciones alérgicas graves con compromiso vital.

Si se consideran sólo las reacciones alérgicas graves, incrementos de triptasa sérica superiores al 30% en los siete SA y las 14 ANA, aportan una sensibilidad del 91% para una especificidad del 100%, con una alta exactitud de la técnica de medición de triptasa RIACT®. Este incremento respecto del valor basal de triptasa, es valorable y traduce una activación de los mastocitos y su desgranulación en el mecanismo de la reacción medicamentosa que estudiamos.

Por todo ello, es importante hacer hincapié en la utilidad de la detección de triptasa sérica en las reacciones alérgicas de mayor gravedad desencadenadas por medicamentos, que se ratifica en este estudio.

La eficacia de la medición de triptasa resulta muy baja en las 17 reacciones leves de tipo urticaria y/o angioedema desencadenadas por medicamentos. No resulta de utilidad al no poder discriminar una reacción alérgica leve de una reacción no alérgica, o lograr diferenciarlas de los controles que son sujetos sanos no expuestos a medicamentos. En este grupo de URT-AE, en nueve de los 17 pacientes, se obtuvieron incrementos individuales de triptasa de más del 25%, pero los 8 restantes no elevaron sus niveles de modo que, en conjunto para este grupo de reacciones leves, la medición de triptasa sérica no puede ser considerada útil como método diagnóstico. Cuando el medicamento implicado es un AINE, la medición de triptasa en suero, a pesar de haber obtenido incrementos pequeños, tampoco ha resultado útil como herramienta diagnóstica para poder discernir entre una reacción alérgica leve y una reacción de idiosincrasia. De hecho, no se ha podido evitar la prueba de exposición controlada con otro AINE potente para poder llegar al diagnóstico adecuado.

5.3.2. Reacciones de idiosincrasia

En el grupo de los 12 pacientes intolerantes, los incrementos de triptasa del 25% en 5 de ellos, indicaron una sensibilidad de la técnica baja, del 42% para una especificidad del 100%. Los dos ensayos de detección de triptasa presentan baja exactitud y esto indica una utilidad de ambas técnicas prácticamente nula en el diagnóstico de las reacciones de IDIO. En los 5 pacientes que presentaron una elevación del nivel sérico de triptasa, es evidente que existe una activación mastocitaria con desgranulación de sus mediadores en el mecanismo inmunológico de la reacción. Quizás al tratarse de manifestaciones clínicas leves, fundamentalmente cutáneas y/o nasales sin asociarse síntomas de broncoespasmo o de compromiso vital, no sea posible obtener en estos pacientes incrementos mayores de triptasa circulante. Al analizar los resultados se observa que en el mecanismo de acción de las reacciones de IDIO están implicados los

mastocitos, pero de momento las dos técnicas de detección de triptasa no aportan una ayuda en el diagnóstico.

Bosso ⁽²³³⁾ ha descrito elevaciones de esta proteasa en pacientes que presentaron reacciones graves de idiosincrasia tras administración de AINEs, con intenso broncoespasmo.

6. COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS RIACT® Y UNICAP®

Ambas técnicas son útiles en las reacciones graves y se aprecia una reproductibilidad en las mediciones de prácticamente el 100%, tanto para las cuantificaciones elevadas como para los niveles basales y controles. Como ventajas de la técnica UniCAP® caben destacar la mecanización y rapidez del ensayo, así como la evitación del uso de isótopos radiactivos que facilitan el procedimiento ⁽²³⁴⁾.

6.1. Consideraciones generales del conjunto de determinaciones

Los niveles de triptasa sérica medidos con ambas técnicas RIACT® y UniCAP®, se correlacionaron positivamente de manera significativa. Al analizar el diagrama de dispersión se aprecia una correlación clara para los valores de triptasa medidos por UniCAP® >15 U/l y por RIACT® > 2 U/l. Sin embargo, al considerar únicamente los valores más bajos se reduce drásticamente el valor de r , observando una ausencia de correlación. Esto significa que la correlación es estadísticamente significativa para los niveles de triptasa sérica altos detectados con ambas técnicas y que corresponden a las reacciones graves.

El hecho de que la correlación total sea mayor que cualquiera de las otras dos correlaciones al dividir en dos zonas no es un artefacto. No se trata de un error de cálculo sino que al limitar el rango de valores, la correlación cae. Es un hecho estadístico, ya que hay que tener en cuenta que r no es un promedio, sino un indicador de la tendencia de los valores en el gráfico que dibujan.

A pesar de la obtención de mayores valores absolutos mediante el método UniCAP®, se sigue precisando mejorar el ensayo para incrementar su sensibilidad en los valores más bajos, los próximos a los basales. No obstante mediante UniCAP® no se obtuvieron mayores diferencias

que con RIACT® cuando se compararon los niveles de triptasa postreacción frente a los niveles basales en los distintos grupos diagnósticos.

6.2. Comparación entre las dos técnicas RIACT® vs UniCAP®

6.2.1. Muestra completa: pacientes y controles. Punto de corte.

Las mediciones obtenidas por el sistema UniCAP® que detecta la triptasa sérica activa e inactiva, en un grupo de 50 sujetos seleccionado previamente, se compararon con las obtenidas mediante la técnica RIACT®. Las 104 mediciones realizadas en el suero de 14 controles y 36 pacientes, presentaron valores absolutos de triptasa mayores con UniCAP®.

Al comparar los resultados globales obtenidos con ambos métodos, se observó que mediante UniCAP® se lograba una cuantificación superior al valor absoluto de esta proteasa obtenido mediante RIACT® en la misma muestra, ya que cuantifica α -triptasa además de β -triptasa. El coeficiente de correlación de Pearson para ambos métodos fue elevado con un valor de $r=0,86$. La mediana obtenida para el conjunto de los 36 pacientes fue de 5,89 U/l postreacción con UniCAP® frente a 1,10 U/l por RIACT®, y la mediana de sus respectivos basales considerando también los niveles séricos basales de los 14 controles fueron respectivamente 4,20 U/l y 0,80 U/l. La interpretación de los valores globales se comenta más adelante por grupos.

No obstante mediante UniCAP® no se obtuvieron mayores diferencias que con RIACT® cuando se compararon los niveles de triptasa postreacción frente a los niveles basales en los distintos grupos de pacientes. Al enfrentar ambas técnicas de modo global, se observa, que entre los valores postreacción todos se comportan con elevaciones en las mismas ocasiones y que entre los basales existe también la misma tendencia.

El valor de discriminación propuesto por la casa comercial para distinguir los niveles elevados de los basales con UniCAP® es de 13,50 U/l. En nuestra serie de determinaciones, se destaca el incremento individual en vez del valor absoluto que alcanza la triptasa sérica, ya que a veces puede doblar o triplicar al valor basal y sin embargo no alcanzar lo contemplado como un nivel alto, o superior a 13,50 U/l. En este estudio el valor umbral o punto de corte de la triptasa sérica fue 9,45 U/l.

Enrique y cols ⁽²³²⁾, también dan importancia a los incrementos individuales y calculan mediante curvas ROC aplicadas a su serie de 17 pacientes el punto de corte óptimo. Cuantifican la triptasa sérica por UniCAP® en reacciones graves de tipo anafiláctico y en urticarias, tanto por medicamentos como por alimentos, inmunoterapia e idiopáticas. Consideran el nivel sérico de triptasa de 8,23 U/l como el dintel útil en sus casos, adoptándolo como punto de corte para discriminar las elevaciones de triptasa frente a los valores normales.

6.3. Incremento de triptasa sérica con ambas técnicas

6.3.1. Reacciones graves: shock anafiláctico y anafilaxia

En 13 pacientes que sufrieron una reacción alérgica grave frente a un medicamento, se determinó por ambas técnicas la triptasa sérica postreacción y basal para estudiar el comportamiento de este mediador mastocitario. La mediana calculada en este grupo con UniCAP® ascendió a 9,45 U/l, algo inferior al valor umbral marcado por la casa comercial que es 13,50 U/l; y ligeramente superior al punto de corte de 8,23 U/l propuesto por Enrique y cols ⁽²³²⁾ en su serie de anafilaxias y urticarias de diverso origen. Este mismo dato calculado en estos pacientes, cuando la cuantificación de triptasa se realiza por el método RIACT®, corresponde a 1,47 U/l, también

inferior a las 2 U/l recomendadas por la casa comercial. En cuanto a los valores basales son similares a los controles con ambas técnicas y rondan 4 ó 5 U/l para UniCAP® y 0,80 U/l para RIACT®.

La mediana del incremento de triptasa sérica calculada con UniCAP® ascendió al 169% y al 120% con RIACT®. Cabe destacar que los incrementos fueron más dispares y alejados de la mediana con la técnica RIACT®.

De esta manera se observa que en las reacciones más graves, SA y ANA, la cantidad de triptasa desgranulada de los mastocitos al torrente sanguíneo es suficiente como para ser detectada por ambas técnicas de modo evidente, con un valor alejado del basal que no induce a confusión de ningún tipo y se demuestra su utilidad como método de ayuda diagnóstica en estas reacciones alérgicas a medicamentos.

6.3.2. Reacciones leves: urticaria-angioedema e idiosincrasia

Ante la poca utilidad ya comentada de la técnica RIACT® para el conjunto de las reacciones leves de URT-AE, se quiso comprobar si el comportamiento de la triptasa en 14 pacientes seleccionados con estas manifestaciones clínicas variaba al ser medida por la técnica UniCAP®. De nuevo se observa que para estas reacciones leves la técnica UniCAP® también es poco sensible, ya que la mediana de los valores absolutos postreacción resultó superponible a la de los basales con ambas técnicas. La mediana de los incrementos de triptasa sérica es pequeña con ambas técnicas. Con el ensayo RIACT® existe una gran dispersión de los incrementos y se obtiene un mayor incremento global que con la técnica UniCAP®, donde resulta ligeramente inferior con mayor concentración de los valores alrededor de la mediana. Ante estos datos, se

observa que UniCAP® no mejora la sensibilidad ni la especificidad del radioinmunoensayo en la detección de triptasa sérica, y ambas resultan de poca utilidad diagnóstica.

Apenas hay referencias a este tipo de reacciones leves en la bibliografía ya que se asume de entrada que no permiten captar una elevación de triptasa sérica, posiblemente porque la activación mastocitaria no sea suficiente^(230, 232).

Curiosamente en el grupo de nuestros pacientes intolerantes a AINEs con manifestaciones clínicas de urticaria o leve sintomatología nasal y/u ocular, se objetivó un pequeño incremento, pero sugerente de una participación mastocitaria, con la técnica RIACT®. Sin embargo en estas reacciones de idiosincrasia, con la nueva técnica UniCAP® los valores basales y postreacción de la triptasa fueron muy próximos, sin poder objetivarse un incremento.

Por todo ello, es importante destacar que, si bien la técnica UniCAP® es capaz de cuantificar mayor cantidad de triptasa sérica que la técnica RIACT® y evitar la aparición de tubos con número de cuentas no detectables (MT), lo cierto es que resulta menos sensible a la hora de detectar el incremento de triptasa sérica respecto de su basal.

A pesar de todo, ninguna de las dos técnicas ha ayudado a diferenciar entre un mecanismo alérgico, una reacción de idiosincrasia o una reacción medicamentosa adversa no alérgica.

Algunos autores, como Bosso⁽²³³⁾ han publicado incrementos detectables de triptasa sérica tras la realización de una provocación controlada con AINEs en la que se produce un broncoespasmo grave. Sin embargo no aprecian ningún incremento en las provocaciones nasales positivas llevadas a cabo mediante la inhalación de AAS. Sladek⁽²³⁵⁾ en sus investigaciones utiliza la medición de ECP e histamina plasmática sin objetivarse ninguna elevación, obteniendo incrementos de LTE4. Tampoco obtienen elevación de la triptasa sérica Fisher y cols⁽¹⁶⁹⁾ en 8 pacientes con IDIO a los que sometieron a una prueba de provocación oral controlada con AAS con aparición de síntomas nasales y broncoespasmo.

7. OBTENCIÓN DEL VALOR MÁXIMO DE TRIPTASA

7.1. Valor máximo o pico de triptasa en la seriación de varias reacciones graves

El período de tiempo de 2 horas tras el inicio de la reacción para la extracción de la muestra hemática, tomado como referencia en distintos trabajos publicados y, considerado como el tiempo óptimo por la casa que comercializa el test de medición de triptasa, puede que no siempre sea el más idóneo ^(42, 230). Como se aprecia en nuestra muestra, una sola medición es claramente insuficiente para evaluar la participación mastocitaria, en especial en las reacciones más leves cuando el incremento de esta proteasa es pequeño.

El tiempo del valor pico o máximo detectable de triptasa ha sido muy variable en los casos en que se serió la extracción de la muestra hemática. Se observa una gran diferencia entre ellos: desde menos de 30 minutos en dos ANA, una por fluoresceína y otra por dipirona, y en dos SA por eritromicina y por cotrimoxazol, hasta más de 5 horas en un shock anafiláctico por amoxicilina.

Otra observación a destacar, es que en varios de los pacientes se cuantificaron niveles pico de triptasa muy elevados en los primeros 30 minutos, y sin embargo a las 2 horas eran totalmente solapables con los valores basales. Así que si se extrae la muestra hemática una sola vez, a las 2 horas, no se detectan los niveles altos de triptasa que pueden alcanzar el pico en la primera hora y consecuentemente se pierde sensibilidad y especificidad de la técnica. Este hecho debe hacer considerar la posibilidad de extraer la muestra de sangre en varios momentos: inmediatamente o en los primeros 30 minutos tras el inicio de los síntomas, a las 2 horas y a las 4 horas, además de la extracción basal.

También Ohtsuka ⁽¹⁵³⁾ objetivó en su estudio de reacciones sistémicas por alimentos, la necesidad de seriar la extracción de sangre al obtener picos de triptasa entre 1 y 4 horas. Otros investigadores han observado que tras la picadura de himenópteros los pacientes elevan la triptasa sérica precozmente, hacia los 15-30 minutos ⁽⁸⁵⁾.

7.2. Vía de administración, período de latencia y gravedad de los síntomas

El período de latencia del inicio de los síntomas, la cantidad de triptasa liberada o la gravedad de la reacción no parecen tener relación en los pacientes con el tiempo del valor pico o máximo de triptasa detectable, apreciándose una gran variabilidad entre pacientes.

7.2.1. En cuanto al periodo de latencia, se observan mediciones de triptasa sérica muy elevadas en reacciones con un periodo de latencia de escasos minutos o inmediatas, pero también en otras con un tiempo de latencia de 30-60 minutos.

Se aprecia que existe una asociación muy débil entre el tiempo de latencia y la cantidad de triptasa detectada al considerar el conjunto de todas las reacciones. Posiblemente esta asociación débil pero existente, se deba al hecho de haber incluido las reacciones de idiosincrasia que además de ser leves presentaron un tiempo de latencia mayor que las reacciones alérgicas, hasta tres horas en algunos casos. De hecho, al estudiar sólo las reacciones alérgicas de los grupos SA, ANA y URT-AE, se observa que en realidad no existe una asociación estadísticamente significativa entre la cantidad de triptasa liberada y el tiempo de latencia.

7.2.2. La vía de administración no permite extraer una información fiable, al contar sólo con una reacción desencadenada por vía intravenosa. Quizás si se hubieran incluido un mayor número de reacciones por medicamentos administrados por esta vía, se habría podido observar alguna

característica diferenciadora en todas ellas, respecto de la vía oral. No obstante se observó en un shock anafiláctico por fluoresceína intravenosa, una elevación drástica de los niveles séricos de triptasa, que alcanzaron 66,21 U/l en los primeros 30 minutos, pero también se obtuvo una elevación de hasta 53,04 U/l en el mismo tiempo, en otro SA causado por eritromicina administrada por vía oral.

7.2.3. En cuanto a la gravedad de los síntomas, en las tres reacciones graves seriadas provocadas por amoxicilina oral, una paciente que presentó un SA de inicio inmediato tras la toma de la dosis, no alcanzó el pico de triptasa hasta casi 6 horas después. Otro paciente con el mismo cuadro clínico elevó los niveles de triptasa hasta su máximo a las 2 horas y, en un tercero el nivel máximo detectado resultó ser el correspondiente a las 4 horas. Al comparar estas tres reacciones lo único que varió fue el momento de obtención del pico de triptasa, ya que en los tres casos el medicamento implicado fue la amoxicilina, la vía de administración fue la oral, el período de latencia osciló entre unos minutos y ½ hora, y los síntomas fueron graves con compromiso vital en todos ellos.

En realidad, lo único objetivable es la relación directamente proporcional existente entre el aumento de triptasa sérica y la gravedad de la reacción alérgica desencadenada por el medicamento.

8. SERIACIÓN DEL NIVEL DE TRIPTASA EN UN SHOCK ANAFILÁCTICO POR AMOXICILINA

Al analizar los valores de triptasa sérica obtenidos en esta paciente, se puede extraer información muy interesante sobre la desgranulación mastocitaria al torrente sanguíneo y el comportamiento de la triptasa a lo largo de las horas siguientes al inicio de los síntomas, y poder cotejar las dos técnicas de detección: RIACT® y UniCAP®.

En este shock anafiláctico se pudieron seriar los niveles de triptasa sérica a lo largo de 24 horas y cuantificarla con las dos técnicas de medición para poder compararlas. Con ambos métodos se obtuvieron resultados superponibles en cuanto a la detección de un gran incremento de esta proteasa, pero con la técnica UniCAP® se logró cuantificar mayor cantidad de triptasa al medir tanto la triptasa activa como la inactiva, es decir la α y la β -triptasa, y por ello la morfología de la curva que se dibuja con los niveles seriados, es más alta y clara, alejándose en mayor medida de sus niveles basales en comparación con la gráfica de la técnica RIACT® (fig.14), que detecta solamente la triptasa inactiva o β -triptasa. De todos modos, el momento en que se logró el pico de triptasa fue similar en ambos ensayos, hacia las 4 horas; así como el descenso gradual hasta confundirse con los niveles basales hacia las 24 horas de evolución del shock anafiláctico.

Al realizar el estudio estadístico, la correlación existente entre ambas técnicas de detección de triptasa fue muy alta, con un valor de $r= 0,99$; $p < 0,001$ dato que confirma un comportamiento idéntico en la elevación y el descenso de la triptasa sérica cuantificada con los dos ensayos. Por todo ello, en esta paciente, ambas técnicas de cuantificación de triptasa sérica fueron de igual utilidad diagnóstica.

VI. CONCLUSIONES

Las conclusiones de este trabajo son las siguientes:

1ª- El estudio de la variación del nivel de triptasa sérica en las reacciones adversas a medicamentos es útil para diferenciar las reacciones alérgicas graves de las reacciones no alérgicas.

2ª- El incremento de triptasa sérica es proporcional a la gravedad de la reacción alérgica a un medicamento. En las reacciones alérgicas leves, la determinación de triptasa sérica no es útil como ayuda diagnóstica.

3ª- En las reacciones leves de intolerancia se demuestra la participación mastocitaria, pero el incremento de triptasa no es útil como herramienta diagnóstica.

4ª- Existe una gran variabilidad interindividual en la cinética de liberación y por tanto, en la participación de la triptasa sérica en las reacciones alérgicas a medicamentos. Se propone su determinación al menos en tres muestras de sangre obtenidas desde el inicio de la reacción: en la primera ½ hora, a las 2 horas y a las 4 horas.

5ª- El punto de corte de la técnica UniCAP® es necesario disminuirlo de 13,50 U/l a 9,45 U/l y no es útil de forma aislada para la valoración de una reacción adversa a un medicamento.

6ª- La técnica UniCAP® detecta mayor cantidad de triptasa sérica y es más sencilla de realizar pero presenta una sensibilidad y una especificidad similares a las de la técnica RIACT®.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- 1- Organización Mundial de la Salud: "Vigilancia farmacológica internacional. Función del hospital". Serie de Informes Técnicos, 425. Ginebra, 1969.
- 2- Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drugs reactions in hospitalized patients. A meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998; 279: 1200-1205.
- 3- Stephens MD. The detection of new adverse drug reactions. Ed. London: Mac Millan Press, 1988.
- 4- Morales C, Guerrero F. Alergia a antibióticos no betalactámicos y quimioterápicos. En *Tratado de Alergología e Inmunología Clínica*. Tomo VII. Alergología Clínica (V). SEAIC Edit. Luzán 5 SA; 1986: 237-245.
- 5- Amos HE. The problems of adverse drug reactions. In *Allergic drug reactions*. Ed. Arnold E. 1976; 1-8.
- 6- Coombs RRA, Gell PGH. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In: Gell PGH, Coombs RRA y Lachman PJ. *Clinical aspects of Immunology*. Eds. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1975, 761.
- 7- Sullivan TJ. Drug allergy. In *Drug Allergy*. Vol. II. Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF Jr, Yunginger JW, Busse WW (Eds). St. Louis: Mosby, 1993: 1726-1746.
- 8- Gruchalla RS, Pesenko RD, Do TT, Skiest DJ. Sulfonamide-induced reactions in patients with AIDS. Role of covalent protein haptentation. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 371-378.
- 9- Kalish R, La Porte A, Wood J, Johnson K. Sulfonamide-reactive lymphocytes detected at very low frequency in the peripheal blood of patients with drug-induced eruptions. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94: 465-472.
- 10- Hertl M, Bohlen Jugert F, Boeker C, Knaup R, Merk H. Predominance of epidermal CD8+ T lymphocytes in bullous cutaneous reactions caused by beta-lactams antibiotics. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 794-799.

- 11- Hertl M, Jugert F, Merk H. CD8+ dermal T cells from sulphametoxazol-induced bullous exanthem proliferate in response to drug-modified liver microsomes. *Br J Dermatol* 1995; 132: 215-220.
- 12- Murphy G, Guillén F, Flynn T. Cytotoxic T lymphocytes and phenotypically abnormal epidermal dendritic cells in fixed cutaneous eruption. *Hum Pathol* 1985; 16: 1264-1271.
- 13- Paul C, Wolkenstein P, Adle H et al. Apoptosis as a mechanism of keratinocyte death in toxic epidermal necrolysis. *Br J Dermatol* 1996; 134: 710-714.
- 14- van Arsdell PP. *Immunology and Allergy Clinics of North America: Drug Allergy*. W.B. Saunders Company 1991, vol 11; pág 595.
- 15- Blanca M, Canto G, Fernández J, García-Robaina C, Juste S, López-Serrano C, Martí Guadaño E, Martínez I. Comité de reacciones medicamentosas de la SEAIC Reacciones adversas a fármacos con base inmunológica. Una visión a largo plazo. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1997; 12: 283-286.
- 16- De Weck AL. Allergic reactions to drugs. Penicillins and cephalosporins. In: de Weck AL, Bundgaard H, eds. *Handbook of Experimental Pharmacology*. Berlin, Springer-Verlag, 1983; 63: 423-464.
- 17- Patterson R, Anderson J. Allergic reactions to drugs and biologic agents. *J Am Med Assoc* 1982; 248: 2637-2645.
- 18- Litt JZ. *Drug eruption reference manual*. New York: Parthenon, 1997.
- 19- Phol LR, Satoh H, Christ DD, Kenna JG. The immunologic and metabolic basis of drug hypersensitivities. *Ann Rev Pharmacol* 1988; 28: 367-387.
- 20- Holgate ST, Robinson C, Church MK. Mediators of immediate hypersensitivity. In Middleton; *Allergy: principles and practice*. Mosby Company, 1988; cap. 8: 128-163.

- 21- Levy JH, Levi R. Diagnosis and treatment of anaphylactic/anaphylactoid reactions. Monographs in Allergy. De E. Assem. Karger 1992; 30: 130-144.
- 22- De Shazo R, Kemp S. Allergic reactions to drugs and biological agents. JAMA 1997, 278: 1895-1906.
- 23- Schwartz LB. Tryptase, a mediator of human mast cells. J Allergy Clin Immunol 1990; 86: 594-598.
- 24- Metcalfe D, Costa J, Parris RB. Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. Segunda Edición 1992; cap. 34: 709-724.
- 25- Yunginger JW. Anaphylaxis. Ann Allergy 1992; 69: 87-96.
- 26- Bochner BS, Lichtenstein LM. Anaphylaxis. N Engl Med 1991; 324: 1785-1790.
- 27- Schwartz LB, Austen KF. The mast cell mediators of immediate hypersensitivity. In: Samter M, Talmage DW, Frank MM, Claman HN, eds. Immunologic diseases. Boston: Little, Brown and Company, 1988: 157.
- 28- Ehrlich P. Beiträge zur kenntniss der anilinfärbungen und ihrer verwendung in der mikroskopischen technik. Arch Mikr Anat 1876, 13; 263-277.
- 29- Dale HH, Laidlaw PP. The physiologic action of beta-imidazolethylamine. J Physiol, London: 1910; 41: 318.
- 30- Brown MJ, Causo NR, Lee TH. A novel double-isotope technique for enzymatic assay of plasma histamine: application to estimation of mast cell activation assessed by antigen challenge in asthmatics. J Allergy Immunol Clin 1982; 69: 20-24.
- 31- Young JD-E, Liu C-C, Butler G, Cohn ZA, Galli SJ. Identification, purification and characterization of a mast cell-associated cytolytic factor related to tumor necrosis factor. Proc Natl Acad Sci USA 1987; 84: 9175-9178.

- 32- Kirshenbaum AS, Goff JP, Kessler SW, Mican JM, Zsebo KM, Metcalfe DD. Effect of IL-3 and stem cell factor on appearance of human basophils and mast cells from CD34+ pluripotent progenitor cells. *J Immunol* 1992; 148: 772.
- 33- Valent P, Spanblochl E, Sperr WR, Sillaber C, Zsebo KM, Agis H, Strobl H, Geissler K, Bettelmast cells. *Ophthalmology* 1990; 97: 1678-1683.
- 34- Irani AMA, Schwartz LB. Heterogeneidad de las células cebadas humanas. *Allergy and Asthma Proc "Edición Española"* 1995; 3: 39-44.
- 35- Mitsui H, Furitsu T, Dvorak AM, Irani AMA, Schwartz LB, Inagaki N, Takei M, Ishizaka K, Zsebo KM, Gills S, Ishizaka T. Development of human mast cells from umbilical cord blood cells by recombinant human and murine c-kit ligand. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; 90: 735.
- 36- Zsebo KM, Wypych J, Mc Niece IK, Lu HS, Smith KA, Karkare SB, Sachdev RK, Yuschenkoff VN, Birkett NC, Williams LR, Satyagal VN, Tung W, Bosseiman RA, Mendlaz EA, Langley KE. Identification, purification and biological characterization of hematopoietic stem cell factor from buffalo rat liver-conditioned medium. *Cell* 1990; 63: 195.
- 37- Copeland NG, Gilbert DJ, Cho BC, Donovan PJ, Jenkins NA, Cosman D, Anderson D, Lyman SD, Williams DE. Mast cell growth factor maps near the steel locus on mouse chromosome 10 and is deleted in a number of steel alleles. *Cell* 1990; 63: 175.
- 38- Nocka K, Buck J, Levi E, Besmer P. Candidate ligand for the c-kit transmembrane kinase receptor: KL, a fibroblast derived growth factor stimulates mast cells and erythroid progenitors. *EMBO J* 1990, 9: 3287.
- 39- Saito H, Ikura Y, Fukagawa K, Tsubota K, Azuma N, Oguchi Y. Histamine and tryptase levels in allergic conjunctivitis and vernal keratoconjunctivitis. *Cornea* 1994, 13: 345-348.
- 40- Schwartz LB, Lewis RA, Seldin D, et al. Acid hydrolases and tryptase from secretory granules of dispersed human lung mast cells. *J Immunol* 1981; 126: 1290-1294.

- 41- Irani AMA, Schechter NM, Craig SS, DeBlois G, Schwartz LB. Two types of human mast cells that have distinct neutral protease composition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4464-4468.
- 42- Schwartz LB, Atkins PC, Bradford TR, Fleekop P, Shalit M, Zweiman B. Release of tryptase together with histamine during the immediate cutaneous response to allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 80: 850-855.
- 43- Tharp MD, Kagey-Sobotka A, Fox CC, Marone G, Lichtenstein LM, Sullivan TJ. Functional heterogeneity of human mast cells from different anatomic sites: in vitro responses to morphine sulphate. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 79: 646-653.
- 44- Craig SS, Schechter NM, Schwartz LB. Ultrastructural analysis of human T and TC mast cells identified by immunoelectron microscopy. *Lab Invest* 1988; 58: 682-691.
- 45- Schwartz LB. Mast cells and their role in urticaria. *J Am Acad Dermatol* 1991; 25: 190-203.
- 46- Schwartz LB. Monoclonal antibodies against human mast cell tryptase demonstrate shared antigenic sites on subunits of tryptase and selective localization of the enzyme to mast cells. *J Immunol* 1985; 1234: 526-31.
- 47- Schwartz LB, Irani AMA, Roller K y cols. Quantitation of histamine, tryptase and chymase in dispersed human T and TC mast cells. *J Immunol* 1987; 138: 2611-15.
- 48- Weidner N, Austen KF. Evidence for morphologic diversity of human mast cells. *Lab Invest* 1990; 63: 63-72.
- 49- Marone G, Casolaro V, Patella V, Florio G, Triggiani M. Molecular and cellular biology of mast cells and basophils. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 114: 207-217.
- 50- Welle M. Develop, significance, and heterogeneity of mast cells with particular regard to the mast cell-specific proteases chymase and tryptase. *Journal of Leukocyte Biology* 1997; 61: 233-245.

51- Kleinjan A, Godthelp T, Blom HM, Fokkens WJ. Fixation with Carnoy's fluid reduces the number of chymase-positive mast cells: not all chymase-positive mast cells are also positive for tryptase. *Allergy* 1996; 51: 614-620.

52- Burd PR, Rogers HW, Gordon JR et al. Interleukin 3-dependent and independent mast cells stimulated with IgE and antigen express multiple cytokines. *J Exp Med* 1989; 170: 245-257.

53- Schwartz LB. Differentiation of human mast cells and their involvement in asthma. *Asthma Fourth International Symposium*. Academic Press Ltd. 1993; 6: 67-88.

54- Galli SJ, Tsai M, Wershil BK et al. The effects of stem cell factor, the ligand of c-kit receptor, on mouse and human mast cell development, survival and function. En: *Biological and molecular aspects of mast cell and basophil differentiation and function*. Eds. Kitamura. New York: Raven Press Ltd., 1994: 1-11.

55- Gordon JR, Burd PR, Galli SJ. Mast cells as a source of multifunctional cytokines. *Immunol Today* 1990; 11: 458-464.

56- Romagnani P, De Paulis A, Beltrame C, Annunziato F, Dente V, Maggi E, Romagnani S, Marone G. Tryptase-chymase double-positive human mast cells express the eotaxin receptor CCR3 and are attracted by CCR3-binding chemokines. *Am J Path* 1999; 155: 1195-1204.

57- Bradding P, Okayama Y, Howarth PH, Church MK, Holgate ST. Heterogeneity of human mast cells based on cytokine content. *J Immunol* 1995; 155: 297-307.

58- Nilsson G, Schwartz LB. Mast-cell heterogeneity: structure and mediators. W Buse and Holgate, Eds., *Mechanism in Asthma and Rhinitis. Implications for Diagnosis and Treatment*. Blackwell Scientific Publications, Boston, 1994: 195-208.

59- Castells MC. Biología celular y molecular del mastocito. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1997; 12: 327-339.

60- Irani AMA, Garriga MM, Metcalfe DD, Schwartz LB. Mast cells in cutaneous mastocytosis: accumulation of the MCtc type cell. *Clin Exp Allergy* 1990; 20: 53-58.

- 61- Irani AM, Craig SS, DeBlois G, Elson CO, Schechter NM, Schwartz LB. Deficiency of the tryptase-positive, chymase-negative mast cell type in gastrointestinal mucosa of patients with defective T lymphocyte function. *J Immunol* 1987; 138: 4381-4386.
- 62- Nolte H. El papel de los mastocitos y basófilos en la inmunorregulación. *Allergy and Asthma Proc "Edición Española"* 1996; 4: 16-20.
- 63- Stellato C, Cirillo R, De Paulis A, Casolaro V, Patella V, Mastronardi P, Mazzarella B, Marone G. Human basophil/mast cell releasability. IX Heterogeneity of the effects of opioids on mediator release. *Anaesthesiology* 1992; 77: 932-940.
- 64- Enerbäck L. The differentiation and maturation of inflammatory cells involved in the allergic response: mast cells and basophils. *Allergy* 1997; 52: 4-10.
- 65- Schwartz LB, Huff TF. Biology of mast cells and basophils. In: Middleton Jr E, Reed CE, Ellis EF, Adkinson Jr NF, Yunginger JW, Busse WW, eds. *Allergy: Principles and Practice*. St Louis: Mosby-Year Book, Inc., 1993: 135-168.
- 66- Senent CJ et al. Reacciones adversas durante la anestesia general. Problemática actual. *Cuadernos de alergia, Lab. Leti. Edit. Luzán SA* 1997: 5-11.
- 67- Osman IAR, Garret JR, Smith RE. Enzyme histochemical discrimination between tryptase and chymase in mast cells of human gut. *J Histochem Cytochem* 1989; 37: 415-421.
- 68- Schwartz LB. Tryptase from human mast cells: biochemistry biology and clinical utility. *Monogr Allergy* 1990; 27: 90-113.
- 69- Schwartz LB, Lewis RA, Austen KF. Tryptase from human pulmonary mast cells: purification and characterization. *J Biol Chem* 1981; 256: 11939-11943.
- 70- Smith TJ, Hougland MW, Johnson DA. Human lung tryptase. Purification and characterization. *J Biol Chem* 1984; 259: 11046-11051.

- 71- Schwartz LB, Bradford TR, Lee DC, Chlebowski JF. Immunologic and physicochemical evidence of human mast cell tryptase from active tetramer to inactive monomer. *J Immunol* 1990; 144: 2304-2311.
- 72- Miller JS, Westin EH, Schwartz LB. Cloning and characterization of complementary DNA for human tryptase. *J Clin Invest* 1989; 84: 1188-1195.
- 73- Miller JS, Moxley G, Schwartz LB. Cloning and characterization of a second complementary DNA for human tryptase. *J Clin Invest* 1990; 86: 864-870.
- 74- Vanderslice P, Ballinger SM, Tam EK, Goldstein SM, Craik CS, Caughey GH. Human mast cell tryptase: multiple cDNAs and genes reveal a multigene serine protease family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 3811-3815.
- 75- Maier M, Spragg J, Schwartz LB. Inactivation of human molecular weight kininogen by human mast cell tryptase. *J Immunol* 1983; 130: 2352-2356.
- 76- Little SS, Johnson DA. Human mast cell tryptase isoforms: separation and examination of substrate-specificity differences. *Biochem J* 1995; 307: 341-346.
- 77- Castells MC, Irani AM, Schwartz LB. Evaluation of human peripheral blood leukocytes for mast cell tryptase. *J Immunol* 1987; 138: 2184-2189.
- 78- Schwartz LB, Bradford TM. Regulation of tryptase from human lung mast cells by heparin; stabilization of the active tetramer. *J Biol Chem* 1986; 261: 7372-7379.
- 79- Alter SC, Metcalfe DD, Bradford TR, Schwartz LB. Regulation of human mast cell tryptase. Effects of enzyme concentration, ionic strength and the structure and negative charge density of polysaccharides. *Biochem J* 1987; 248: 821-827.
- 80- Carjas K, Abernathy C, Schwartz LB. Serum alpha-tryptase, an update on its use to screen for systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 269.

- 81- Schwartz LB. Laboratory assessment of immediate hypersensitivity and anaphylaxis: Utilization of tryptase as a marker of mast cell-dependent events. En: Immunology and Allergy Clinics of North America: Diagnostic Laboratory Immunology, Huston DP. (ed.) W.B. Saunders Co., 1994.
- 82- Schwartz LB. Tryptase: a clinical indicator of mast cell-dependent events. Allergy Proc 1994; 15: 119-123.
- 83- Ishizaka T, Conrad D, Schulman E, Sterk A, Ishizaka K. Biochemical analysis of initial triggering events of IgE-mediated histamine release from human lung mast cells. J Immunol 1983; 130: 2357-2362.
- 84- Alter SC, Schwartz LB. Tryptase: an indicator of mast cell-mediated allergic reactions. Spector SL (ed). Provocative Challenge Procedures. Background and Methodology, Futura Publishing Company, Inc., Mount Kisco, NY; 1989: 167-183.
- 85- Schwartz LB, Yunginger JW, Miller J, Bokhari R, Dull D. Time course of appearance and disappearance of human mast cell tryptase in the circulation after anaphylaxis. J Clin Invest 1989; 83: 1551-1555.
- 86- Schwartz LB. The mast cell. In: Kaplan AP, ed. Allergy. New York: Churchill Livingstone 1985; 53-92.
- 87- Dvorak AM, Dvorak HF, Peters SP et al. Lipid bodies: cytoplasmic organelles important to arachidonate metabolism in macrophages and basophils. J Immunol 1983; 131: 2965-2976.
- 88- Peters SP, Mac Glashan DW, Schulman ES et al. Arachidonic acid metabolism in purified human lung mast cells. J Immunol 1984; 132: 1972-1979.
- 89- Patterson R, De Swarte R, Greenberger P, Grammer L et al. Drug allergy and protocols for management of drug allergies. Providence: Ocean Side Publications, Inc. 1995.
- 90- Gruchalla RS. Enfoque del paciente con sensibilizaciones a múltiples antibióticos. Allergy and Asthma Proc "Edición Española" 2000; 14: 37-42.

- 91- Démoly P, Kropf R, Bircher A, Pichler WJ. Drug hypersensitivity: questionnaire. *Allergy* 1999; 54: 999-1003
- 92- Ressler CH, Mendelson L. Skin-test for diagnosis of penicillin allergy current status. *Ann Allergy* 1987; 59: 167-170.
- 93- Sullivan TJ, Wedner HJ, Shatz GS, et al. Skin testing to detect penicillin allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 68: 171.
- 94- Malling HJ. Allergen standarization and skin tests. Methods of skin testing. Position paper. *Allergy* 1993; 48: 55-56.
- 95- Dreborg S, Backman A, Basomba A, Bousquet J, Dieges P, Malling HJ. Skin tests used in type I allergy testing. Position paper. *Allergy* 1989; 44.
- 96- Dreborg S, Frew A. Estandarización de alergenos y pruebas cutáneas. *Allergy* 1993; 14: 7-47.
- 97- Rubio M, Herrero T, de Barrio M, Tornero P, Aranzábal A, Rodríguez V, Gil P, Ordoqui E. Alergia a pirazonas. *Allergol e Immunopathol* 1994; 22: 104-106.
- 98- Kowalski ML, Bienkiewicz B, Woszczek G, Iwaszkiewicz J, Poniatowska M. Diagnóstico de la sensibilidad al fármaco pirazona: historia clínica frente a pruebas cutáneas y test *in vitro*. *Allergy and Asthma Proc "Edición Española"* 2000; 3: 7-13.
- 99- van MTJ, Adkinson NFJ, Kaegy-Sobotka A, Marsh DG, Normal PS, Rosenberg GL. How should we use skin testing to quantify IgE sensitivity? *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 583-586
- 100- Ordoqui E, De Barrio M, Rodríguez VM, Herrero T, Gil PJ, Baeza ML. Cross-sensitivity among oxicams in piroxicam-cause fixed drug eruption: two case reports. *Allergy* 1995; 50: 741-744.

- 101- Alanko K, Stubb S, Reitamo S. Topical provocation of fixed drug eruption. *Br J Dermatol* 1987; 116: 561-567.
- 102- Blanca M, Canto G, Fernández J, García-Robaina C, Juste S, López-Serrano C, Martí Guadaño E, Martínez I. Comité de reacciones medicamentosas de la SEAIC. Actualización de las normas generales para el diagnóstico de reacciones alérgicas a betalactámicos. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1997; 12: 204-207.
- 103- Baeza ML. Homologación de las técnicas de determinación de IgE específica en suero. *Allergol Immunopathol* 1996; 24: 31-35.
- 104- Blanca M, Torres MJ, Mayorga C, Romano A, Pérez-Inestrosa E, Suau R. *In vitro* methods for quantifying IgE antibodies to betalactams. *Allergy* 1999; 58: 8-12.
- 105- Torres MJ, González FJ, Mayorga C, Fernández M, Juárez C, Romano A et al. IgG and IgE antibodies in subjects allergic to penicillins recognise different parts to penicillin molecule. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 113: 342-344.
- 106- Baldo BA, Fisher MM. Substituted ammonium ions as allergenic determinants in drug allergy. *Nature* 1983; 306: 262-264.
- 107- Baldo BA, Fisher MM. Anaphylaxis to muscle relaxant drugs: cross-reactivity and molecular basis of binding IgE antibodies detected by radioimmunoassay. *Mol Immunol* 1983; 20: 1393-1400.
- 108- Schulze S, Niggemann B, Savaser AN, Wahn U. Age-dependent normal values of urinary histamine and 1-methylhistamine in children. *Pediatr Allergy Immunol* 1992; 3: 150-154.
- 109- Baldo AB, Harle DG. Drug allergenic determinants. *Monogr Allergy* 1990; 28: 11-51.
- 110- Baldo BA, Fisher MM. Diagnosis of IgE-dependent anaphylaxis to neuromuscular blocking drugs, thiopentone and opioids. *Ann Fr Anesth Réanim* 1993; 12: 173-181.

- 111- Vervloet D. Allergy to muscle relaxants in general anaesthesia. *Presse Med* 1989; 18: 513-514.
- 112- Pascual C, Crespo JF, Quiralte J, López C, Wheeler G, Martín-Esteban M. *In vitro* detection of specific IgE antibodies to erythromycin. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95: 668-671.
- 113- Harle DG, Baldo BA, Wells JV. Drugs as allergens. Detection and combining site specificities of IgE antibodies to sulfamethoxazole. *Mol Immunol* 1988; 25: 1347-1354.
- 114- Carrington DM, Earl HS, Sullivan TJ. Studies of human IgE to a sulfonamide determinant. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 79: 442-447.
- 115- Harle DG, Baldo BA, Smal MA, van Nunen SA. An immunoassay for the detection of IgE antibodies to trimethoprim in the sera of allergic patients. *Clin Allergy* 1987; 17: 209-216.
- 116- Schulze S, Niggemann B, Savaser AN, Wahn U. Diurnal variation of urinary histamine and 1-methylhistamine excretion in healthy children. *Allergy* 1992; 47: 644-649.
- 117- Baldwin JL. Pharmacologic food reactions. En *Food Allergy: adverse reaction to foods and foods additives*: Metcalfe DD, Sampson HA and Simon RA. Blackwell Science Eds. Massachussets 1997; 419.
- 118- Imamura I, Watanabe T, Maeyama K, Kubota A, Okada A, Wada H. Effect of food intake on urinary excretions of histamine, N-tau-methylhistamine, imidazole acetic acid and its conjugate(s) in human and mice. *J Biochem* 1984; 96: 1931-1937.
- 119- Keyzer JJ, Breukelman H, Wolthers BG, van den Heuvel M, Kromme N, Berg WC. Urinary excretion of histamine and some of its metabolites in man: influence of the diet. *Agents Actions* 1984; 115: 189-194.
- 120- Brown MA, Pierce JH, Watson CJ, Falco J, Ihle JN, Paul WE. B cell stimulatory factor-1 / interleukin-4 mRNA is expressed by normal and transformed mast cells. *Cell* 1987; 50: 809-815.

121- Chevrier D, Guesdon JL, Mazie JC, Avrameas S. Enzyme Immunoassay for measurement of histamine. *J Immunol Meth* 1986; 94: 119-125.

122- Shore P, Burkhalt A, Cohn VH. A method for the fluorometric assay of histamine analysis system. *J Pharmacol Exp Ther* 1959; 127: 182-186.

123- Siraganian RP. Automated histamine analysis for in vitro allergy testing. Correlation of skin test results with in vitro whole blood histamine release in 82 patients. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 59: 214-222.

124- Atkins PC, Valenzano M, Zweiman B. Plasma concentrations of histamine measured by radioenzymatic assay: effects of histamine incubations. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 69: 39.

125- Sanz ML, Prieto I, Oehling A. The histamine release test as an important complement to the diagnosis of allergic diseases. *ACI News* 1995; 782: 56-61.

126- Igea JM, Fraj J, Dávila I, Cuevas M, Cuesta J, Hinojosa M. Allergy to cefazolin: study of *in vivo* cross reactivity with other betalactams. *Ann Allergy* 1992; 68: 515-519.

127- Démoly P, Lebel B, Messaad D, Sahla H, Rongier M, Daurès JP, Godard P, Bousquet J. Predictive capacity of histamine release for the diagnosis of drug allergy. *Allergy* 1999; 54: 500-406.

128- May D, Remigio L. Observations on high spontaneous release of histamine from leukocytes in vitro. *Clin Allergy* 1982; 12: 229-241.

129- Shelley WB. New serological test for allergy in man. *Nature* 1962; 195: 1181-1183.

130- Hirsch SR, Zastrow JE. Basophil degranulation: a new method of observation and its correlation with skin testing. *J Allergy Clin Immunol* 1972; 50: 338-347.

131- Leynadier F, Luce H, Dry J. Méthodologie simplifiée du test de dégranulation des basophiles humains. *Rev Fr Allergol* 1981; 21: 173-175.

132- Sainte Laudy J, Sabbah A, Vallon C, Guerin JC. Analysis of anti-IgE and allergen induced human basophil activation by flow cytometry. Comparison with histamine release. *Inflam Resp* 1998; 47: 401-408.

133- Sanz ML, de Weck AL, Uasuf C, Gamboa PM, Chazot M. Use of flow cytometry to assess basophil activation in patients allergic to betalactam antibiotics. Correlation between flow cytometric allergen stimulation test (FAST) and other *in vivo* and *in vitro* tests. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 124: 307-308.

134- Knutti-Muller JM, Stadler BM, Magnusson CM, de Weck L. Human IgE synthesis *in vitro*. Detection with monoclonal antibodies. *Allergy* 1986; 41: 457-467.

135- Nakajima K, de Weck AL, Stadler BM. Effect of anti-IgE antibodies on IgE binding to CD23. *Allergy* 1989; 44: 187-191.

136- Kubota Y, Imaya S, Miyahara H, Tanahashi T, Uemura Y, Koga T, Sugawara N, Kurimoto F, Hata K. Sulfidoleukotriene release test (CAST) in hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 114: 361-366.

137- Mauri-Hellweg D, Bettens F, Mauri D y cols. *In vitro* and *in vivo* T-cell response to drugs in drug allergic individuals. *J Immunol* 1995; 155: 462-472.

138- Nyfeler B, Pichler WJ. The lymphocyte transformation test for the diagnosis of drug allergy: sensitivity and specificity. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 175-181.

139- Bigby M, Jick S, Jick H, Arndt K. Drug induced cutaneous reactions. *JAMA* 1986; 256: 3358-3363.

140 - Gregg I. Ampicillin rash and influenza. *BMJ* 1973; 1: 295.

141- Pullen H, Wright N, Murdoch JM. Hypersensitivity reactions to antibacterial drugs in infectious mononucleosis. *Lancet* 1967: 1176-1178.

142- Shapiro S, Siskind V, Slone D, Lewis GP, Jick H. Drug rash with ampicillin and other penicillins. *Lancet* 1969; 969-972.

143- Schwartz LB, Metcalfe D, Miller JS, Earl H, Sullivan T. Tryptase levels as an indicator of mast-cell activation in systemic anaphylaxis and mastocytosis. *N Engl J Med* 1987; 25: 1622-1626.

144- Galindo PA, Borja J, Feo F, Gómez E, García R, Cabrera M, Martínez C. Anaphylaxis to omeprazole. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82: 52-54.

145- Moreno F, Blanca M, Fernández J, Ferrer A, Mayorga C, Del Caño A, Aguilar F, Juárez C, García J. Determinación de marcadores de inflamación en las reacciones alérgicas a medicamentos. *Allergy Proc "Edición Española"* 1995, 6: 16-19.

146- Lin RY, Schwartz LB, Curry A, Pesola GR, Knight RJ, Lee HS, Ba L, Tenenbaum C, Westfal RE. Histamine and tryptase levels in patients with acute allergic reactions: An emergency department-based study. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 65-71.

147- Stellato C, de Crescenzo G, Patella V, Mastronardi B, Mazzarella B, Marone G. Human basophil / mast cell releasability. XI. Heterogeneity of effects of contrast media on mediator release. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 838-850.

148- López-Sáez MP, Ordoqui E, Tornero P, Baeza A, Saínza T, Zubeldia JM, Baeza ML. Fluorescein-induced allergic reaction. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 81: 428-430.

149- Butrus SI, Negvesky GJ, Rivera-Velazques PM, Schwartz LB. Serum tryptase: an indicator of anaphylaxis following fluorescein angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237: 433-434.

150- Sabbah A, Hassoun S, Drouet M, Lauret MG. Du diagnostic dynamique de l'allergie par le dosage séquentiel des médiateurs: à propos d'une observation d'allergie alimentaire. *Allerg Immunol (Paris)* 1994; 26: 2-5.

151- Vila L, Sanz ML, Sánchez-López G, García-Avilés C, Diéguez I. Variations of serum eosinophil cationic protein and tryptase, measured in serum and saliva, during the course of immediate allergic reactions to foods. *Allergy* 2001; 56: 568-572.

152- Beyer K, Niggemann B, Schulze S, Wahn U. Serum tryptase and urinary 1-methylhistamine as parameters for monitoring oral food challenges in children. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 104: 348-351.

153- Ohtsuka T, Matsumaru S, Uchida K, Onorobi M, Matsumoto T, Kuwahata K, Arita M. Time course of plasma histamine and tryptase following food challenges in children with suspected food allergy. *Ann Allergy* 1993; 71: 139-146.

154- Sampson HA, Mendelson L, Rosen JP. Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. *N Engl J Med* 1992; 327: 380-384.

155- van der Linden PG, Hack CE, Poortman J, Vivié-Kipp YC, Struyvenberg A, van der Zwan JK. Insect-sting challenge in 138 patients: relation between clinical severity of anaphylaxis and mast cell activation. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 14: 190-204.

156- Hermann K, von Tschirschnitz M, von Eschenbach Ceet al. Histamine, tryptase, norepinephrine, angiotensinogen-converting enzyme, angiotensin I and II in plasma of patients with hymenoptera venom anaphylaxis. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 104: 379-384.

157- Laroche D, Dubois F, Lefrançois C, Vergnaud MC, Gérard JL, Soufarapis H, Sillard B, Bricard H. Marqueurs biologiques précoces des réactions anaphylactoïdes peranesthésiques. *Ann Fr Anesth Réanim* 1992; 11: 613-618.

158- Matsson P, Enander I, Andersson AS, Nystrand J, Schwartz LB, Watkins J. Evaluation of mast cell activation (tryptase) in two patients suffering from drug-induced hypotensoid reactions. *Agents and Actions* 1991; 33: 218-220.

159- Schwartz LB, Sakai K, Bradford TR, Ren S, Zweiman B, Worobec AS, Metcalfe DD. The α -form of human tryptase is the predominant type in blood at baseline in normal subjects and is elevated in those with systemic mastocytosis. *J Clin Invest* 1995; 96: 2702-2710.

160- Granerus G, Lonnqvist B, Nystrand J, Roupe G. Serum tryptase measured with B12 and G5 antibody-based immunoassays in mastocytosis patients and its relations to histamine turnover. *Br J Dermatol* 1998; 139: 858-861.

161- Schwartz LB, Irani AM. Serum tryptase and the laboratory diagnosis of systemic mastocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am* 2000;14: 641-657.

162- Kanthawatana S, Carias K, Arnaout T, Hu J, Irani AM, Schwartz LB. The potencial clinical utility of serum α -protryptase levels. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 1092-1099.

163- An epidemiologic study of severe anaphylactic and anaphylactoid reactions among hospital patients: methods and overall risks. *International Collaborative Study of Severe Anaphylaxis. Epidemiology* 1998; 9: 141-146.

164- Butrus SI, Ochsner KI, Abelson MB, Schwartz LB. The level of tryptase in human tears. An indicator of activation of conjunctival mast cells. *Ophthalmology* 1990; 97: 1678-1683.

165- Magrini L, Bonini S, Centofanti M, Schiavone M, Bonini S. Tear tryptase levels and allergic conjunctivitis. *Allergy* 1996; 51: 577-581.

166- Castells MC, Schwartz LB. Tryptase levels in nasal-lavage fluid as an indicator of the immediate allergic response. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82: 348-355.

167- van Toorenenbergen AW, Van Wuk RG, Vermeulon AM, Zijlstra FJ. Increase of albumin, eosinophil cationic protein, histamine, leukotrienes, and mast cell tryptase in nasal lavage fluid after challenge with inhalant allergen extract. *Agents Actions, Special Conference Ussue*. Ed. Birkhäuser Verlag, Basel 1992; 36: 421-424.

168- Rasp G, Hochstrasser K. Tryptase in nasal fluid is a useful marker of allergic rhinitis. *Allergy* 1993; 48: 72-74.

169- Fischer AR, Rosenberg MA, Lilly CM, Callery JC, Rubin P, Cohn J, White MV, Igarashi Y, Kaliner MA, Drazen JM, Israel E. Direct evidence for a role of the mast cell in the nasal response to aspirin in aspirin-sensitive asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94: 1046-1056.

170- Jacobi HH, Skov PS, Kampen GT, Poulsen LK, Reimert CM, Bindslev-Jensen C, Praetorius C, Malling HJ, Mygind N. Histamine and tryptase in nasal lavage fluid following challenge with methacholine and allergen. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 83-91.

171- Bernardini R, Novembre E, Mugnaini L, Rossi ME, Vierucci A. Proteína catiónica del eosinófilo (ECP) y triptasa en el lavado nasal (LN) de niños con rinitis polínica: el efecto levocabastina. *Allergy and Asthma Proc "Edición Española"* 1998; 5: 14-19.

172- Hurst DS, Amin K, Seveus L, Venge P. Mast cell and tryptase in the middle ear of children with otitis media with effusion. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1999; 49: 315-319.

173- D'Auria L, Pietravalle M, Cordiali-Fei P, Ameglio F. Increase tryptase and myeloperoxidase levels in blister fluids of patients with bullous pemphigoid: correlations with cytokines, adhesion molecules and anti-basement membrane zone antibodies. *Exp Dermatol* 2000; 9: 131-137.

174- Lavery JP, Lisse JR. Preliminary study of the tryptase levels in the synovial fluid of patients with inflammatory arthritis. *Ann Allergy* 1994; 72: 425-427.

175- Malone DG, Irani AM, Schwartz LB, Barret KE, Metcalfe DD. Mast cell numbers and histamine levels in synovial fluids from patients with diverse arthritides. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 956-963.

176- Bettiol J, Radermecker M, Sele J, Henquet M, Cataldo D, Louis R. Airway mast-cell activation in asthmatics is associated with selective sputum eosinophilia. *Allergy* 1999; 54: 1188-1193.

177- Wenzel SE, Fowler AA III, Schwartz LB. Activation of pulmonary mast cells by bronchoalveolar allergen challenge. *In vivo* release of histamine and tryptase in atopic subjects with and without asthma. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137: 1002-1008.

178- Svensson C, Grönneberg R, Andersson M, Alkner U, Andersson O, Billing B, Gilljam H, Greiff L, Persson CGA. Allergen challenge-induced entry of α_2 -macroglobulin and tryptase into human nasal and bronchial airways. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 239-246.

- 179- Pumphrey RS, Roberts IS. Postmortem findings after fatal anaphylactic reactions. *J Clin Pathol* 2000; 53: 273-276.
- 180- Vinuya RZ, Simon MR, Schwartz LB. Elevated serum tryptase levels in a patient with protracted anaphylaxis. *Ann Allergy* 1994; 73: 232-234.
- 181-Tanus T, Mines D, Atkins PC, Levinson AI. Serum tryptase in idiopathic anaphylaxis: A case report and review of the literature. *Ann Emerg Med* 1994; 24: 104-107.
- 182- Schwartz LB. Elevated serum tryptase in exercise-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95: 917-919.
- 183- Benson MD, Lindberg RE. Amniotic fluid embolism, anaphylaxis and tryptase. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 737.
- 184- Yunginger JW, Nelson DR, Squillace DL, Jones RT, Holley KE, Hyma BA et al. Laboratory investigation of death due to anaphylaxis. *J Forensic Sci* 1991; 36: 857-865.
- 185- Alvarez MJ, Acero S, Mendoza H, Tabar AI. Cuantificación de las concentraciones de triptasa sérica en el diagnóstico de anafilaxia. *Med Clin (Barc)* 1998; 110: 357-358.
- 186- Edston E, van Hage-Hamsten, Johanson SGO. Tryptase at last a useful diagnostic marker for anaphylactic death. *Allergy* 1996; 51: 443-445.
- 187- Edston E, van Hage-Hamsten M. Beta-tryptase measurements postmortem in anaphylactic deaths and in controls. *Forensic Sci Int* 1998; 93: 135-142.
- 188- Fineschi V, Monasterolo G, Rosi R, Turillazzi E. Fatal anaphylactic shock during a fluorescein angiography. *Forensic Sci Int* 1999; 100: 137-142.
- 189- Ansari MQ, Zamora JL, Lipscomb MF. Postmortem diagnosis of acute anaphylaxis by serum tryptase analysis. A case report. *Am J Clin Pathol* 1993; 99: 101-103.

190- Salkie ML, Chir B, Mitchell I, Revers CWB, Karkhanis A, Butt J, Tough S, Green FHY. Niveles séricos postmortem de triptasa e IgE total y específica en el asma fatal. *Allergy and Asthma Proc* "Edición Española" 1998; 6: 9-11.

191- Edston E, Gidlund E, Wickman M, Ribbing H, van Hage-Hamsten M. Increased mast cell tryptase in sudden infant death-anaphylaxis, hypoxia or artefact?. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1648-1654.

192- Platt MS, Yunginger JW, Sekula-Perlman A, Irani AM, Smialek J, Mirchandani HG, Schwartz LB. Involvement of mast cells in sudden infant death syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94: 250-256.

193- Audicana M, Lobera T. Diagnóstico de las reacciones anafiláticas en anestesia general. XVI Reunión Anual de Alergonorte. Pamplona, 1996: 147-164. Edit. por Alergonorte y Lab. CBF Leti, Gráf. Cromotip SL, Barcelona.

194- Blasco A, Audicana M, Lobera T, Ansótegui I. Factores de riesgo de alergia en perianestesia. Resultados preliminares. XVII Reunión Anual Alergonorte. Santillana del Mar, 1997: 75-79. Edit. por Alergonorte y Lab. CBF Leti, Gráf. Cromotip SL, Barcelona.

195- Igea JM, Fernández M, Lázaro M. Reacciones pseudoalérgicas durante la anestesia general. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1997;12: 139-154.

196- Cottineau C, Drouet M, Costerousse F, Dussaussoy C, Sabbah A. Intérêt des médiateurs plasmatiques (histamine et tryptase) et urinaire (méthylhistamine) lors des réactions anaphylactiques et/ou anaphylactoïdes perianesthésiques. *Allergie et Immunologie* 1996; 28: 270-276.

197- Laxenaire MC, Moneret-Vautrin DA, Widmer S, Mouton C, Guéant JL. Substances anesthésiques responsables de chocs anaphylactiques. Enquête multicentrique française. *Ann Fr Anesth Réanim* 1990; 501-506.

198- Laxenaire MC, Mouton C, Moneret-Vautrin DA, Widmer S, Gueant JL et al. Drugs and other agents involved in anaphylactic shock occurring during anaesthesia. A french multicenter epidemiological inquiry. *Ann Fr Anesth Reanim* 1993; 12: 91-96.

199- Moneret-Vautrin DA, Laxenaire MC. The risk of allergy related to general anaesthesia. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 629-633.

200- Moneret-Vautrin DA, Laxenaire MC, Boileau S, Grilliat JP, Widmer S, Croizer A. Facteurs de risque des réactions anaphylactoides aux myorelaxants. Etude rétrospective à partir de 103 chocs. *Ann Fr Anesth Reanim* 1985; 4: 152-157.

201- Watkins J, Wild G. Improved diagnosis of anaphylactoid reactions by measurement of serum tryptase and urinary methylhistamine. Intérêt du dosage de la tryptase et de la méthylhistamine urinaire dans le diagnostic de la réaction anaphylactoïde peranesthésique. *Ann Fr Anesth Réanim* 1993; 12: 169-172.

202- Gruchalla RS. Diagnosis of allergic reactions to sulphonamides. *Allergy* 1999; 54: 28-32.

203- Blanca M, Canto G, Fernández J, García-Robaina C, Juste S, López-Serrano C, Martí Guadaño E, Martínez I. Comité de reacciones medicamentosas de la SEAIC. Consentimiento informado en alergia a medicamentos. Propuesta del Comité de Alergia a Medicamentos de la SEAIC. *Rev Esp Alergol Inmul Clin* 1996; 11: 250-252.

204- Alvarez Cuesta E, Cuesta J, Ureña V, Ibáñez MD, Moneo I, Alcover R. Hipersensibilidad a penicilina: análisis estadístico-epidemiológico de las técnicas utilizadas para su diagnóstico. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1988; 3: 51-60.

205- Sullivan TJ: Advances in the diagnosis and management of penicillin allergy. *Allergy Proc* 1985; 6: 160.

206- Enander I, Matsson P, Nystrand J, Andersson AS, Eklund E, Bradford TR, Schwartz LB. A new radioimmunoassay for human mast cell tryptase using monoclonal antibodies. *J Immunol Methods* 1991; 138: 39-46.

- 207- Wenzel S, Irani AA, Sanders JM, et al. Immunoassay of tryptase from human mast cells. *J Immunol Methods* 1986; 86: 139-142.
- 208- Schwartz LB, Bradford TR, Rouse C, Irani AM, Rasp G, van der Zwan JK, van der Linden PWG. Development of a new, more sensitive immunoassay for human tryptase. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 14: 190-204.
- 209- Martin J, Altman D. G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurements. *The Lancet* 1986; 8: 307-310.
- 210- Burgueño MJ, García-Bastos JC, González-Buitrago JM. Las curvas ROC en la evaluación de las pruebas diagnósticas. *Med Clin (Barc)* 1995; 104: 661-670.
- 211- Lang TA, Secic M. How to report statistics in medicine. Annotated findings for Authors, Editors and Reviewers. ACP series Medical Writing and Communication. Philadelphia PA 1997: 1572.
- 212- Swets JA. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* 1988; 240: 1285-1293.
- 213- De Benito V, Ordoqui E, Barrio M, Herrero T, Rodríguez VM, Zubeldia JM, Baeza ML. Anaphylactic shock following intraarticular injection of Peroxinorm®: a case report. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95: 290.
- 214- Ordoqui E, Zubeldia JM, Aranzábal A, Rubio M, Herrero T, Tornero P, Rodríguez VM, Prieto A, Baeza ML. Serum tryptase levels in adverse drug reactions. *Allergy* 1997; 52: 1102-1105.
- 215- Prieto JL. Alergia a analgésicos. *Tratado de Alergología e Inmunología Clínica. Tomo VII. Alergología Clínica (V)*. Edit. por la SEAIC, Luzán 5 S.A. Edit, Madrid 1992; 272.
- 216- *Alergológica 92. Mapa epidemiológico de la Alergia en España*. Edit. por SEAIC. Nilo Industria Gráfica Madrid, 1993.

- 217- Blanca M, Vega JM, García J, et al. New aspects of allergic reactions to betalactams. Cross-reactions and unique specificities. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 407-415.
- 218- Blanca M, Vega JM, García J, Carmona MJ, Terados S, Avila MJ, Miranda A, Juárez C. Allergy to penicillin with good tolerance to other penicillin; study of the incidence in subjects allergic to beta-lactams. *Clin Exp Allergy* 1990; 20: 445-447.
- 219- Sheperd G. Drug allergy: allergy to beta-lactam antibiotics. En: Harley JJ, editor. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. Saunders, 1991: 611-633.
- 220- De Weck AL. Immunopathological mechanisms and clinical aspects of allergic reactions to drugs. En *Allergic Reactions to Drugs*, ed. A.L. De Weck, H. Bundgaard. Berlin: Springer-Verlag; 1983: 75-133.
- 221- Blanca M, Torres MJ, García JJ, Romano A, Mayorga C, de Ramón E, Vega JM, Miranda A, Juárez C. Natural evolution of skin test sensitivity in patients allergic to beta-lactam antibiotics. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 918-924.
- 222- Blanca M. Allergic reactions to penicillins. A changing world? *Allergy* 1995; 50: 777-782.
- 223- Sonenthal K, McKnight T, Shaughnessy N y cols. Anaphylaxis during intrauterine insemination secondary to bovine serum albumin. *Fertility and Sterility* 1991; 56: 1188-1191.
- 224- Wüthrich B, Stern A, Johansson SGO. Severe anaphylactic reaction to bovine serum albumin at the first attempt of artificial insemination. *Allergy* 1995; 50: 179-183.
- 225- Caloto M. Anafilaxia postinseminación artificial. Sesiones Interhospitalarias Sociedad Madrid-Castilla La Mancha de Alergología e Inmunología Clínica, nº 6. Ed. Luzán S.A. Curso 1996-1997: 289-298.
- 226- Chivato T, Juan F, Montoro A, Laguna R. Anaphylaxis induced by ingestion of a pollen compound. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1996; 6: 208-209.

- 227- Chaussende C, Vernet G, Rifaillat Bonhomme D, Chanay C, Josue JJ. Severe allergic reaction after pollen ingestion. *Presse Med* 1990; 26: 1009.
- 228- Dechamp C. Anaphylaxis following pollen ingestion. *Allerg Immunol (Paris)* 1986; 18: 2.
- 229- Florido-López JF, González-Delgado P, Sáenz de San Pedro B, Pérez-Miranda C, Arias de Saavedra JM, Marín-Pozo JF. Allergy to natural honey and camomile tea. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 108: 170-174.
- 230- Fernández J, Blanca M, Moreno F, García J, Segurado E, Del Cano A, Aguilar F. Role of tryptase, eosinophil cationic protein and histamine in immediate allergic reactions to drugs. *Int Arch Immunol* 1995; 107: 160-162.
- 231- Fernández J, Esteban A. Detección de marcadores de inflamación. ¿Es útil en alergia a medicamentos? *Alergol Inmunol Clin* 2000; 15: 162-169.
- 232- Enrique E, García-Ortega P, Sotorra O, Gaig P, Richart C. Usefulness of UniCAP-Tryptase fluoroimmunoassay in the diagnosis of anaphylaxis. *Allergy* 1999; 54: 602-606.
- 233- Bosso JV, Schwartz LB, Stevenson DD. Tryptase and histamine release during aspirin-induced respiratory reactions. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88: 830-837.
- 234- Sabbah A, Drouet M, Guittot M. When the fluoro-immuno-enzymatic (FEIA) measurements turn out to be more sensitive than radioimmunologic (RIA) measurements. Application to the measurement of serum tryptase. *Allerg Immunol (Paris)* 1997; 8: 239-241.
- 235- Sladek K, Szczeklik A. Cysteinyl leukotrienes overproduction and mast cell activation in aspirin-provoked bronchospasm in asthma. *Eur Respir J* 1993; 6: 391-399.