

HIPERSENSIBILIDAD A BIOPELÍCULAS DE PROPÓLEO PARA CONSERVACIÓN DE FRUTAS



TRABAJO DE FIN DE GRADO - GRADO EN MEDICINA

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID



HOSPITAL UNIVERSITARIO
RÍO HORTEGA

AUTORA: **RAQUEL MARÍA DOMÍNGUEZ LÓPEZ**

TUTORA: **DRA. ALICIA ARMENTIA**

COTUTORA: **DRA. SARA MARTÍN**

Servicio de Alergia

Hospital Universitario Río Hortega

ÍNDICE

RESUMEN	3
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	5
• Reacciones alérgicas y alergia alimentaria	5
• Propóleos y sus propiedades	5
• Punto de partida de nuestro estudio.....	7
HIPÓTESIS	8
OBJETIVOS	9
PACIENTES Y MÉTODOS	9
• Pruebas "in vivo"	10
• Pruebas "in vitro"	11
RESULTADOS	12
• Características demográficas (Tabla 1).....	12
• Pruebas alérgicas a propóleos (Tabla 2)	13
• Características clínicas (Tabla 3)	14
• Diagnóstico molecular (Tabla 4)	14
• Pruebas alérgicas a frutas (Tabla 5 – Anexo)	15
• Western blot	15
DISCUSIÓN	17
CONCLUSIONES	18
BIBLIOGRAFÍA	19
ANEXO	22
• Consentimiento informado	24

Antecedentes: Las nuevas tecnologías en la conservación de alimentos hacen que nos exponamos a alérgenos insospechados. Una de las técnicas más utilizadas en la conservación y almacenamiento de frutas son las biopelículas que utilizan propóleos de abeja, sustancia que tiene un importante potencial alergénico y no se está probando en nuestras consultas, en parte por la falta de pruebas diagnósticas estandarizadas fiables.

Objetivo: Valorar la frecuencia de respuesta alérgica a propóleos en pacientes con alergia frutas en las que no se ha podido demostrar hipersensibilidad clara a las mismas por técnicas de diagnóstico alergológico habitual. El objetivo es averiguar si los propóleos empleados en la conservación de las frutas pueden ser responsables de la clínica de nuestros pacientes.

Material y Métodos: Introduciremos un extracto de propóleo en nuestra batería diagnóstica convencional, incluyendo a mayores frutas que suelen ser bañadas con propóleos. Se realizarán pruebas como el prick, IgE, provocación y parche a los pacientes que acudan a consulta durante un año. Se seleccionarán 4 grupos de pacientes: pacientes con clínica alérgica (urticaria, dermatitis...) relacionada con la ingesta de frutas, apicultores dedicados a la comercialización de propóleos, 50 pacientes sanos y 50 alérgicos exclusivamente al polen. A los pacientes con pruebas *in vivo* positivas a propóleos se les realizarán estudios *in vitro*, consistente en análisis molecular por microarrays CRD (*Component Resolved Diagnosis*) e inmunodetección. En aquellos que den su consentimiento se harán pruebas de provocación.

Resultados: Durante el año 2021 acudieron 1479 pacientes con síntomas de hipersensibilidad a alimentos. De ellos, 89 los asociaban claramente con frutas, pero 33 pacientes (37%) presentaban pruebas negativas a la batería convencional de frutas. De ellos, 31 presentaron pruebas *in vivo* e *in vitro* positivas a propóleos (2,09% entre los positivos a alimentos). Todos los apicultores con síntomas de anafilaxia por veneno de abeja presentaron hipersensibilidad a propóleos. Las proteínas más reconocidas en el extracto de propóleos por los pacientes (apicultores y alérgicos a frutas) estaban en el entorno a los 25-37 kDa y eran inhibidas por las fracciones de los demás extractos testados: propóleo, manzana, melocotón y veneno de abeja, así como las de más peso molecular, entre 50-70 kDa.

Conclusiones: Los propóleos que se utilizan para la protección de frutas pueden causar hipersensibilidad, en especial en pacientes con profesiones relacionadas con su manejo (apicultores, dentistas, lutieres). Se puede incluir un extracto de propóleos en las baterías utilizadas para descartar hipersensibilidad a frutas.

Palabras clave: propóleo, alergia, IgE, fruta, apicultor, prick.

ABSTRACT

Background: New technologies in food preservation expose us to unsuspected allergens. One of the most used techniques in the conservation and storage of fruits are biofilms that use bee propolis. This substance has significant allergenic potential and is not being tested in our clinics, partly due to the lack of reliable standardized diagnostic tests.

Objective: To assess the frequency of allergic response to propolis in patients who have suffered reactions after eating fruits in which it has not been possible to demonstrate clear hypersensitivity to them by usual allergological diagnostic techniques. The objective is to find out if the propolis can be responsible for the clinic that our patients have.

Material and Methods: We will introduce a propolis extract in our conventional diagnostic battery, including a more extensive battery of fruits that are usually covered with propolis films. Tests such as prick, IgE, provocation and patch will be performed on all new patients for a year. Four groups of patients will be selected: patients with allergic symptoms (urticaria, dermatitis, asthma...), beekeepers dedicated to the commercialization of propolis. As random controls, 50 healthy patients and 50 allergic to pollen without allergic symptoms. Patients with positive *in vivo* tests for propolis will undergo an *in vitro* study, consisting of molecular analysis by CRD (Componet Resolved Diagnosis) microarrays and immunodetection. In patients who give their consent, a provocation test will be performed.

Results: During the year 2021, 1479 patients with symptoms of food hypersensitivity attended. Of these, 89 clearly associated them with fruit, but 33 patients (37%) presented negative or inconclusive tests to the conventional fruit battery. Of these, 31 presented positive *in vivo* and *in vitro* tests to propolis (2.09% among those positive to food). All beekeepers with symptoms of anaphylaxis due to bee venom showed hypersensitivity to propolis. The most recognized proteins in the propolis extract by patients (beekeepers and those allergic to fruits) were around 25-37 kDa and were inhibited by the fractions of the other extracts tested (propolis, apple (skin and pulp), peach (skin and pulp) and bee venom, as well as those with a higher molecular weight, between 50-70 kDa.

Conclusions: Propolis used as fruit protection films can cause hypersensitivity; as well as affecting patients with professions related to its management (beekeepers, dentists, luthiers). An extract of propolis can be included in the batteries used to rule out hypersensitivity to fruits.

Keywords: Propolis, allergy, IgE, fruit, beekeeper, prick.

INTRODUCCIÓN

- **Reacciones alérgicas y alergia alimentaria**

La alergia alimentaria se define como un efecto adverso para la salud que surge de una respuesta inmunitaria específica producido tras la exposición a un alimento determinado (1). Se estima que entorno al 1,5% de la población general y entre un 5-7% de los niños sufre alergias alimentarias, siendo más frecuente en aquellos con antecedentes de atopia personal o familiar, aunque la incidencia real es desconocida debido a la falta de estudios epidemiológicos al respecto (2).

Las alergias alimentarias abarcan tanto las alergias mediadas por IgE, o reacciones de hipersensibilidad de tipo I o inmediatas, como las no mediadas por IgE, entre las que se incluyen las mediadas por células o reacciones de hipersensibilidad de tipo IV.

En las reacciones mediadas por IgE, debe existir un primer contacto con el alérgeno alimentario al que los individuos se sensibilizan. La posterior exposición al alérgeno desencadenará la degranulación de las células efectoras inmunitarias, como los mastocitos y los basófilos, mediada por sustancias como la histamina, lo que dará como resultado la rápida manifestación de los síntomas (3); que podrán ser leves, como las reacciones locales en el aparato digestivo, graves o potencialmente mortales con afectación sistémica (4).

Las reacciones de hipersensibilidad mediadas por células o de tipo IV son iniciadas por linfocitos T específicos sensibilizados; incluyendo dos tipos de respuestas: las reacciones de hipersensibilidad retardada iniciadas por linfocitos T CD4+ y las reacciones de citotoxicidad directa mediadas por linfocitos T CD8+. Ambos tipos celulares secretan citoquinas que activan a los macrófagos, células efectoras finales de la reacción de hipersensibilidad retardada. El daño tisular es consecuencia de los productos de los macrófagos activados, entre los que destacan: enzimas hidrolíticas, intermediarios reactivos del oxígeno, óxido nítrico y citoquinas proinflamatorias (5).

- **Propóleos y sus propiedades**

Las investigaciones sobre técnicas de envasado y conservación de alimentos vegetales están encaminadas hacia la caracterización de nuevas películas basadas en hidrocoloides de fuentes no convencionales, con el objetivo de aumentar la vida útil de los alimentos. En general, los recubrimientos comestibles están compuestos por biopolímeros de distinta naturaleza (lípidos, polisacáridos, proteínas), transparentes, inodoros e insípidos; que actúan como barrera para la transferencia de gases, agua, oxígeno y otros oxidantes; ayudando así

a extender la vida útil de frutas delicadas, previniendo su deshidratación y retardando su descomposición al crear una barrera antimicrobiana y antioxidante (6).

Una de las películas protectores más empleadas son los propóleos, un producto de la abeja (*Apis mellifera*) formado por resinas que estas recolectan de ciertas especies de plantas, concretamente de las flores y brotes de las hojas, las cuales mezclan con saliva, enzimas y otras secreciones propias de la abeja (7). Gracias a sus propiedades, pueden crear barreras protectoras aplicables en todo tipo de frutas, en especial las de origen tropical como el mango o la papaya, prolongando su vida útil (5,6).

Los propóleos se vienen utilizando desde, al menos, el 300 a.C. para embalsamar a los muertos y desde el siglo XII, en China, para recubrir naranjas (9). También se han utilizado para ayudar a la cicatrización de heridas y en diversos preparados dermatológicos para aliviar la psoriasis, herpes y prurito; así como en preparados antifúngicos (10,11). Se consumen también a través de la miel y preparados de parafarmacia, siendo su uso en preparados cosméticos muy frecuente.

Entre las propiedades biológicas de los propóleos destacan: antibacterianas, antitumorales, antiprotozoarias, antivirales, antioxidantes, antiinflamatorias y antifúngicas (imagen 1). En particular, se ha demostrado que esta sustancia inhibe el desarrollo de patógenos que crecen tras la cosecha de las frutas, como *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum*, así como de *C. gloeosporioides*, un hongo patógeno causante de la antracnosis (patología que acelera la putrefacción de muchos frutos) (7).

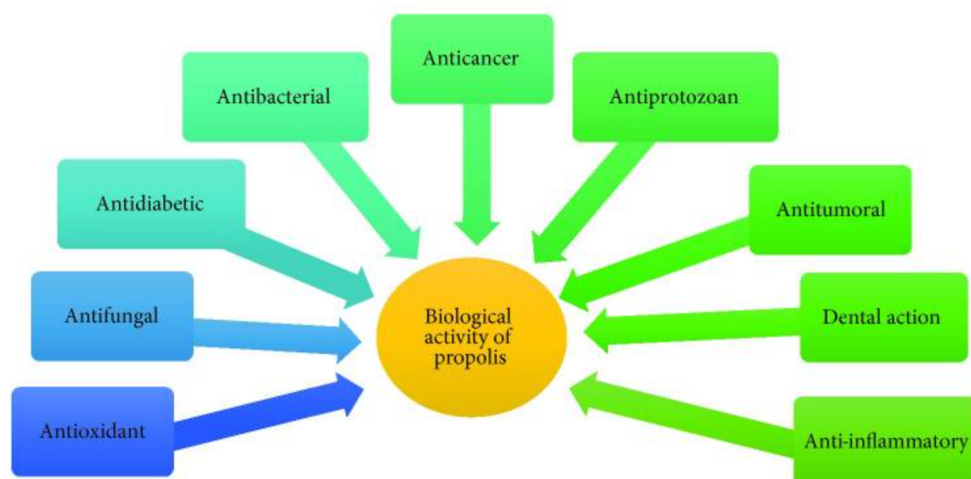


Imagen 1. Actividades biológicas de los propóleos (12).

Respecto a la capacidad antibacteriana, los extractos etanólicos del propóleo han demostrado ser más efectivos como antibacteriano que los extractos acuosos; dependiendo su eficacia del lugar de extracción del propóleo y de la resistencia que muestre el propio microorganismo, siendo las bacterias *Gram-positivas* más vulnerables que las *Gram-negativas*.

Por otra parte, el uso de propóleos en las películas protectoras reduce la permeabilidad al vapor de agua. A mayores, se ha demostrado que la incorporación del propóleo en películas a base de hidroxipropilmetilcelulosa, provoca una ligera disminución en la densidad y el pH. Otras biopelículas utilizan la sacarosa como recubrimiento protector para prevenir la oxidación, como en nueces, almendras y avellanas. Respecto a sus propiedades mecánicas, las películas de propóleo ofrecen mayor resistencia a la rotura y valores más bajos de resistencia a la tracción.

Otro uso frecuente de los propóleos es en el campo de la odontología, para prevención de caries, tratamiento de la hipersensibilidad de la dentina, de las úlceras aftosas, gingivitis y estomatitis; encontrándolos en colutorios, dentífricos e hilos dentales (13,14).

Sin embargo, los propóleos también pueden dar lugar a reacciones de hipersensibilidad adversas, tanto inmediata como retardada, causando dermatitis de contacto (15–18), siendo frecuente la cosensibilización con resinas, fragancias y colonia (15,16,19–22). También se han observado casos de anafilaxia en pacientes alérgicos a veneno de abeja y sus compuestos (23), así como edema laríngeo y shock tras su uso para faringitis aguda (24).

En niños se han descrito casos de sensibilización de contacto (25,26) en las que se ha observado una prevalencia de positividades del 6%, significativamente mayor en los niños que en las niñas; siendo las lesiones predominantes en cara, manos y extremidades.

Desde el punto de vista profesional, los apicultores son uno de los grupos más afectados, siendo muchos de ellos alérgicos a propóleos, observándose un empeoramiento de su eccema de manos debido a la apicultura (27). Los músicos son otros de los grandes afectados, siendo la dermatitis de contacto la enfermedad más frecuente entre ellos, causada en muchas ocasiones por el contacto con propóleos, entre otras sustancias (28).

- **Punto de partida de nuestro estudio**

En la consulta de alergia del Hospital Universitario Río Hortega (HURH) son atendidos frecuentemente pacientes que rechazan las frutas porque tras su ingesta presentan clínica digestiva, cutánea, respiratoria o sistémica (síndrome de alergia oral, urticaria, angioedema, asma y anafilaxia). Para su diagnóstico empleamos pruebas cutáneas en *prick* con extractos

comerciales de diferentes frutas, obtenidos habitualmente de procesados de su pulpa, sin semillas ni peladura. Muchas veces, tanto las pruebas como los estudios de anticuerpos son negativos, pero la prueba *prick by prick* perforando la fruta con su cubierta detecta más positividad. Las provocaciones con las frutas podrían derivar en síntomas graves en estos pacientes, por lo que se consideran pruebas de riesgo.

Las biopelículas de propóleos pueden ser la causa de posibles patologías emergentes graves, de posible mecanismo inmunológico y difícil diagnóstico etiológico. La hipersensibilidad a estos propóleos puede ser su base causal, pero aún no existe una técnica diagnóstica fiable y libre de riesgos para comprobarlo, precisándose pruebas de provocación oral. Una razón de estas dificultades radica en que los alérgenos podrían estar localizados en la cubierta de las frutas y no en su pulpa, siendo ineficaces los extractos diagnósticos comerciales que solo utilicen esta última fuente.

Es posible que exista una respuesta a alérgenos del propóleo por vía digestiva, aunque la vía de sensibilización a los mismos ya se ha demostrado por vía cutánea (18). Puede que exista un patrón de respuesta inmune específico a diferentes familias de frutas protegidas con biopelículas, aún por dilucidar.

Propusimos probar propóleos en todos los pacientes que acudieran a la consulta del Alergia del HURH durante el año 2021 refiriendo problemas clínicos de tipo alergológico, reacciones a frutas o síntomas digestivos diversos (dispepsia, atragantamiento o impactación, dolor abdominal, meteorismo, diarrea, etc.).

Este estudio pretende ayudar a identificar la etiología de problemas de intolerancia a frutas en pacientes en los que las pruebas alergológicas de rutina con extractos comerciales resulten negativas, ya que estas biopelículas protectoras de alimento pueden ser un agente sensibilizante que no se está probando en estos pacientes afectados.

HIPÓTESIS

Los propóleos pueden ser uno de los agentes causales de las reacciones alérgicas que sufren algunos pacientes al consumir frutas en los que las pruebas de detección con los extractos diagnósticos habituales son negativas.

OBJETIVOS

- Detección de diferencias en la sensibilización a propóleos a través de la realización de pruebas como el *prick*, IgE, provocación y parche en diferentes grupos (pacientes sanos, polínicos, alérgicos a frutas y apicultores).
- Análisis de las diferencias en la incidencia a alergia a frutas mediante el *prick* y la IgE a diferentes frutas.
- Búsqueda de diferencias significativas entre los diferentes grupos en los siguientes aspectos: edad, sexo y clínica alérgica; así como diferencias en el diagnóstico molecular evaluando diferentes alérgenos en los distintos grupos.

PACIENTES Y MÉTODOS

El diseño del estudio fue exploratorio de carácter transversal con casos y controles. Los pacientes diagnosticados de posible hipersensibilidad o intolerancia a frutas procedieron de una base de datos de pacientes con esta posible etiología recogida durante un año (2021) en el Servicio de Alergia, Digestivo y Pediatría del HURH.

El objetivo de nuestro estudio fue valorar hipersensibilidad alérgica mediada por IgE a una batería de frutas y propóleos por técnicas alergológicas de rutina y técnicas moleculares por microarrays en 4 grupos de pacientes y controles:

- **Grupos de pacientes y controles**
 1. Pacientes con clínica de urticaria, dermatitis, asma, rinitis, síntomas digestivos o anafilaxia relacionada con la ingesta de frutas.
 2. Controles población sana de hemodonación (50 pacientes).
 3. Alérgicos a pólenes de gramíneas sin síntomas digestivos relacionados con frutas ni otros alimentos (50 pacientes).
 4. Apicultores dedicados a la comercialización de propóleos.

Cálculo del tamaño muestral: aceptando un riesgo $\alpha = 0,05$ y $\beta = 0,2$ en contraste bilateral, se precisaron 48 sujetos en cada grupo para detectar una diferencia mínima de 8 entre los dos grupos, teniendo en cuenta la existencia de 4 grupos y una desviación estándar (σ) = 10. La tasa de pérdidas de seguimiento estimada es del 20%.

Pruebas “in vivo”

- **Pruebas cutáneas**

Se realizaron pruebas con propóleos por técnica de *Prick by prick* (imagen 2) y de contacto.

Se empleó técnica convencional de prick en el caso de alérgenos comercializados, con extractos de 13 frutas, incluyendo su piel, pero no sus semillas (aguacate, fresa, kiwi, melón, naranja, plátano, piña, uva, manzana, pera, melocotón, mango y papaya).

También realizamos un *Prick-test* frente a neuroalérgenos habituales (polen de gramíneas, árboles y malezas), ácaros, epitelios de animales, hongos y alimentos.

Preparación del propóleo de abeja: el extracto se preparó al 10% con PBS. Después de dializar, se sensibilizarán discos de papel, previamente activados con BrCN, según describen Ceska et al; logrando una concentración de proteínas en el extracto de propóleos = 73,50 µg/mL (29).

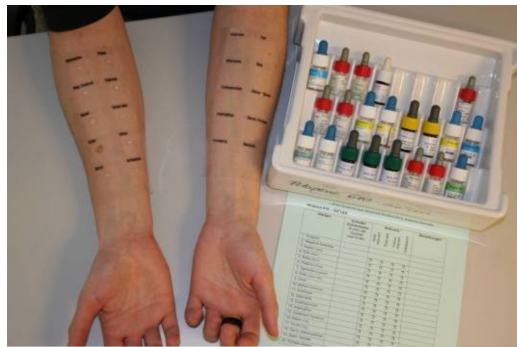


Imagen 2. Prick test (30).

- **Pruebas epicutáneas**

Se empleó una batería estándar de contactantes profesionales en apicultura *True-Test* (ALK-Abelló, Madrid) de materiales de la industria del caucho (ziram, difenil-tiourea, mezcla naftil, dibutil-tiourea, difenil-P-fenilendiamina, fenil-β-naftilamina, PPD-mix, iperacina), resinas textiles (ureaformaldehído resina) (Bial-Arístegui, Bilbao) y materiales manejados por los apicultores en su trabajo (látex, miel, cera, propóleos al 20% en *petrolatum*, brotes de plantas aromáticas, tomillo, insecticida/acaricida, guantes de trabajo). La lectura se realizó a las 48 y 96 horas.

Pruebas "in vitro"

Las muestras de proteínas se analizaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida 15% con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE) en condiciones reductoras, según Laemmli. Las proteínas se tiñeron con *Coomassie Brilliant Blue R-250*, transfiriéndolas a difluoruro de polivinilideno (PVDF, Trans-blot turbo TM. BIORAD, Hercules, CA, EE. UU.).

La unión del anticuerpo IgE a los alérgenos y la inhibición de estos con propóleo, manzana (cáscara y pulpa), melocotón (cáscara y pulpa) y veneno de abeja se analizó mediante Western Blot utilizando sueros de pacientes individuales (1:5 en PBS T 0,05%). Posteriormente, se utilizó un preparado de peroxidasa IgE antihumana (Southern Biotech, Birmingham, EE. UU.) (1:1000 en PBS T 0,5 %) y reactivos para la detección de quimioluminiscencia (Western lightning® Plus-ECL. Perkin Elmer. Waltham, MA, EE. UU.), empleado según instrucciones del fabricante. Las bandas de unión a IgE se identificaron utilizando el programa de base de datos *BioRad Diversity*.

- **Determinación de IgE frente a 10 frutas de la batería del prick y veneno de abeja**

Se realizó por el método *InmunoCAP* (Thermofisher, Upsala, Suecia). Los discos se incubaron con 50 mL de suero del paciente/controles y, posteriormente, con ≈ 100.000 cpm de 125I-antilgE mAb HE-22. Como referencia se utilizaron discos sensibilizados con *Lolium perenne* y 4 diluciones de un conjunto de sueros de pacientes alérgicos a gramíneas, calibrado previamente con el sistema Pharmacia Phadebas® (RAST).

- **Valoración de IgG específica frente a propóleos de abeja**

Se realizó por ELISA. Se tapizaron placas de ELISA (Costar ref. 3590) con el antígeno a diferentes concentraciones entre 35 y 0,5 $\mu\text{g/mL}$ (50 $\mu\text{L/pocillo}$; ~ 18 h a 4 °C). Después de saturar con PBS-PSA, se incubó con 50 mL de suero del paciente/controles a diferentes diluciones (3 puntos, factor 1/3, dilución primer punto 1/5) y posteriormente con anti-IgG humana marcada con peroxidasa (Dako cod. P0214) diluida 1/10.000. Finalmente, se incubaron con tampón sustrato-peroxidasa y se leyó la adsorbancia de cada pocillo a 490 nm.

- **Técnicas de análisis molecular**

Realizamos CRD (*Component Resolved Diagnosis* ISAC - Thermosisher, Upssala, Suecia) a 112 moléculas de alérgenos recombinantes y nativas, según instrucciones del fabricante.

- **Western blot**

Para la inhibición, la fase sólida fue propóleo, inhibido con el *pool* de sueros de los blotting de propóleos, empleando 3 mg/mL de propóleo, piel de manzana, pulpa de manzana, piel de melocotón y pulpa de melocotón; así como 1.5 mg/mL y 3 mg/mL de *Apis mellífera*.

RESULTADOS

Estadística descriptiva

1. Diferencias en edad y sexo.
2. Grupo con más sensibilización positiva a propóleos (*prick* + IgE + provocación).
3. Valorar que frutas dieron más positividad (*prick* + IgE + provocación).
4. Valorar que grupo de los 4 es más alérgico a propóleos.
5. Valorar que síntoma fue más predominante en estos pacientes positivos a propóleos (variables 4 a 8).

Estadística analítica

Valoramos la diferencia de sensibilización a frutas y propóleos en los cuatro grupos.

1. Valorar diferencias significativas de sensibilización y frutas por *prick*.
2. Valorar diferencias significativas de sensibilización y frutas por IgE positiva (1) o negativa (0).
3. Valorar diferencias significativas de sensibilización y frutas por provocación (positiva (1) o negativa (0) a pulpa de fruta (provocapulpa) y a propóleos (provopropóleos).
4. Valorar diferencias significativas de sensibilización cutánea por parche a propóleos positiva (1) o negativa (0).
5. Valorar diferencias significativas muy notables de sensibilizaciones a otros alérgenos moleculares en los 4 grupos (variables 10 a 20).

- **Características demográficas (Tabla 1)**

Los apicultores analizados son predominantemente varones (aunque sin diferencias respecto a los demás grupos), con una edad media significativamente superior (Tabla 1).

	Sano (n=50)		Polínico (n=48)		Frutas (n=32)		Apicultor (n=10)
	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico
Edad	32 ± 11,1	0,002	26,1 ± 10,3	<0,001	22,4 ± 16,4	<0,001	47,1 ± 24,4
Sexo varón	35 (70%)	0,705	25 (52,1%)	0,492	12 (37,5%)	0,150	7 (70%)

Tabla 1. Diferencias de las características demográficas por grupos → (*): Sig. respecto al grupo "apicultor".

- **Pruebas alérgicas a propóleos (Tabla 2)**

Las pruebas a propóleos (*prick*, IgE, provocación y parche), así como el *prick* a abeja, fueron significativamente más frecuentes entre los apicultores frente a los sujetos sanos y los pacientes polínicos. Sin embargo, los apicultores no presentan diferencias significativas respecto a la alergia a frutas, excepto en IgE, parche a propóleos, *prick* de abeja (mayores en apicultores, con $p = 0,041$ a $0,071$) y la provocación a propóleos, que resulta ser claramente superior en alérgicos a frutas. La provocación a pulpa es negativa en apicultores, sin diferencias respecto a alérgicos a frutas, probablemente por el bajo tamaño muestral.

	Sano (n=50)		Polínico (n=48)		Frutas (n=32)		Apicultor (n=10)
	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico
Prick propóleos	2 (4%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	27 (84,4%)	0,582	7 (70%)
IgE propóleos	1 (2%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	15 (46,9%)	0,041	9 (90%)
Prick abeja	1 (2%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	16 (50%)	0,060	9 (90%)
Prov. pulpa	0 (0%)	-	0 (0%)	-	5 (20,8%) *	0,302	0 (0%)
Prov. propóleos	0 (0%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	29 (100%) *	<0,001	4 (40%)
Parche propóleos	0 (0%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	27 (84,4%)	0,071	5 (50%)

Tabla 2. Diferencias de las pruebas alérgicas a propóleos en los distintos grupos → (*): Sig. respecto al grupo "apicultor"; (**): N=24; (***) N=29.

- **Características clínicas (Tabla 3)**

La anafilaxia fue la manifestación clínica más frecuente (100% de los casos), respecto a los otros grupos; así como la clínica gastrointestinal (40%) respecto a controles sanos y polínicos, pero menos en comparación con los alérgicos a frutas.

	Sano (n=50)		Polínico (n=48)		Frutas (n=32)		Apicultor (n=10)
	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico
▪ Esofagitis	0 (0%)	-	0 (0%)	-	1 (3,5%)	0,533	0 (0%)
▪ Celiaca	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)
▪ Gastrointestinal	0 (0%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	32 (100%)	<0,001	4 (40%)
▪ Polínica	0 (0%)	0,367	48 (100%)	<0,001	8 (25%)	0,570	1 (10%)
▪ Anafilaxia	0 (0%)	<0,001	1 (2,1%)	<0,001	13 (40,6%)	0,003	10 (100%)

Tabla 3. Diferencias de las características clínicas por grupos → (*): Sig. respecto al grupo "apicultor".

- **Diagnóstico molecular (Tabla 4)**

La detección de Apim1 (fosfolipasa A2 del veneno de abeja) fue significativamente superior en los apicultores respecto a los controles sanos y polínicos; así como respecto de alérgicos a frutas, pero no alcanzó significación estadística probablemente por el bajo tamaño muestral.

	Sano (n=50)		Polínico (n=48)		Frutas (n=32)		Apicultor (n=10)
	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico
Pol1	1 (2%)	0,747	36 (75%)	<0,001	11 (34,4%)	0,276	1 (10%)
Pol2	0 (0%)	-	34 (70,8%)	<0,001	0 (0%)	-	0 (0%)
Pol4	0 (0%)	-	21 (43,8%)	0,024	0 (0%)	-	0 (0%)
Pol5	0 (0%)	-	6 (12,5%)	0,541	0 (0%)	-	0 (0%)
Pol6	0 (0%)	-	14 (29,2%)	0,120	0 (0%)	-	0 (0%)
Cynd1	0 (0%)	0,367	17 (35,4%)	0,228	2 (6,3%)	0,763	1 (10%)
Dp1	0 (0%)	-	1 (2,1%)	0,381	0 (0%)	-	0 (0%)
Dp2	1 (2%)	0,367	1 (2,1%)	0,381	0 (0%)	-	0 (0%)
Alt1	0 (0%)	0,024	2 (4,2%)	0,266	1 (3,1%)	0,269	2 (20%)
Apim1	0 (0%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	18 (56,3%)	0,117	9 (90%)
Fav5	0 (0%)	0,024	0 (0%)	0,027	1 (3,1%)	0,269	2 (20%)

Tabla 4. Diferencias de las pruebas moleculares por grupos → (*): Sig. respecto al grupo "apicultor".

- **Pruebas alérgicas a frutas (Tabla 5 – Anexo)**

No hubo diferencias significativas respecto a la alergia a frutas en comparación con los controles sanos, detectándose un solo caso (a melocotón mediante prick).

- **Western blot**

- » Pacientes alérgicos a frutas (Imagen 3 y 4 – Anexo)

Tras realizar las diferentes analíticas mediante western blot, el suero de los pacientes incluidos en el estudio reveló reconocimientos IgE específicos sobre algunas proteínas de las muestras estudiadas. Las más reconocidas oscilaban entre 37-55 KDa sobre todo en la piel de melocotón y el propóleo. Otras proteínas, con pesos moleculares de diferentes rangos, fueron reconocidas para el resto de las fuentes, en los pacientes 5, 15, 30, 31 y 33.

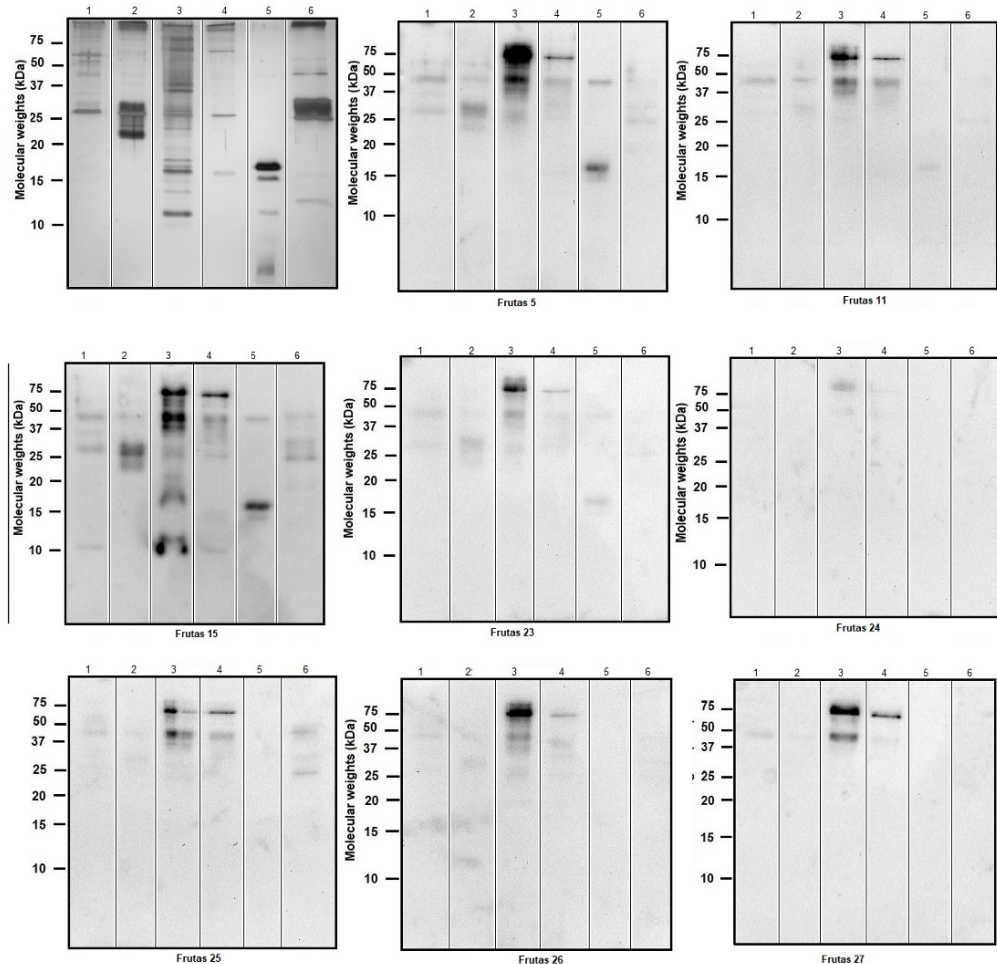


Imagen 3. Western blot pacientes alérgicos a frutas, incluido control. Calle 1; piel manzana, calle 2; pulpa manzana, calle 3; piel melocotón, calle 4; pulpa melocotón, calle 5; Apis melífera y calle 6; propóleo.

» Apicultores (Imagen 5)

Los sueros de los apicultores muestran proteínas con un mayor rango de pesos moleculares, pero las anteriormente citadas en torno a 37-55 KDa fueron las más abundantes. Este hecho enlaza con la inhibición posteriormente realizada en la que estas proteínas, presentes en la fase sólida elegida para el análisis (propóleo), fueron inhibidas por las otras fuentes a partir de una mezcla de los sueros de los pacientes que la reconocían.

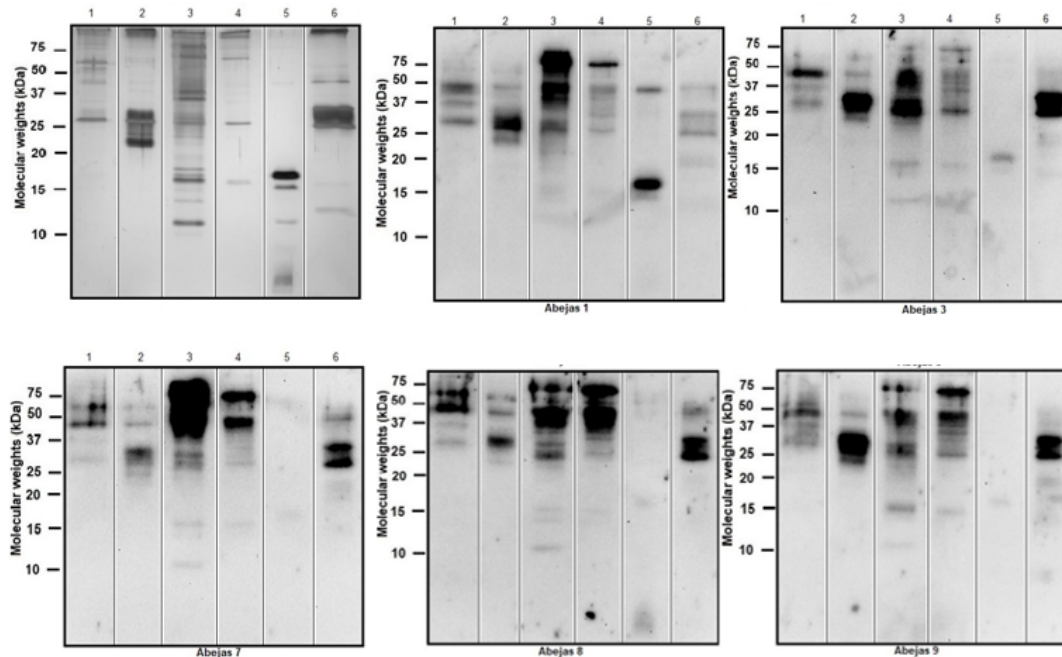


Imagen 5. Western blot pacientes apicultores, incluido control. Calle 1; piel manzana, calle 2: pulpa manzana, calle 3; piel melocotón, calle 4; pulpa melocotón, calle 5; Apis melífera y calle 6; propóleo.

» Inmunodetección e inhibiciones (Imagen 6 – Anexo)

Para la inhibición, la fase sólida es propóleo, y se inhiben con el pool de sueros de los blotting de propóleos (ver mas abajo) y: calle 1a (sin inhibir), calle 2^a (inhibido con 3 mg/ml de propóleo), calle 1b (inhibido con 3 mg/mL de piel de manzana), calle 2b (inhibido con 3mg/mL de pulpa de manzana), calle 1c; (inhibido con 3 mg/mL de piel de melocotón), calle 2c: (inhibido con 3 mg/mL de pulpa de melocotón), Calle 1d (inhibido con 3 mg/mL de Apis melífera) calle 2d (inhibido con 1.5 mg/mL de Apis melífera).

Las proteínas más reconocidas por los pacientes sobre el propóleo estaban en el entorno de los 25-37 kDa y estas quedan inhibidas por las fracciones de los demás extractos testados, así como las de más peso molecular; 50 y 70 kDa.

DISCUSIÓN

A la luz de los resultados obtenidos en nuestro estudio observamos una positividad superior en todas las pruebas realizadas (*prick*, IgE, provocación y parche) en el grupo de los apicultores frente a los sujetos sanos y con clínica polínica frente a propóleos y componentes de la abeja, concretamente Apim1. Parece claro que la hipersensibilidad de los apicultores a las abejas esta relacionada a su constante exposición a estas y sus picaduras como consecuencia de su labor ocupacional; pudiendo explicarse la sensibilización a los propóleos debido a que estos derivan de la *Apis mellifera*.

Por otra parte, observamos que los pacientes alérgicos a frutas también presentan positividades elevadas a las pruebas frente a propóleos. Esto concuerda con nuestra hipótesis de que los propóleos que recubren algunas frutas pueden ser los agentes causales de su alergia, respaldado por el hecho de que muchos de ellos también han desarrollado alergia a las abejas, debido a que el propóleo, como ya se ha mencionado, es un producto de estas.

Estas mismas conclusiones se pueden extraer de los resultados obtenidos en el western blot, donde observamos en los pacientes alérgicos a frutas y apicultores bandas positivas para la piel y pulpa del melocotón, así como para propóleos; de lo que se deduce la existencia de anticuerpos IgE contra propóleos en el suero de estos pacientes.

En concordancia con nuestros resultados, el estudio de Münstedt y Kalder (31) mostró que los apicultores desarrollaban frecuente hipersensibilidad a propóleos, así como al veneno de abeja; sin embargo, ellos detectaron una mayor frecuencia de alergia al polen de gramíneas en apicultores, lo cual no fue observado en nuestro estudio.

Por otro lado, a nivel clínico, la reacción anafiláctica fue el síntoma más frecuente en apicultores, seguido de la clínica gastrointestinal; siendo la frecuencia de estos síntomas inversa en el grupo de alérgicos a frutas. Como nosotros, estudios como el de L. Cifuentes (23), han descrito anafilaxia en pacientes alérgicos al veneno de abeja. Otros estudios han descrito reacciones de hipersensibilidad retardada como la dermatitis de contacto relacionado con los propóleos (15), así como queilitis y dermatitis facial (17).

A la vista de nuestros resultados, a nivel diagnóstico, incluir la cubierta de las frutas que queremos testar parece superar los problemas de detección de las baterías de alérgenos convencionales, que no muestran positividades en estos pacientes derivadas de la presencia de propóleos en la cubierta. Por esta razón, sería interesante añadir a las baterías convencionales extractos que incluyan procesados, no solo con su pulpa, sino también con su peladura.

En cuanto a los usos innovadores del propóleo, a raíz de la pandemia por SARS-CoV-2, se han demostrado sus beneficios como inmunomodulador frente a la infección, ya que regula la producción de sustancias proinflamatorias como IL-6, IL-1 beta y TNF- α , lo cual, según sus autores, reduce el riesgo de síndrome de tormenta de citoquinas, un factor de mortalidad importante en la enfermedad avanzada por COVID-19 (32). Se precisan más estudios para constatar esta utilidad.

Además, ya existen algunos estudios que indican que los pacientes hospitalizados con COVID-19 que recibieron propóleo, mostraron una eliminación viral más temprana, recuperación de los síntomas, alta del hospital y menor mortalidad que los que recibieron el tratamiento estándar, poniendo de manifiesto los efectos beneficiosos que pueden producir estos productos apícolas (33).

De cara al futuro, destacamos la importancia de desarrollar alternativas a la utilización del propóleo como recubrimiento de las frutas, ya que puede generar la sensibilización de la población a los mismos impidiendo que estas personas puedan beneficiarse de sus propiedades.

CONCLUSIONES

- Los apicultores, como consecuencia de su constante exposición a los propóleos, constituyen el grupo donde observamos mayor positividad de las pruebas alérgicas a dicha sustancia, demostrándose una mayor sensibilización de los mismos al propóleo.
- Los pacientes alérgicos a frutas presentaron una elevada frecuencia de positividad al propóleo, por lo que es posible que éstos sean los causantes de su clínica alérgica.
- Los extractos utilizados en las pruebas diagnósticas no incluyen la cubierta de las frutas, donde se encuentran los propóleos. De cara al futuro, incluir extractos con propóleos permitiría detectar positividad en los pacientes alérgicos a frutas con pruebas alergológicas convencionales negativas.
- El desarrollo de alternativas al uso del propóleo como recubrimiento de las frutas permitiría reducir la sensibilización y aprovechar sus beneficios en algunas enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

1. O'Hehir RE, Holgate ST, Sheikh A. Middleton's Allergy Essentials: First Edition. Middleton's Allergy Essentials: First Edition. Elsevier Inc.; 2016. 301–343 p.
2. Ruiz Sánchez JG, Palma Milla S, Pelegrina Cortés B, López Plaza B, Bermejo López LM, Gómez Candela C, et al. Una visión global de las reacciones adversas a alimentos: alergia e intolerancia alimentaria. 2018 Sep 1 [cited 2022 Mar 27];35(SPE4):102–8. Available from: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112018000700018&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
3. Yu W, Freeland DMH, Nadeau KC. Food allergy: immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. Nat Rev Immunol [Internet]. 2016 Nov 25 [cited 2022 Mar 8];16(12):751–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27795547/>
4. Bowser TJ. Food Processing Facility Design. Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering: Second Edition. 2013 Jun 27;571–97.
5. Abbas A, Lictman A. Inmunología celular y molecular [Internet]. 5a edición. 2004 [cited 2022 Mar 27]. 298–317 p. Available from: <https://www.elsevier.com/es-es/connect/estudiantes-de-ciencias-de-la-salud/inmunologia-celular-y-molecular>.
6. David Vargas-Sánchez R, Torrescano-Urrutia Armida Sánchez-Escalante/ conservador natural / propóleos / el propóleo: conservador potencial para la industria alimentaria. 2013;38:10.
7. El própolis y la salud | Ars Pharmaceutica (Internet) [Internet]. [cited 2022 Mar 8]. Available from: <https://revistaseug.ugr.es/index.php/ars/article/view/5105>
8. FIGUEROA J, SALCEDO J, AGUAS Y, OLIVERO R, NARVAEZ G. Recubrimientos comestibles en la conservación del mango y aguacate, y perspectiva, al uso del propóleo en su formulacion. 2011 Jul 18 [cited 2022 Mar 8];3(2):386–400. Available from: <https://revistas.unisucre.edu.co/index.php/recia/article/view/414>
9. DESARROLLO DE PELÍCULA BIODEGRADABLE A BASE DE PROPÓLEO PARA LA CONSERVACIÓN DE MANGO (TOMMY ATKINS) | Quezada | Alimentos Hoy [Internet]. [cited 2022 Mar 8]. Available from: <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/493>
10. Hausen BM, Wollenweber E, Senff H, Post B. Propolis allergy. (I). Origin, properties, usage and literature review. Contact Dermatitis [Internet]. 1987 [cited 2022 Mar 8];17(3):163–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3315436/>
11. Ghisalberti EL. Propolis: A Review. <http://dx.doi.org/10.1080/0005772X.1979.11097738> [Internet]. 2015 Jan [cited 2022 Mar 8];60(2):59–84. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0005772X.1979.11097738>
12. Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. Oxid Med Cell Longev [Internet]. 2017 [cited 2022 Mar 28];2017. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28814983/>

13. Carvalho C de, Fernandes WHC, Moutinho TBF, Souza DM de, Marcucci MC, D'Alpino PHP. Evidence-Based Studies and Perspectives of the Use of Brazilian Green and Red Propolis in Dentistry. *Eur J Dent* [Internet]. 2019 [cited 2022 Mar 8];13(3):459–69. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31795009/>
14. Abbasi AJ, Mohammadi F, Bayat M, Gema SM, Ghadirian H, Seifi H, et al. Applications of Propolis in Dentistry: A Review. *Ethiopian Journal of Health Sciences* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2022 Mar 8];28(4):505. Available from: [/pmc/articles/PMC6308739/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32830285/)
15. Shi Y, Nedorost S, Scheman L, Scheman A. Propolis, Colophony, and Fragrance Cross-Reactivity and Allergic Contact Dermatitis. *Dermatitis* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2022 Mar 8];27(3):123–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27172306/>
16. Nyman G, Oldberg Wagner S, Prystupa-Chalkidis K, Ryberg K, Hagvall L. Contact Allergy in Western Sweden to Propolis of Four Different Origins. *Acta Derm Venereol* [Internet]. 2020 [cited 2022 Mar 8];100(16):1–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32830285/>
17. Nyman GSA, Tang M, Inerot A, Osmancevic A, Malmberg P, Hagvall L. Contact allergy to beeswax and propolis among patients with cheilitis or facial dermatitis. *Contact Dermatitis* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2022 Mar 8];81(2):110–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31066083/>
18. Hipersensibilidad a propóleos - Alergología e Inmunología Clínica [Internet]. [cited 2022 Mar 8]. Available from: <https://www.yumpu.com/es/document/read/18730670/hipersensibilidad-a-propoleos-alerlogia-e-inmunologia-clinica>
19. García M, del Pozo MD, Díaz J, Muñoz D, Fernández de Corrés L. Allergic contact dermatitis from a beeswax nipple-protective. *Contact Dermatitis* [Internet]. 1995 [cited 2022 Mar 8];33(6):440–1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8706416/>
20. Monti M, Bertt E, Carminati G, Cusini M. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis* [Internet]. 1983 [cited 2022 Mar 8];9(2):163–163. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6221871/>
21. Ratón JA, Aguirre A, Díaz-Pérez JL. Contact dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis* [Internet]. 1990 [cited 2022 Mar 8];22(3):183–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2335095/>
22. Downs AMR, Sansom JE. Occupational contact dermatitis due to propolis. *Contact Dermatitis* [Internet]. 1998 [cited 2022 Mar 27];38(6):359. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9687055/>.
23. Cifuentes L. Allergy to honeybee ... not only stings. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2015 Aug 23 [cited 2022 Mar 8];15(4):364–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26110688/>
24. Hsu CY, Chiang WC, Weng TI, Chen WJ, Yuan A. Laryngeal edema and anaphalactic shock after topical propolis use for acute pharyngitis [6]. *American Journal of Emergency Medicine*. 2004 Sep;22(5):432–3.

25. Giusti F, Miglietta R, Pepe P, Seidenari S. Sensitization to propolis in 1255 children undergoing patch testing. *Contact Dermatitis* [Internet]. 2004 Nov [cited 2022 Mar 8];51(5–6):255–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15606649/>
26. Francuzik W, Geier J, Schubert S, Worm M. A case-control analysis of skin contact allergy in children and adolescents. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2019 [cited 2022 Mar 8];30(6):632–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31077617/>
27. Oosterhaven JAF, Verbist J, Schuttelaar MLA. Hand eczema among Dutch beekeepers - a cross-sectional study. *J Dtsch Dermatol Ges* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2022 Mar 8];17(2):158–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30762971/>
28. Lombardi C, Bottello M, Caruso A, Gargioni S, Passalacqua G. Allergy and skin diseases in musicians. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2003 Feb [cited 2022 Mar 10];35(2):52–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12674039/>
29. Ceska M, Eriksson R, Varga JM. Radioimmunosorbent assay of allergens. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1972 [cited 2022 Mar 10];49(1):1–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4536625/>
30. Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC, Bresciani M, Burbach G, Darsow U, et al. The skin prick test - European standards. *Clin Transl Allergy* [Internet]. 2013 Feb 1 [cited 2022 Mar 29];3(1):1–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23369181/>
31. Münstedt K, Kalder M. Contact allergy to propolis in beekeepers. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 2009 Nov [cited 2022 Mar 29];37(6):298–301. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19853358/>
32. Berretta AA, Silveira MAD, Córdor Capcha JM, de Jong D. Propolis and its potential against SARS-CoV-2 infection mechanisms and COVID-19 disease: Running title: Propolis against SARS-CoV-2 infection and COVID-19. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2022 Mar 29];131. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32890967/>
33. Ali AM, Kunugi H. Propolis, Bee Honey, and Their Components Protect against Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review of In Silico, In Vitro, and Clinical Studies. *Molecules* [Internet]. 2021 Apr 2 [cited 2022 Mar 29];26(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33669054/>

ANEXO

	Sano (n=50)		Polínico (n=48)		Frutas (n=32)		Apicultor (n=10)
	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico
Prick							
▪ Melocotón	0 (0%)	0,367	3 (6,3%)	0,794	7 (21,9%)	0,708	1 (10%)
▪ Melón	0 (0%)	-	1 (2,1%)	0,381	2 (6,3%)	0,967	0 (0%)
▪ Banana	0 (0%)	-	0 (0%)	-	2 (6,3%)	0,967	0 (0%)
▪ Manzana	0 (0%)	-	2 (4,2%)	0,767	1 (3,1%)	0,533	0 (0%)
▪ Aguacate	0 (0%)	-	1 (2,1%)	0,381	0 (0%)	-	0 (0%)
▪ Fresa	1 (2%)	0,367	1 (2,1%)	0,381	2 (6,3%)	0,967	0 (0%)
▪ Kiwi	0 (0%)	-	4 (8,3%)	0,794	5 (15,6%)	0,439	0 (0%)
▪ Naranja	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)
▪ Piña	2 (4%)	0,747	0 (0%)	-	1 (3,1%)	0,533	0 (0%)
▪ Uva	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)
▪ Mango	0 (0%)	-	0 (0%)	-	1 (3,1%)	0,533	0 (0%)
▪ Papaya	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)
IgE							
▪ Melocotón	0 (0%)	-	7 (14,6%)	0,450	4 (12,5%)	0,576	0 (0%)
▪ Melón	0 (0%)	-	1 (2,1%)	0,381	2 (6,3%)	0,967	0 (0%)
▪ Banana	0 (0%)	-	0 (0%)	-	2 (6,3%)	0,967	0 (0%)
▪ Manzana	0 (0%)	-	1 (2,1%)	0,381	2 (6,3%)	0,967	0 (0%)
▪ Aguacate	0 (0%)	-	2 (4,2%)	0,767	0 (0%)	-	0 (0%)
▪ Fresa	0 (0%)	-	0 (0%)	-	1 (3,1%)	0,533	0 (0%)
▪ Kiwi	0 (0%)	-	1 (2,1%)	0,381	4 (12,5%)	0,576	0 (0%)
▪ Naranja	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)
▪ Piña	0 (0%)	-	0 (0%)	-	1 (3,1%)	0,533	0 (0%)
▪ Uva	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)
▪ Mango	0 (0%)	-	0 (0%)	-	1 (3,1%)	0,533	0 (0%)
▪ Papaya	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)

Tabla 5. Diferencias de las Pruebas alérgicas a frutas por Grupos → (*): Sig. respecto al grupo “apicultor”.

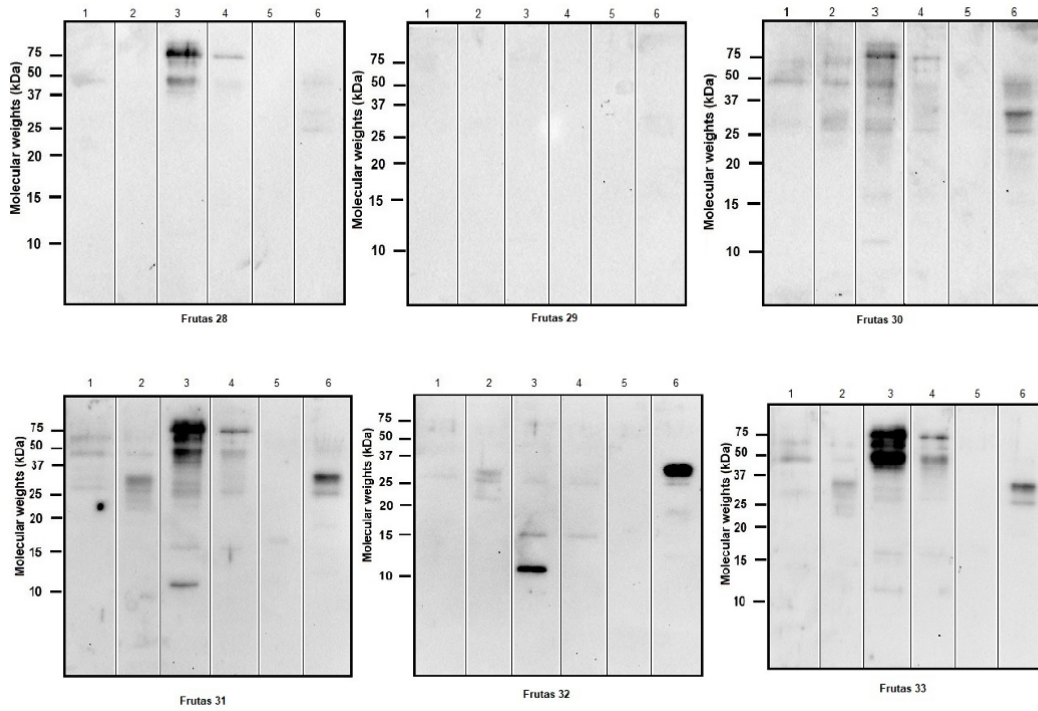


Imagen 4. Western blot pacientes alérgicos a frutas, incluido control. Calle 1; piel manzana, calle 2: pulpa manzana, calle 3; piel melocotón, calle 4; pulpa melocotón, calle 5; Apis melífera y calle 6; propóleo.

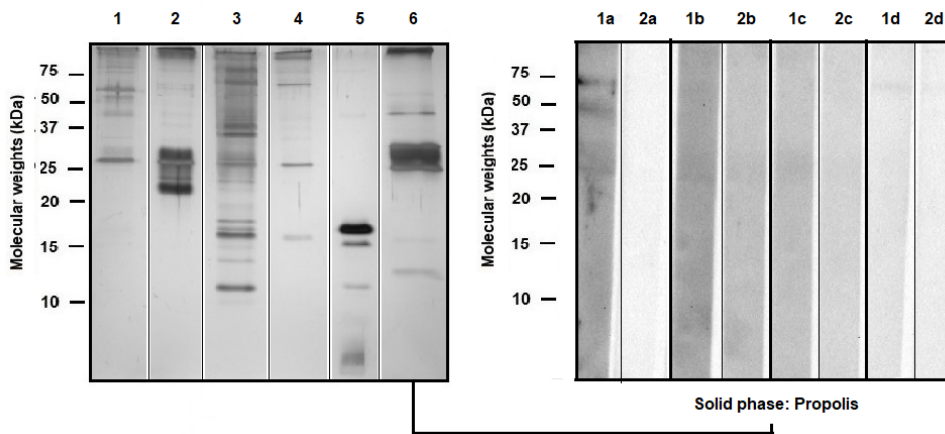


Imagen 6: Inmunodetección e inhibiciones.

- **Consentimiento informado**

Se está realizando una investigación de alergia alimentaria pro biopelículas protectoras de propóleos y le rogamos su consentimiento para realizar en una muestra de suero determinación de anticuerpos (IgE específica) a diferentes alérgenos (propóleos, pólenes, trigo, diferentes vegetales y frutas) que pueden estar provocando su enfermedad. Para ello se le citará a consulta de alergia (Dr^a Armentia, Hospital Río Hortega, puerta 211, teléfono de contacto 983420400, ext. 84211) para la realización de pruebas cutáneas.

Estas pruebas se realizarán depositando una gota de extracto de los alérgenos sospechosos en la superficie de la piel de su antebrazo. Posteriormente se realizará una micropunción para una vez transcurridos 15 minutos comprobar la presencia de un habón que indicaría una respuesta al alérgeno probado.

En el caso de que la respuesta fuera positiva, se le pedirá consentimiento para realizar una extracción de sangre para realizar un estudio molecular a 112 alérgenos en su suero.

Esta prueba le beneficiará en el conocimiento del alimento al que puede ser alérgico y puede mejorar sus síntomas tras su evitación. Las molestias que puede sufrir son locales y leves: Picor en el punto de punción que desaparecerá en 30 minutos.

En pocas ocasiones aparece un hematoma en el lugar de extracción. Debe de comunicar si ha tomado alguna medicación que puede modificar la prueba cutánea.

Este documento sirve para que usted o quien lo represente de su consentimiento para estas pruebas y nos autorice a realizarlas. Puede retirar este consentimiento cuando lo desee.

Firmarlo no le obliga a usted a seguir la investigación si no lo desea ya.

De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad de resto de la atención recibida.

Yo _____ doy mi consentimiento para la realización de estas pruebas, tras ser informado verbalmente y por escrito por el Dr/Dra.. En Valladolid a _____ de _____ de

_____ Fdo: _____

INTRODUCCIÓN

El propóleo (Imagen 1) es un producto de la abeja (*Apis mellifera*) formado por resinas que estas recolectan de ciertas especies de plantas, flores y brotes de las hojas, las cuales mezclan con saliva, enzimas y otras secreciones.

Gracias a sus propiedades (Imagen 2), pueden crear barreras protectoras aplicables a todo tipo de frutas, en especial las de origen tropical.



Imagen 1. Propóleos

Los propóleos también pueden dar lugar a reacciones de hipersensibilidad adversas, tanto inmediata como retardada, causando dermatitis de contacto.

También se han observado casos de anafilaxia en pacientes alérgicos a veneno de abeja, así como edema laríngeo y shock.

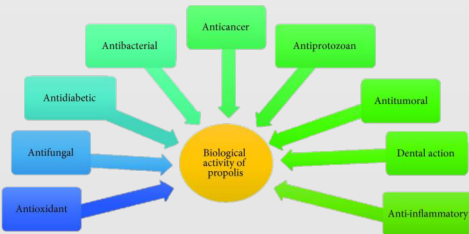


Imagen 2. Actividades biológicas de los propóleos.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pruebas "in vivo"

Pruebas cutáneas (Imagen 3)

Pruebas epicutáneas

Pruebas "in vitro"

IgE

IgG específica

Análisis molecular

Western blot



Imagen 3. Prick test.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Los propóleos pueden ser uno de los agentes causales de las reacciones alérgicas que sufren algunos pacientes al consumir frutas en los que las pruebas de detección con los extractos diagnósticos habituales son negativas.

- Detección de diferencias en la sensibilización a propóleos mediante pruebas: *prick*, IgE, provocación y parche.
- Análisis de las diferencias en la incidencia a alergia a frutas mediante el *prick* y la IgE
- Búsqueda de diferencias entre los diferentes grupos en: edad, sexo y clínica alérgica; así como diferencias en el diagnóstico molecular evaluando diferentes alérgenos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

	Sano (n=50)		Polínico (n=48)		Frutas (n=32)		Apicultor (n=10)	
	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*
Prick propóleos	2 (4%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	27 (84,4%)	0,582	7 (70%)	
IgE propóleos	1 (2%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	15 (46,9%)	0,041	9 (90%)	
Prick abeja	1 (2%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	16 (50%)	0,060	9 (90%)	
Prov. pulpa	0 (0%)	-	0 (0%)	-	5 (20,8%)**	0,302	0 (0%)	
Prov. propóleos	0 (0%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	29 (100%)***	<0,001	4 (40%)	
Parche propóleos	0 (0%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	27 (84,4%)	0,071	5 (50%)	

Tabla 1. Diferencias de las pruebas alérgicas a propóleos en los distintos grupos → (*): Sig. respecto al grupo "apicultor"; (**): N=24; (***) N=29.

En todas las pruebas con propóleos y componentes de abeja, se observa mayor positividad en apicultores (Tabla 1).

La sensibilización de los apicultores a las abejas, debido a su exposición constante a ellas, explicaría su sensibilización también a los propóleos, derivados de la *Apis mellifera*.

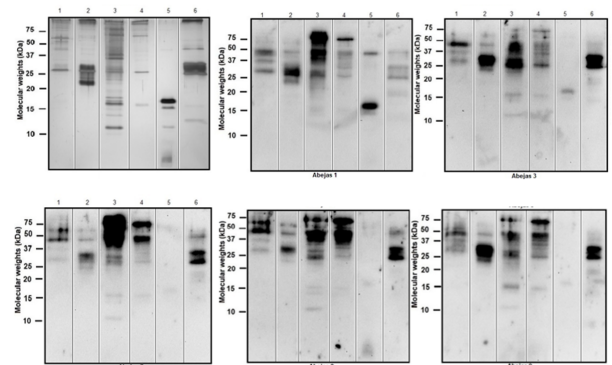


Imagen 5. Western blot pacientes apicultores, incluido control. Calle 1; piel manzana, calle 2; pulpa manzana, calle 3; piel melocotón, calle 4; pulpa melocotón, calle 5; Apis melífera y calle 6; propóleo.

El síntoma más frecuente en apicultores fue la anafilaxia, presentándose en todos ellos, seguido de la clínica gastrointestinal. En alérgicos a frutas prevaleció la clínica gastrointestinal (Tabla 2).

Estudios como el de L. Cifuentes, también han descrito anafilaxia en pacientes alérgicos al veneno de abeja y otros han descrito hipersensibilidad retardada como la dermatitis de contacto, queilitis y dermatitis facial en relación con los propóleos.

	Sano (n=50)		Polínico (n=48)		Frutas (n=32)		Apicultor (n=10)	
	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*	Estadístico	Sig.*
■ Esofagitis	0 (0%)	-	0 (0%)	-	1 (3,5%)	0,533	0 (0%)	
■ Celiaca	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)	-	0 (0%)	
■ Gastrointestinal	0 (0%)	<0,001	0 (0%)	<0,001	32 (100%)	<0,001	4 (40%)	
■ Polinica	0 (0%)	0,367	48 (100%)	<0,001	8 (25%)	0,570	1 (10%)	
■ Anafilaxia	0 (0%)	<0,001	1 (2,1%)	<0,001	13 (40,6%)	0,003	10 (100%)	

Tabla 2. Diferencias de las características clínicas por grupos → (*): Sig. respecto al grupo "apicultor".

Los alérgicos a frutas presentan positividad a propóleos, pudiendo ser los causantes de su alergia, respaldado por el hecho de que muchos de ellos también han desarrollado alergia a abejas, sus productoras.

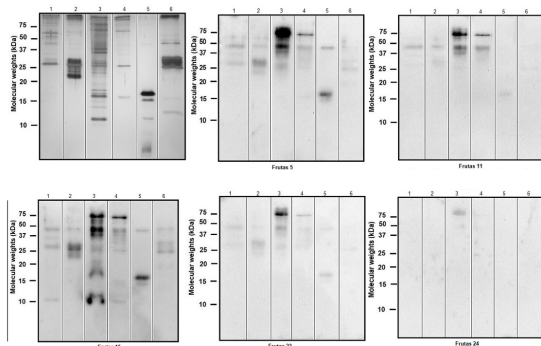


Imagen 4. Western blot pacientes alérgicos a frutas, incluido control. Calle 1; piel manzana, calle 2; pulpa manzana, calle 3; piel melocotón, calle 4; pulpa melocotón, calle 5; Apis melífera, calle 6; propóleo.

Observamos que los alérgicos a frutas y los apicultores presentan reconocimientos IgE específicos sobre algunas proteínas, especialmente entre 37-55 KDa, sobre todo en la piel de melocotón y el propóleo (Imagen 4 y 5).

CONCLUSIONES

- ✓ Los apicultores, constituyen el grupo donde observamos mayor sensibilización al propóleo, derivado de su exposición a las abejas y sus productos.
- ✓ Los alérgicos a frutas presentaron una elevada positividad a propóleo, por lo que es posible que éstos sean los causantes de su clínica alérgica.
- ✓ La inclusión de extractos de propóleos en las pruebas diagnósticas permitiría detectar positividad en los alérgicos a frutas con pruebas alergológicas convencionales negativas.
- ✓ El desarrollo de alternativas al uso del propóleo como recubrimiento de las frutas permitiría reducir la sensibilización y aprovechar sus beneficios en algunas enfermedades.