



# ARCHIVOS DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE OFTALMOLOGÍA

[www.elsevier.es/oftalmologia](http://www.elsevier.es/oftalmologia)



## Artículo original

# Mediadores alérgicos en lágrimas de niños con conjuntivitis alérgica estacional y perenne

R. Martínez<sup>a</sup>, A. Acera<sup>b,\*</sup>, J. Soria<sup>b</sup>, N. González<sup>b</sup> y T. Suárez<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Oftalmología, Hospital de Cruces, Baracaldo, España

<sup>b</sup> Departamento de I+D, Bioftalmik, Derio, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 17 de noviembre de 2010

Aceptado el 11 de enero de 2011

On-line el 17 abril 2011

#### Palabras clave:

Conjuntivitis alérgica estacional

Conjuntivitis alérgica perenne

ELISA

Lágrima

### RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar la concentración de diferentes moléculas mediadoras de alergia en lágrima de niños con conjuntivitis alérgica estacional (CAE) y conjuntivitis alérgica perenne (CAP) frente a controles.

**Métodos:** Se incluyeron 20 niños con conjuntivitis alérgica (17 CAE y 3 CAP), y 16 niños sanos utilizados como controles. Las muestras de lágrima se obtuvieron mediante una hemosteta de acetato de polivinilo (OASIS, 0525) colocándola en el canto externo. Se eluyó la lágrima de la hemosteta utilizando un tampón y centrifugación a 20.000 rpm durante 30 minutos a 4 °C. Una vez cuantificadas las muestras se determinaron las concentraciones de histamina (HIS), triptasa (TPS), factor quimiotáctico del eosinófilo (ECF), proteína básica (MBP), proteína catiónica del eosinófilo (ECP), neurotoxina (EDN), IgE y E-selectina mediante la técnica ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*). Los resultados se compararon con el test no paramétrico U de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ) y se realizaron análisis multivariantes mediante regresión logística.

**Resultados:** Presentaron diferencias estadísticamente significativas la TPS ( $p = 0,014$ ), MBP ( $p = 0,032$ ), ECP ( $p = 0,0041$ ), IgE ( $p = 0,014$ ) y EDN ( $p = 0,00077$ ), cuando se comparó la lágrima de niños con CAE y CAP frente a la de niños control.

**Conclusiones:** El análisis simultáneo de mediadores alérgicos en la lágrima de niños con CAE y CAP indica que existe una alteración en la lágrima referida principalmente a un aumento significativo de la concentración de EDN, ECP, MBP, y disminución de IgE y TPS. Los análisis estadísticos revelan una exactitud diagnóstica del 94,4% usando el panel de las 8 moléculas analizadas.

© 2010 Sociedad Española de Oftalmología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [arantxa.acera@bioftalmik.com](mailto:arantxa.acera@bioftalmik.com) (A. Acera).

0365-6691/\$ – see front matter © 2010 Sociedad Española de Oftalmología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

doi:10.1016/j.oftal.2011.01.002

## Allergic mediators in tear from children with seasonal and perennial allergic conjunctivitis

### A B S T R A C T

#### Keywords:

Seasonal allergic conjunctivitis  
Perennial allergic conjunctivitis  
ELISA  
Tears

**Purpose:** To evaluate the concentration of allergic mediators in tears of children with seasonal allergic conjunctivitis (SAC) and perennial allergic conjunctivitis (PAC) compared with controls.

**Methods:** Twenty children with allergic conjunctivitis (17 SAC, and 3 PAC) and sixteen healthy children were included in this study. Tear samples were collected using a Merocel sponge (Oasis, 0525), and immediately eluted by incubation in elution buffer and subsequent centrifugation at 20,000 rpm for 30 min at 4 °C. Concentrations of histamine (HIS), tryptase (TPS), eosinophil chemotactic factor (ECF), major basic protein (MBP), eosinophil cationic protein (ECP), eosinophil-derived neurotoxin (EDN), IgE and E-selectin were measured using enzyme linked immunosorbent assays (ELISA). Data were compared with the Mann-Whitney U test ( $P < .05$ ), and multivariate analyses were also performed.

**Results:** Tear levels of TPS ( $P = .014$ ), MBP ( $P = .032$ ), ECP ( $P = .0041$ ), IgE ( $P = .014$ ) and EDN ( $P = .00077$ ) showed significant differences in children with SAC and PAC compared to controls.

**Conclusion:** The simultaneous analyses of allergic mediators in the tears of children with SAC and PAC showed a significant elevated concentration in EDN, ECP and MBP in allergic group and decreased levels in IgE and TPS. Statistical analyses showed a diagnostic accuracy of 94.4% using the eight molecules panel.

© 2010 Sociedad Española de Oftalmología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

El ojo y sus estructuras anejas participan de las reacciones de hipersensibilidad inmunológica del organismo. Las conjuntivitis alérgicas forman un grupo de inflamaciones de la superficie ocular que han mostrado un notorio incremento en los últimos años. El 25% de la población general presenta algún tipo de enfermedad alérgica y la mayoría de pacientes alérgicos presentan manifestaciones en diversos órganos diana, siendo frecuente la afectación alérgica a nivel ocular<sup>1,2</sup>.

En la infancia se presentan 3 formas básicas de presentación: la conjuntivitis alérgica estacional (CAE) normalmente por hiperreactividad a pólenes, la perenne (CAP), a ácaros y epitelios y la forma más severa por la afectación corneal que es la queratoconjuntivitis vernal (CAV). Esta última se trata de una forma de reacción alérgica ocular específica de la infancia, que la mayor parte de las veces cede en la adolescencia, pero que cursa de forma crónica con reagudizaciones muy severas que pueden llegar a producir afectación corneal grave.

La CAE es una forma de conjuntivitis aguda, que tiene su manifestación por brotes en relación con la época de polinización. Con frecuencia la clínica ocular se acompaña de síntomas nasales y faríngeos, destacando el picor, la sensación de quemazón y fotofobia. Puede haber secreción mucínica, quemosis conjuntival, edema palpebral y más infrecuentemente, afectación de la córnea<sup>3</sup>.

En cuanto a la CAP, se consideran dentro de este grupo las conjuntivitis alérgicas de más de 3 semanas de evolución<sup>4</sup>. Es el resultado de una exposición antigénica poco intensa y continuada. Puede tener exacerbación estacional, generalmente por alergia a pólenes, pero suele tener duración anual por alergia al polvo, ácaros, hongos, pelos de animales y otros alérgenos. Su inicio es progresivo, pudiendo ser agudo o subagudo

después de una infección bacteriana o viral o con motivo de un traumatismo crónico como el uso de lentes de contacto. Su evolución es inicialmente intermitente para hacerse después crónica. Cursan con picor, escozor, sensación de cuerpo extraño y lagrimeo de intensidad moderada, que se agravan con la humedad, la luz, las atmósferas cargadas y el aire acondicionado. Su diagnóstico a veces se hace difícil por su similitud con otras causas de conjuntivitis crónica, con las que también pueden asociarse. También se debe considerar la mayor susceptibilidad a las infecciones secundarias a los pacientes atópicos. Las pruebas son positivas para neoalérgenos (dan una reacción inmediata), polvo y ácaros (produciendo una reacción doble) en el 80% de los casos. En este tipo de afecciones la IgE se encuentra elevada en el 60% de los casos<sup>4</sup>.

En todas las formas existe una fase inicial de sensibilización y tras sucesivas exposiciones al alérgeno se desencadena la reacción alérgica con su fase precoz mediada por mastocitos e histamina, y la tardía mediada por eosinófilos y neutrófilos. Prácticamente todas las proteínas y células implicadas en la inflamación se hallan presentes en la alergia ocular<sup>5</sup>.

Cuando se sospecha de una entidad alérgica, el paciente debe someterse a pruebas cutáneas seguidas por niveles séricos de IgE específicos y totales, y un hemograma con cuenta de eosinófilos. Entre las herramientas diagnósticas oculares encontramos la prueba de provocación conjuntival (PPC), en la que se administra una gota de alérgeno sobre la conjuntiva para observar la respuesta conjuntival local-específica<sup>6</sup>. La limitación de esta prueba de provocación está relacionada con la escasa disponibilidad y los altos costes de los alérgenos solubles en agua y libres de conservantes.

Otros test alérgicos miden la presencia de diferentes mediadores de alergia en la lágrima como la IgE, la histamina, la triptasa, la proteína catiónica del eosinófilo y diferentes

citoquinas<sup>7</sup>. En la mayoría de los test sus determinaciones se realizan *in vitro*, en laboratorios especializados, ya que necesitan de equipos caros o sofisticados para analizar la concentración. Existen métodos de diagnóstico *in vivo* de la alergia ocular basados en la presencia de la IgE en lágrima, utilizando unas tiras de papel que se colocan directamente sobre el fórnix inferior de la conjuntiva. Dentro de la tira están anclados anticuerpos anti-IgE y mediante un sistema colorimétrico se determina la presencia o ausencia de IgE en cuestión de minutos. Sin embargo, este test no es muy sensible en las conjuntivitis alérgicas (20%) y no es muy utilizado en la práctica clínica<sup>8</sup>. A pesar de que existen muchos métodos de diagnóstico de inflamación ocular, algunos son muy costosos y difíciles de realizar y otros son poco sensibles. Por ello pensamos que es necesario desarrollar nuevos tests diagnósticos para la alergia ocular que sean diferenciales, sencillos y económicos y se puedan utilizar directamente en las consultas por los especialistas.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la concentración de diferentes moléculas mediadoras de alergia en lágrima de niños con alergia estacional y perenne frente a la lágrima de niños control para diseñar un sistema diagnóstico de alergia ocular en lágrima basado en biomarcadores.

## Sujetos, material y métodos

Se analizaron muestras de lágrima de 20 niños con CAE y CAP, y 16 niños sanos utilizados como controles en el Servicio de Oftalmología del Hospital de Cruces, Baracaldo. Los tutores de todos los niños implicados en el estudio firmaron el consentimiento informado dando su autorización para la toma de muestras de lágrima.

Los sujetos alérgicos fueron incluidos en el estudio bajo los siguientes criterios: historia clínica de alergia diagnosticada con brote sintomático subclínico: picor y lagrimeo leve, rascado y/o parpadeo e hiperemia conjuntival. Los alergólogos tras remitir al Servicio de Oftalmología los casos de sospecha de CAE (manifestación por brotes en relación con la época de polinización) o CAP (más de tres semanas de evolución), la enfermedad fue confirmada mediante lámpara de hendidura. Las edades de los niños fueron comprendidas entre 5 y 14 años. Los criterios de exclusión fueron la coexistencia de otra dolencia ocular, administración concomitante de fármacos tópicos, la realización de intervenciones quirúrgicas oftalmológicas (6 meses previos) y la existencia de enfermedades sistémicas con repercusión en la superficie ocular. La CAV se excluyó del estudio por ser mucho más severa y la presencia de papilas permitía que no existieran problemas en el diagnóstico diferencial.

El grupo control estaba formado por niños de 5 a 14 años sin clínica ocular alguna, sin dolencias de la superficie ocular y sin ninguna alergia sistémica diagnosticada.

La toma de muestras fue realizada por personal cualificado siguiendo estrictamente los principios de la declaración de Helsinki y tras aprobación del Comité Ético de Investigación del Hospital de Cruces.

Se tomaron muestras de lágrima de ambos ojos, sin previa anestesia empleando hemostetas de acetato de polivinilo (PVA ref. 0525, OASIS, USA). Para ello, se colocó la hemo-

teta en el borde del párpado inferior sin tocar la superficie ocular para no provocar irritación. La punta de la hemosteta se recortó, y se eluyó para obtener las proteínas contenidas en ella. Posteriormente se centrifugó a 20.000 rpm durante 30 minutos. La lágrima obtenida se cuantificó con el método EZQ (Protein Quantification Kit, Biorad), para conocer la concentración de proteína total en cada muestra de lágrima. Una vez cuantificada se congeló a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis. Las moléculas analizadas fueron histamina (HIS), triptasa (TPS), factor quimiotáctico del eosinófilo (ECF), proteína básica (MBP), proteína catiónica del eosinófilo (ECP), neurotoxina del eosinófilo (EDN), IgE y E-selectina. El análisis se realizó mediante la técnica cuantitativa de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) tipo sándwich. En todos los casos el reactivo colorimétrico empleado fue TMB por lo que la longitud de onda empleada para la determinación de las concentraciones en todos los ensayos fue de 450 nm. El estudio estadístico se realizó empleando el test no paramétrico U de Mann-Whitney con un nivel de significación de  $p < 0,05$ . Los valores críticos de los mediadores se hallaron mediante representaciones gráficas basadas en diagramas de puntos y los niveles de sensibilidad y especificidad se determinaron mediante análisis de regresión logística multivariante (PEJ SPSS 18.0, Chicago, IL EE.UU.).

## Resultados

Se han analizado 20 muestras de lágrima de niños (17 padecían CAE y 3 CAP) y se han comparado con 16 muestras de lágrima de niños controles. Las muestras de lágrima del grupo de alergia se recogieron entre marzo y junio de 2009 y las muestras de lágrima del grupo control se recogieron en noviembre de 2009, fuera de la época de mayor afección alérgica.

La edad media del grupo de alergia fue de  $9 \pm 3,21$  (85% niños, 15% niñas), y la edad media del grupo control fue de  $10,25 \pm 3,02$  (81% niños, 19% niñas). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre la edad del grupo de alergia ocular frente al grupo control ( $p = 0,275$ ).

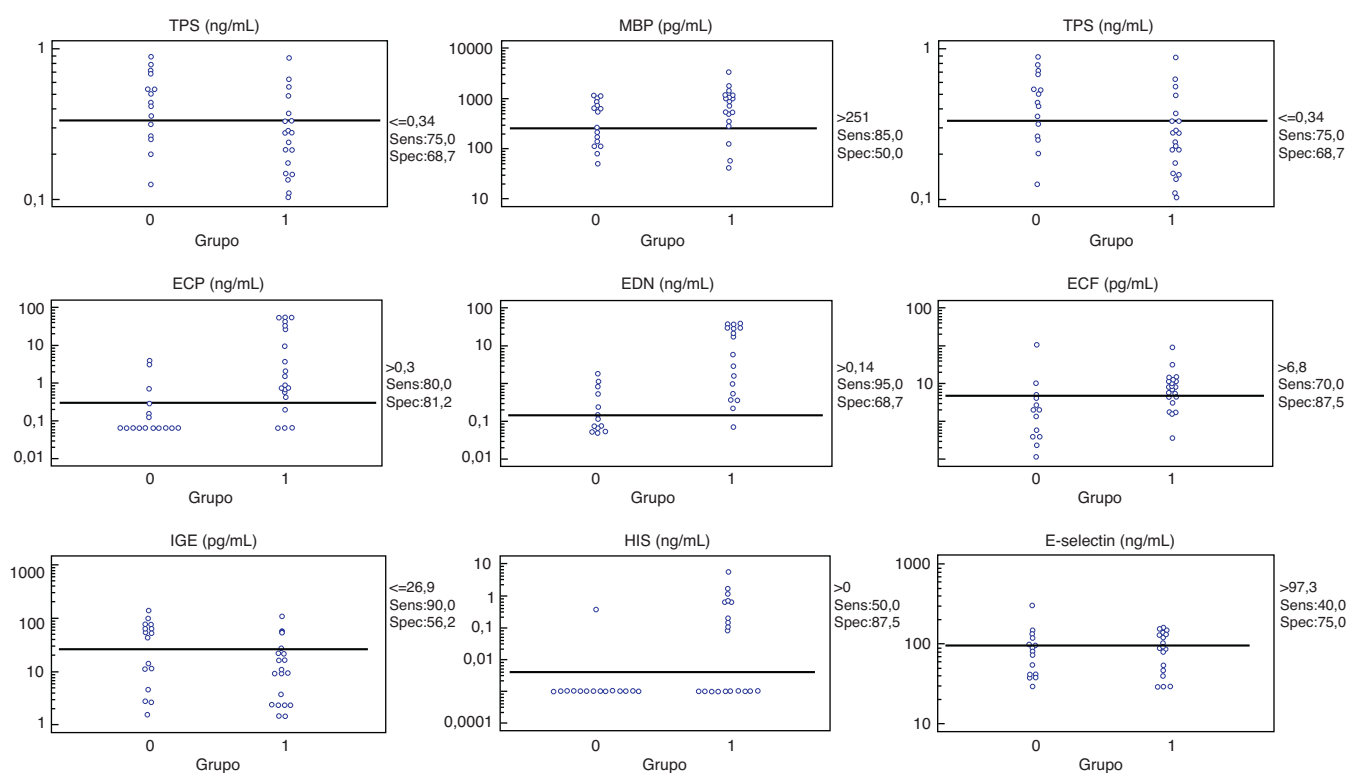
Los niveles en lágrima de TPS ( $p = 0,014$ ), MBP ( $p = 0,032$ ), ECP ( $p = 0,0041$ ), IgE ( $p = 0,014$ ) y EDN ( $p < 0,001$ ) presentaron diferencias estadísticamente significativas en el grupo de alergia comparado con el grupo control (tabla 1).

Para determinar la concentración crítica de cada mediador se emplearon representaciones mediante diagramas de puntos (*Interactive Dot Diagram*). Mediante este tipo de representaciones se puede obtener el valor crítico de concentración que nos proporcione una sensibilidad y una especificidad máxima (fig. 1). Los valores críticos obtenidos para cada mediador con su especificidad y sensibilidad, indicado a modo de porcentajes, se muestran en la tabla 2. En el análisis de las curvas ROC comparativas (fig. 2) muestran la relación que hay entre la sensibilidad y la especificidad para un mediador dado. Cuando se hace un análisis comparativo entre distintos mediadores, se puede visualizar cuál de ellos, de manera individual, dará mejores resultados como herramienta de diagnóstico. Este será el que tenga mayor área bajo la curva. Según nuestros resultados el mediador de alergia ocular en lágrima que presenta una mayor área bajo la curva es el EDN (95% de sensibilidad y 68,7% de especificidad). Sin embargo, los análisis de regresión logística multivariantes, que actúan a su

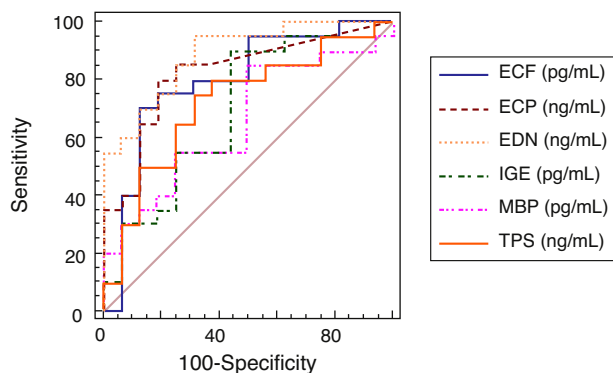
**Tabla 1 – Valores de concentración de los mediadores alérgicos en lágrima de niños con conjuntivitis alérgica estacional y conjuntivitis alérgica perenne comparados con los valores en lágrima de niños control**

Mediadores alérgicos	Concentración de mediadores de alergia en lágrima de CAE/CAP (ng/mL)	Concentración de mediadores de alergia en lágrima de controles (ng/mL)	p < 0,05
TPS	26,6 ± 13,79	32,9 ± 15,12	0,014
MBP	43,68 ± 37,2	24,92 ± 20,38	0,03
HIS	56 ± 130	4 ± 11	0,09
ECP	143,8 ± 209,9	5,5 ± 11,6	0,0041
EDN	322,5 ± 380,75	8,25 ± 12,25	0,0007
E-Selectin	8,95 ± 4,46	9,16 ± 6,60	0,456
ECF	9,28 ± 5,91	5,74 ± 7,45	0,06
IgE	8,97 ± 12,04	22,12 ± 19,9	0,014

Valor de significación p < 0,05.

**Figura 1 – Se representa la concentración crítica de cada mediador alérgico mediante diagramas de puntos (Interactive Dot Diagram). Mediante este tipo de representaciones se puede obtener el valor crítico de concentración que proporciona una sensibilidad y una especificidad máxima. Grupo 0: grupo control; grupo 1: grupo con alergia ocular.****Tabla 2 – Valores críticos obtenidos para cada mediador con su especificidad y sensibilidad, indicado a modo de porcentajes**

Mediadores alérgicos	Concentración en lágrima (ng/mL)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
TPS	≤ 23,8	75	68,7
MBP	> 12,55	85	50
HIS	> 5	50	87,5
ECP	> 3	80	81,2
EDN	> 3,5	95	68,7
E-Selectin	> 9,7	40	75
ECF	> 6,8	70	87,5
IgE	≤ 13,45	90	56,2



**Figura 2 - Análisis de las curvas ROC comparativas. Se muestra la relación que hay entre la sensibilidad y la especificidad para un mediador dado. Este será el que tenga mayor área bajo la curva. Se puede observar que el mediador de alergia ocular en lágrima que presenta una mayor área bajo la curva es el EDN.**

**Tabla 3 - Tabla de clasificación utilizando el método ENTER. Empleando todas las muestras de lágrimas analizadas se confecciona un modelo predictivo que indica cómo utilizando los 8 mediadores analizados como herramienta de diagnóstico, es posible diagnosticar correctamente el 94,4% de los pacientes, tanto sanos como alérgicos**

	Grupo predictor		% correcto
	Y=0	Y=1	
Y=0	15	1	93,75%
Y=1	1	19	95%
			<b>94,44%</b>

Y=0: casos controles; Y=1: casos con alergia ocular.

vez como un modelo predictivo, nos indican que utilizando los 8 mediadores analizados como herramienta de diagnóstico, es posible diagnosticar correctamente el 94,4% de los pacientes, tanto sanos como alérgicos (tabla 3).

## Discusión

La alergia ocular tiene una alta prevalencia en la población en general siendo una de las dolencias más frecuentes de la superficie ocular en la consulta oftalmológica. Los síntomas que producen los diferentes tipos de alergia ocular son comunes a muchas otras dolencias de la superficie ocular y sistémicas siendo los brotes leves en la infancia en muchas ocasiones mal diagnosticados como tics, es por esto que en algunos casos de duda o dificultad en el diagnóstico es necesario recurrir a métodos alternativos o complementarios, sobre todo por parte de pediatras de Atención Primaria<sup>7</sup>. Muchos mediadores inflamatorios pueden ser medidos en lágrima tanto para diagnóstico como pronóstico y/o con propósitos experimentales. La mayoría determinan la concentración de IgE específica de forma indirecta mediante pruebas *in vivo* realizadas sobre el mismo paciente, o bien de forma directa mediante técnicas de laboratorio. Así la prueba de provoca-

ción conjuntival analiza la presencia de IgE específica sobre la conjuntiva<sup>6</sup> y el *lacrytest* que es un método directo, mide la cantidad de IgE presente en la lágrima<sup>8</sup>. Dentro de los métodos *in vitro* se encuentran pruebas muy sofisticadas que analizan diferentes mediadores alérgicos en lágrima como la técnica ELISA utilizando anticuerpos específicos contra los mediadores a analizar con un marcador enzimático o el RAST que presenta unos principios básicos idénticos a la ELISA pero utilizando isótopos radioactivos. Otras técnicas indirectas son el test de liberación de histamina (TLH) o el test de liberación de basófilos (TDBH). Estas pruebas no aportan mayor utilidad para el diagnóstico clínico. Sin embargo, su uso es útil para estudios experimentales o de investigación<sup>9</sup>. Estos métodos en muchos casos son poco sensibles y en otros muchos casos se necesita de un laboratorio para su análisis con métodos muy caros y sofisticados.

Por todo esto, se evidencia la necesidad de un test que se pueda realizar en la consulta directamente sobre el paciente, específico, sensible y económico.

En este estudio se ha encontrado que el análisis simultáneo de determinados mediadores alérgicos en la lágrima de niños indica una alteración en sus concentraciones en niños con CAE y CAP respecto a los niños controles.

Los mastocitos siempre han sido considerados la principal célula implicada en la reacción alérgica. Además del efecto bien conocido inducido por el entrecruzamiento de los anticuerpos tipo IgE con receptores IgE de alta afinidad por el antígeno y por la liberación de variados mediadores, como la histamina, que produce la inmediata degranulación de los mastocitos, es conocido que estas células también producen y liberan otros factores como la triptasa<sup>6,10</sup>. De forma similar, los eosinófilos y sus proteínas tóxicas están incrementados y activados en la lágrima, conjuntiva y suero de todas las enfermedades oculares alérgicas y son responsables de los daños corneales producidos en estas enfermedades. Otras células inflamatorias como los neutrófilos participan también en la respuesta alérgica y contribuyen a la inflamación a través de la reclusión de otras células y mediadores inflamatorios. Las moléculas que se han analizado derivan de todas estas células implicadas en la respuesta alérgica. Así, la histamina es el mediador más importante y mayoritario encontrado en la fase inicial de una reacción anafiláctica. Puede activar el supresor de las células T y por lo tanto puede inhibir la producción de IgE. Esto explicaría los bajos niveles de IgE en individuos patológicos obtenidos en este estudio, puesto que los niveles de histamina en lágrima de niños con CAE y CAP se encontraban elevados. Este proceso de retroalimentación en el que la molécula efectora, en este caso la HIS, causa una inhibición de la molécula responsable de su liberación podría explicar cómo niveles altos en lágrima de HIS podría relacionarse con niveles bajos de IgE y viceversa<sup>5</sup>. Asimismo, en este estudio, también aparecen valores de concentración de TPS menores en lágrima de niños con alergia ocular que los encontrados en la lágrima de niños controles, al contrario de lo esperado. No obstante, se ha descrito la posibilidad de que ocurra una activación no específica de los mastocitos debido a un aumento de los niveles de las moléculas causantes de su activación, como la triptasa, y en una segunda fase, una vez activados los mastocitos los niveles de triptasa disminuirían y se produciría la liberación de HIS<sup>11</sup>. Por otra parte, en el presente estudio

los valores de ECP, EDN y MBP se vieron incrementados en la lágrima de niños con alergia ocular frente a la lágrima de niños controles, sanos. La ECP, EDN y MBP son las mayores proteínas mediadoras derivadas de los eosinófilos activados. La ECP y la EDN se encuentran en la matriz de los gránulos de los eosinófilos mientras que la MBP se encuentra en el corazón de los gránulos.

La ECP está incrementada significativamente en las lágrimas de todas las formas de conjuntivitis alérgica, incluso en pacientes con pruebas negativas para IgE total y específica<sup>12</sup>. La ECP correlaciona con la severidad del compartimento corneal durante las fases agresivas de la enfermedad, en el cual la proteína es liberada de eosinófilos activados y es un fuerte indicador en la patogénesis del daño producido al epitelio corneal en formas severas de alergia ocular<sup>12</sup>. Niveles altos de EDN también se han encontrado en la lágrima de pacientes con alergia ocular debido a la activación de los eosinófilos conjuntivales. Aunque la EDN tiene una alta homología en secuencia con la ECP, la EDN tiene 100 veces más actividad ribonucleasa que la ECP. Esta neurotoxina puede ser un mediador de la activación de los eosinófilos y de la degranulación<sup>12</sup>.

Dentro de todos los mediadores analizados, hay algunas moléculas que nos proporcionan buenos valores de sensibilidad (EDN, IgE, MBP) y otras que nos proporcionan buenos valores de especificidad (HIS y ECF), pero no hay ningún mediador que pueda actuar por sí solo como una buena y efectiva herramienta de diagnóstico para alergia ocular debido a las altas desviaciones estándar producidas por las variaciones en la concentración de estos mediadores entre individuos de un mismo grupo. Sin embargo, tras realizar un análisis multivariante mediante regresión logística múltiple, se comprobó que el estudio conjunto de varios de estos mediadores a modo de panel de mediadores de alergia ocular, puede llevar a porcentajes de acierto superiores al 94%.

En conclusión, el análisis de mediadores alérgicos de forma conjunta en lágrima de niños, constituye una herramienta diagnóstica importante y complementaria con la evaluación clínica, sobre todo en aquellos casos en los que exista similitud con otras causas de conjuntivitis crónica y/o tics de parpadeo. El sistema diagnóstico utilizando los 8 biomarcadores de alergia que se presenta en este estudio es muy sensible y específico y pensamos que al ser un sistema multivariante permite un mayor éxito en el diagnóstico que los tests que existen en la actualidad que sólo analizan un marcador. El porcentaje de éxito en el diagnóstico es muy alto (94%) por lo que lo hace un sistema más efectivo que los tests que había hasta la actualidad ya que presentaban porcentajes de acierto mucho más bajos. En la actualidad, nuestro grupo está investigando un dispositivo para anclar los 8 biomarcadores de alergia, que dé una lectura del resultado en unos minutos para que pueda ser utilizado directamente en la consulta sin necesidad de laboratorios externos. Este método tendrá que ser sencillo, rápido y económico.

La evaluación clínica debe prevalecer, guiando la ejecución adjunta de pruebas de laboratorio que puedan confirmar un

diagnóstico presuntivo u orientar hacia una hipótesis alternativa.

---

## Financiación

IEI08-003-BIOMICS (ETORGAI 2008: Proyectos integrados de investigación industrial).

---

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

---

## Agradecimientos

Nuestros agradecimientos al Servicio de Alergología del Hospital de Cruces por su colaboración en los casos de niños incluidos en este estudio procedentes de su Servicio.

---

## BIBLIOGRAFÍA

1. Van Gysel D, Govaere E, Verhamme KM, Doli E, De Baets F. Messages from the Aalst Allergy Study. *World J Pediatr*. 2009;5:182-90.
2. Lundbäck B. Epidemiology of rhinitis and asthma. *Clin Exp Allergy*. 1998;28:3-10.
3. Wong AH, Barg SS, Leung AK. Seasonal and perennial allergic conjunctivitis. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*. 2009;3:118-27.
4. Dart JK, Buckley RJ, Monnickendan M, Prasad J. Perennial allergic conjunctivitis: definition, clinical characteristics and prevalence. A comparison with seasonal allergic conjunctivitis. *Trans Ophthalmol Soc UK*. 1986;105: 513-20.
5. McGill JI, Holgate ST, Church MK, Anderson DF, Bacon A. Allergic eye disease mechanisms. *Br J Ophthalmol*. 1998;82:1203-14.
6. Butrus SI, Abelson MB. Laboratory evaluation of ocular allergy. *IT Ophthalmol Clin*. 1989;28:324-8.
7. Leonardi A. In-vivo diagnostic measurements of ocular inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2005;5:464-72.
8. Monzón S, Arrondo E, Bartra J, Torres F, Basagaña M, San Miguel MM, et al. Conjunctivitis and total ige in lacrimal fluid: lacrytest screening. *J Allergy*. 2009:1-6.
9. Llatser R. Test in vivo e in vitro. En: Leonart R, Gaig P, Marques LL, Guspi R, editors. *Manual de alergología*. Editorial Masson; 1995. p. 27-40.
10. Bonini S. Atopic keratoconjunctivitis. *Allergy*. 2004;59: 71-3.
11. Galatowicz G, Ajayi Y, Stern ME, Calder VL. Ocular anti-allergic compounds selectively inhibit human mast cell cytokines in vitro and conjunctival cell infiltration in vivo. *Clin Exp Allergy*. 2007;37:1648-56.
12. Bonini S, Magrini L, Rotiroti G, Lambiasi A, Tomassini M, Rumi C, et al. The eosinophil and the eye. *Allergy*. 1997;52:44-7.