

Abordaje integral del paciente con asma por alergia al polen del olivo

Manuel Alcántara Villar (Coord.)





CAPÍTULO 7

Diagnóstico basado en fuentes alergénicas y en componentes individuales

Carmen Moreno Aguilar. Pilar Serrano Delgado

UGC Alergia-Inmunología.
Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

1. Introducción

El polen de Olivo es una mezcla compleja de proteínas alergénicas y otros ingredientes no alergénicos, proteicos y no proteicos. En el supuesto de que consiguiéramos eliminar todo el material no alergénico de un extracto de polen de Olivo, el residuo tendría una alta complejidad: que conozcamos, hasta 12 proteínas distintas con capacidad de fijar IgE, más lo que queda por conocer. Si añadimos a esta variedad la propia de los individuos que se sensibilizan, sería demasiado ingenuo pensar que existe una única manera de ser alérgico al polen de Olivo. Hasta hace unos 10 años los clínicos hemos concebido la alergia al Olivo como un problema plano desde el punto de vista diagnóstico (SI/NO) basándonos en el uso del extracto alergénico completo para el diagnóstico. Sin embargo sabíamos que debajo de esa simplicidad debía existir una realidad que se nos escapaba, y que sólo percibíamos a posteriori, cuando algunos pacientes respondían a la inmunoterapia razonablemente y otros mucho menos o en absoluto. La posibilidad del diagnóstico basado en componentes individuales, como veremos a continuación, nos está enseñando cosas muy diferentes y en un tiempo muy diferente.

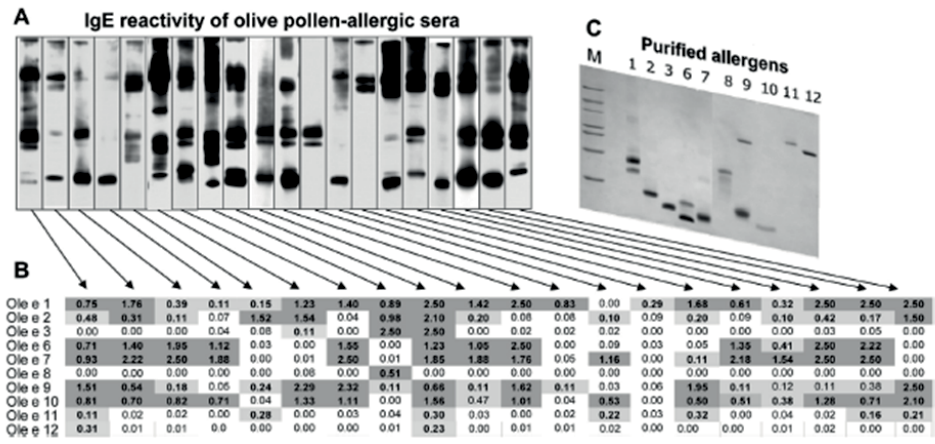
2. Composición alergénica del polen de Olivo

El alergograma del polen de olivo que puede verse en la Figura 1 (Villalba M, 2014) es una imagen compleja que a día de hoy contiene un total de 12 proteínas alergénicas, denominadas sucesivamente Ole e 1 ... Ole e 12. Recientemente se ha descrito el Ole e 13, una taumatina ausente del polen, que se localiza en el fruto, produciendo reacción en relación con el aceite de manera excepcional (Palomares O, 2008). Todas ellas han sido identificadas y caracterizadas. Algunas además han sido clonadas y obtenidas en forma recombinante, lo que ha permitido disponer de cantidades suficientes para analizar su estructura tridimensional, reproducir sus plegamientos y cartografiar sus epítomos secuenciales (propios de linfocitos T) y conformacionales (propios de linfocitos B), para finalmente aplicarlas a ensayos con sueros humanos que definen los modelos de reconocimiento alérgico, los diferentes fenotipos de sensibilización y consecuentemente la mejor adecuación de los productos de inmunoterapia y su uso óptimo en clínica.

La posibilidad de manipular las proteínas alergénicas del polen de olivo en el laboratorio ha conducido a la obtención de productos tales como alérgenos mutantes, derivados hipoalergénicos o fragmentos recombinantes aislados. Todo ello está siendo de utilidad para generar herramientas experimentales tales como modelos de sensibilización animal que permiten profundizar en el fenómeno del reconocimiento inmune o para anticipar tecnologías de utilidad terapéutica o

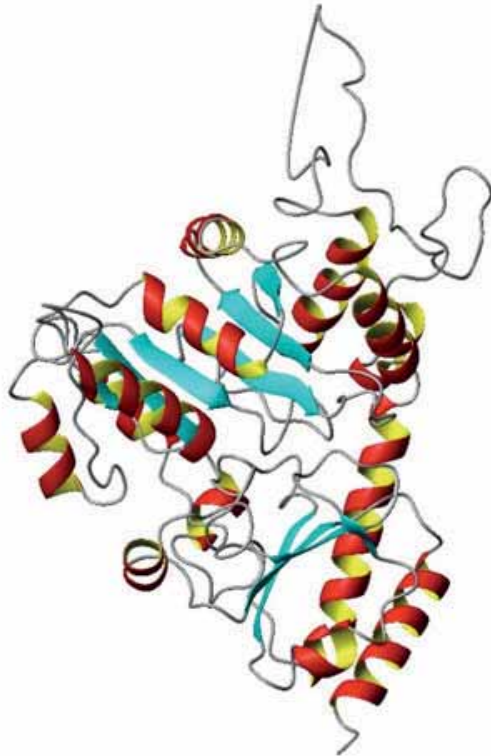
preventiva en humanos. Por ser el alérgeno de mayor reconocimiento en la población alérgica, Ole e 1 es la punta de lanza que tutoriza los programas de investigación más avanzados, destinados a obtener productos de uso clínico.

Fig. 1. Blotting que muestra las diferentes proteínas alergénicas del extracto de Olivo reconocidas por sueros de pacientes. Tomado de Villalba M, 20014



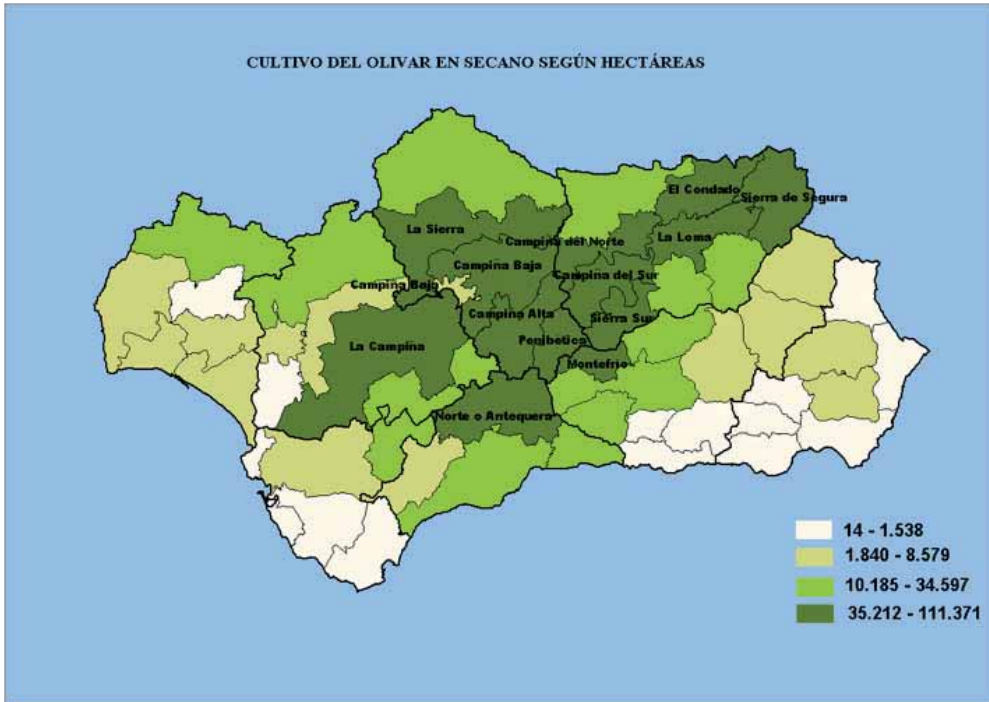
Ole e 1 es el alérgeno mayoritario del polen de Olivo (Figura 2), llegando a ser reconocido por más del 90% de la población sensibilizada (Quiralte J, 2002), lo que en la práctica lo convierte en el principal marcador de sensibilidad verdadera al polen de Olivo en los países mediterráneos. Se trata de una proteína específica de oleáceas que muestra un alto grado de reactividad cruzada con los alérgenos del grupo 1 de *Fraxinus excelsior* (Fra e 1), *Ligustrum vulgare* (Lig v 1) y *Syringa vulgaris* (Syr v 1)¹. Pertenecen a esa misma familia de proteínas algunos alérgenos de *Chenopodium*, *Plantago* y poaceas. Representa una alta proporción (aunque con alta variabilidad) del contenido alergénico del polen de Olivo (García BE, 2011). En poblaciones de pacientes residentes en áreas con una presión de olivar media-baja suele ser el único sensibilizante reconocido (Barber D, 2008).

Fig. 2. Representación tridimensional de Ole e 1. Fuente: SDAP-AllAllergens.



Ole e 7 es una proteína transportadora de lípidos (LTP) que se encuentra en pequeña cantidad dentro del grano de polen, motivo que puede justificar que sensibilice a una pequeña parte de la población alérgica. Sin embargo, en regiones con presión alta-extrema de cultivo de olivar, como el interior de Andalucía (Figura 3), supone un alérgeno que sensibiliza al 50 % de la población (Barber D, 2008). Se pueden encontrar LTPs en diversos tejidos vegetales (pólenes, hojas, frutos) por lo que son sensibilizantes tanto por inhalación como por ingestión. La familia de las LTPs comparten su función biológica pero su similitud estructural es muy variable, por lo que muestran un grado de reactividad cruzada también variable (Tordesillas L, 2011). Sin embargo, desde el punto de vista clínico son marcadores de severidad. Entre los pacientes alérgicos a Olivo, los Ole e 7 positivo tienen una enfermedad más grave que los Ole e 7 negativo, y un comportamiento diferente con la inmunoterapia (menos eficacia, más reacciones adversas). La sensibilización a LTPs es un fenómeno muy frecuente en los países mediterráneos.

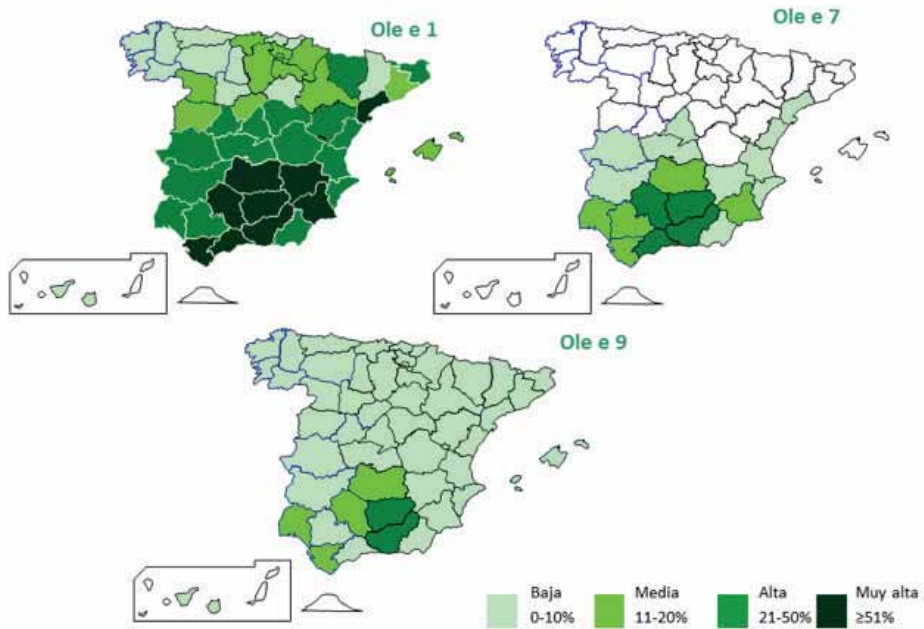
Fig. 3. Fuente: Instituto de Estadística de Andalucía.



Ole e 9 es una glucanasa (Huecas S, 2001), proteína que desde el punto de vista biológico actúa hidrolizando glicanos de la pared celular vegetal y colaborando con otras proteínas (expansinas) en la expansión estructural necesaria para la generación del tubo polínico durante la reproducción sexual de la planta. Su capacidad sensibilizante está entre Ole e 7 y Ole e 1. Por alguna razón que no conocemos, Ole e 9 no es nunca un sensibilizante primario, sino que actúa como “cortejo” de Ole e 1 o de Ole e 7. También constituye un alérgeno mayoritario en las zonas de alta presión de olivar (Barber D, 2008) y se asocia a una forma algo más grave de la enfermedad alérgica por Olivo.

La Figura 4 muestra el mapa de sensibilización a los tres principales alérgenos genuinos del polen de Olivo.

Fig. 4. Prevalencia de la sensibilización a componentes alergénicos de Olivo Tomado de Barber D, 2008.

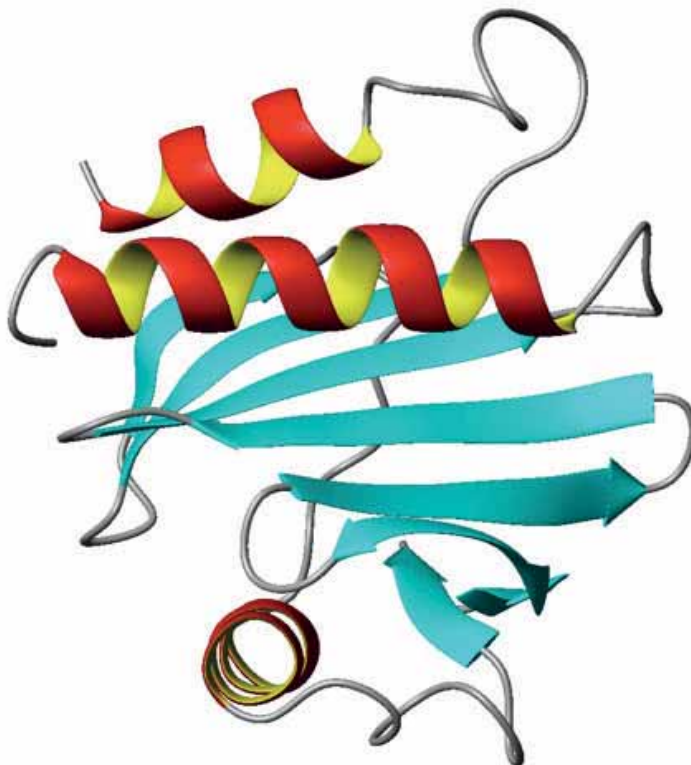


Ole e 2 pertenece al grupo de las profilinas (Asturias JA, 1977), proteínas ubicuas en diferentes organismos vivos, pero especialmente en los tejidos vegetales (Figura 5). Funcionalmente se relacionan con la organización del citoesqueleto, propiciando el control de los microfilamentos de actina. Se trata de proteínas muy antiguas desde el punto de vista filogenético. Su persistencia en condiciones originales confiere a las profilinas una estructura muy similar de una especie a otra, lo que las convierte en panalérgenos o marcadores de reactividad cruzada. Nunca son sensibilizantes primarios y son causa de confusión diagnóstica a menudo. Los pacientes alérgicos a Olivo pueden estar sensibilizados a profilinas como parte de la propia enfermedad, o más frecuentemente, como cortejo de una cosensibilización a gramíneas, ya que las profilinas son frecuentes sensibilizantes secundarios de las expansinas de poaceas⁶

Ole e 3 es marcador de reactividad cruzada entre pólenes (no se encuentra en otros tejidos vegetales). Pertenece al grupo funcional de proteínas transportadoras de calcio (Ledesma A, 1998). Desde el punto de vista estructural tiene muchas similitudes con las polcalcinas de otras oleáceas (Syr v 3), gramíneas (grupo 7), chenopodiáceas (Che a 3), betuláceas (Bet v 4) y otras. Este carácter de panalérgeno polínico es

responsable de numerosos falsos positivos cuando se realiza diagnóstico basado en extracto completo con baterías de múltiples pólenes. Ole e 3 ha sido clonado y su forma recombinante está comercialmente disponible para diagnóstico in vitro. Al igual que se considera para las profilinas, Ole e 3 nunca es un sensibilizante primario.

Fig. 5. Representación tridimensional de Ole e 2. Fuente: SDAP-AllAllergens



Los restantes alérgenos conocidos del polen de Olivo, o tienen menor importancia clínica o ésta aún no se ha identificado: **Ole e 4** es una glucanasa diferente de Ole e 9, **Ole e 5** es una superóxido-dismutasa, **Ole e 6** es una proteína de función desconocida, **Ole e 8** es una polcalcina diferente de Ole e 3, **Ole e 10** es una glicosilhidrolasa que muy posiblemente se identifica con un fragmento de Ole e 9, **Ole e 11** es una pectin-metilesterasa relacionada con el alérgeno mayor de *Salsola kali* y **Ole e 12** es una ioflavona-reductasa (Villalba M, 20014)

Alergeno	P.M. (kDa)	Familia	Alergenoshomólogos
Ole e 1	20-18	Ole e 1	Fra e 1, Lig v 1, Syr v 1 Che a 1, Pla l 1, Lol p 11
Ole e 2	14	Profilina	Grupo 12 gramíneas, Bet v 2, Che a 2, Sal k 4, Pho d 2, Mer a 1, Hev b 8, profilinas de alimentos vegetales
Ole e 3	9	EF-hand (polcalcina) (2)	Syr v 3, Grupo 7 gramíneas, Che a 3, Bet v 4
Ole e 4	32	?	
Ole e 5	16	SOD	
Ole e 6	6	?	
Ole e 7	10	nsLTP	Par j 1/2, Art v 3, Pla a 3, nsLTP de alimentos vegetales (Pru p 3)
Ole e 8	21	EF-hand (4)	Bet v 3, Jun o 4
Ole e 9	46	β -1,3-glucanasa	Hev b 2, Alimentosvegetales
Ole e 10	11	C-terminal Ole e 9	
Ole e 11	40	Pectin-metilesterasa	Sal k 1, alimentosvegetales
Ole e 12	35	Isoflavonareductasa	Bet v 6, alimentosvegetales

Tabla I. Alergenos conocidos del polen de Olivo (cortesía Dr Manuel Lombardero).

■ Alergenomayoritario ■ Panalergenosalergenosenos ■ Minoritarios específicos de Olivo

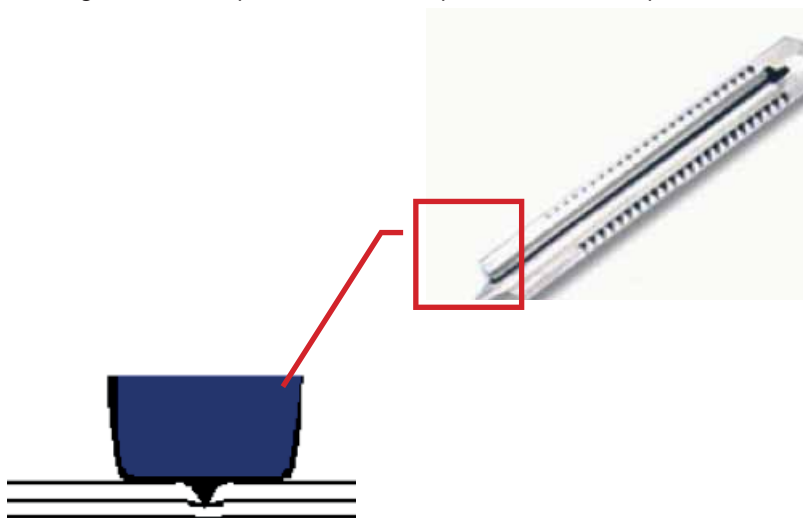
La Tabla I describe los alérgenos de polen de Olivo descritos hasta el momento

3. Herramientas diagnósticas: el significado de cada una de ellas

El itinerario del diagnóstico etiológico en la alergia al Olivo viene definido desde el principio por la intención de tratamiento. Si estamos ante un paciente en el que concurren circunstancias generales que contraindican la inmunoterapia (edad avanzada, enfermedades concomitantes, tratamientos incompatibles), o sencillamente manifiesta la intención de no vacunarse, hacer un diagnóstico etiológico que nos lleve hasta el fenotipado de la enfermedad no resultará efectivo ni eficiente. Por el contrario, si la intención es instaurar un tratamiento etiológico resulta esencial abordar la naturaleza final de la enfermedad para hacer una aproximación al pronóstico y tomar la decisión más correcta en cuanto a la inmunoterapia.

El prick test con extracto completo de polen de Olivo es la prueba más inmediata para demostrar sensibilización. Esta técnica se basa en la demostración indirecta de la existencia de IgE específica frente cualquier proteína alergénica de polen de Olivo (una o más de una), acoplada a la membrana del mastocito, comparando con un control positivo (difosfato de histamina 10 mg/ml) la pápula que produce una gota del extracto glicerinado de polen colocada sobre la piel, cuando es atravesada por una lanceta de tipo Morrow-Brown® (Figura 6). Un prick test positivo significa que el paciente está sensibilizado al polen de Olivo, no indica que esta sensibilización sea responsable de algún síntoma, ni tampoco que sea relevante en la enfermedad. El tamaño de la pápula no es en absoluto un indicador de la gravedad de la enfermedad, ni tan siquiera de la intensidad de la sensibilización.

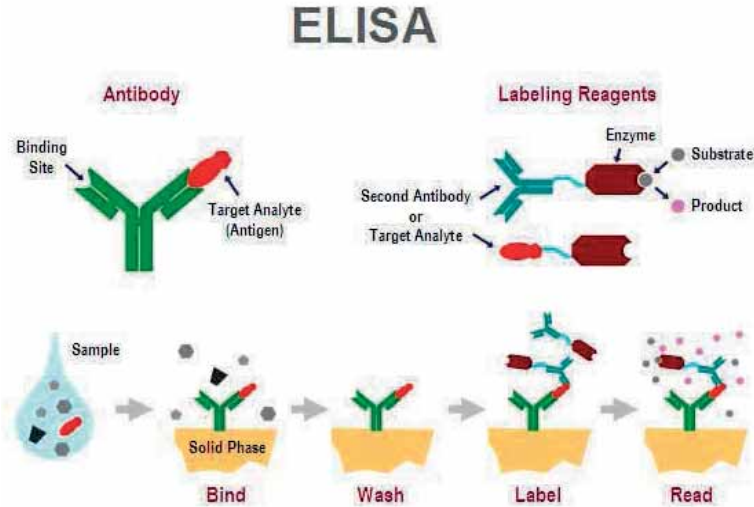
Fig. 6. Lanceta tipo Morrow-Brown para realización de prick-test.



El prick test es una prueba sensible, fácilmente realizable, barata y que ofrece unos resultados de manera inmediata. Todo ello la convierte en una práctica rutinaria de gran utilidad para el cribado de pacientes alérgicos en la consulta, pero es claramente insuficiente para tomar una decisión sobre inmunoterapia con Olivo como se verá en adelante.

La determinación de IgE frente a extracto completo de polen de Olivo en el suero del paciente tiene el mismo significado clínico que el prick test: demuestra sensibilización alérgica. Sin embargo existe una diferencia notable: se trata de un parámetro cuantificable obtenido mediante un ensayo ELISA (Figura 7).

Fig. 7. Esquema descriptivo de la técnica ELISA. Disponible en la red.



Se asume que la determinación de IgE frente a Olivo identifica moléculas de IgE con diferentes especificidades idiotópicas (cada una de las cuales podría corresponder a un alérgeno distinto) y las suma sin distinguirlas (Figura 8), ofreciendo finalmente un resultado que puede verse afectado por el efecto competitivo de la IgG4 de la misma especificidad dependiendo de la arquitectura del ensayo.

Fig. 8. ELISA en cuya fase sólida habríal polen de Olivo completo. Los anticuerpos del paciente reconocen diferentes alérgenos, genuinos o no.

IgE frente a extracto completo

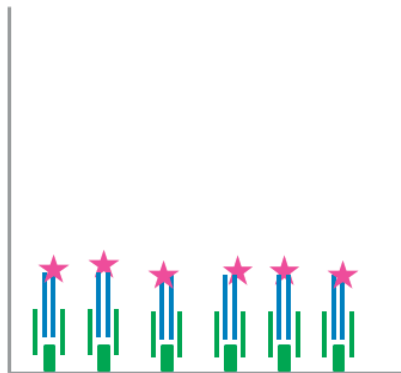


La IgE frente a Olivo completo, en un sentido académico, es el segundo paso tras el prick test en el diagnóstico etiológico de la alergia al Olivo. Con una alta sensibilidad, mejora la especificidad del prick al evitar la cascada inflamatoria que supone la degranulación. Se puede realizar mediante un procedimiento automatizado que maneja altos números de muestras y en sistemas bien organizados es posible obtener en 3-4 horas unos resultados robustos si la tecnología es de alta calidad y su manejo experto.

Lo que en los últimos años ha dado en llamarse “**Diagnóstico Molecular**” en Alergología no es más que la determinación de IgE con una especificidad mayor que la descrita en el apartado anterior. En el ensayo ELISA, el anticuerpo trazador es monoclonal y tiene la especificidad de un alérgeno único, por lo que todas las moléculas de IgE frente a componentes diferentes del polen de Olivo se pueden eliminar con un lavado (Figura 9). Esta técnica también identifica “sensibilización cuantificable” como la anterior, pero a diferencia de la anterior, detecta sensibilizaciones frente a moléculas cuyo significado clínico-biológico ya conocemos, lo que nos permitirá discriminar entre sensibilizantes genuinos y marcadores de reactividad cruzada, definir fenotipos con valor pronóstico, conocer la historia evolutiva de la enfermedad o anticipar la viabilidad de la inmunoterapia como se verá más adelante.

Fig.9. ELISA en cuya fase sólida habría una proteína alérgica individual, reconocida solamente por las moléculas de IgE con la misma especificidad.

IgE frente a un alérgeno individual



4. Algoritmo diagnóstico en la alergia al Olivo

El diagnóstico de alergia al polen de Olivo parte de una situación clínica muy elocuente: episodios de rinoconjuntivitis y asma bronquial durante la primavera, con especial intensidad en el mes de mayo, recidivando un año tras otro con ausencia de manifestaciones en otras estaciones. Si la polinización del Olivo fuera un fenómeno aislado, la coincidencia entre los calendarios de síntomas y polinización y un test diagnóstico basado en el extracto completo podría ser suficiente para establecer que el paciente es alérgico a Olivo, pero las cosas no son tan sencillas: los períodos de polinización de diversas plantas se solapan total o parcialmente (en el sur de España, Olivo y gramíneas prácticamente se superponen) y el cribado diagnóstico con pólenes que se realiza sistemáticamente en las clínicas alergológicas pocas veces muestra una positividad única. Por otra parte, el diagnóstico basado en componentes individuales nos ha enseñado que hay más de una forma de ser alérgico al polen de Olivo, con importantes diferencias clínicas. Como consecuencia de todo ello se impone la necesidad de un algoritmo diagnóstico que involucre todas las herramientas disponibles, incluyendo el conocimiento clínico.

4.1. Fase de Sospecha-Cribado: En esta primera fase se integran tres herramientas diagnósticas: la anamnesis, los calendarios de polinización y los tests diagnósticos basados en el extracto completo.

4.1.1. La anamnesis debe identificar las manifestaciones respiratorias necesarias para sustentar el diagnóstico. Si el cuadro clínico es diferente de rinoconjuntivitis con o sin asma bronquial, cualquier intento de progresar en búsqueda del diagnóstico de enfermedad alérgica por Olivo carece de sentido, aunque haya evidencia de algún test de sensibilización positivo. Dicho de otra manera, una “alergia al Olivo” sin cuadro respiratorio en primavera no es alergia al Olivo.

4.1.2. Los datos aerobiológicos son de gran interés para correlacionar los síntomas con la presencia del polen en el aire. Resulta crítico disponer de datos aerobiológicos locales ya que las variaciones de una a otra región pueden ser importantes en función de diferencias geo-térmicas (Aguilera F, 2013). Resulta muy conveniente el análisis de datos sobre recuentos de largo recorrido en el tiempo, utilizando modelos estadísticos que permiten la predicción, después de identificar patrones de floración y precisar las fluctuaciones y sus factores asociados (García-Mozo H, 2014). También habría que prestar atención a la carga alérgica real, puesto que la variabilidad del contenido alérgico de los granos de un mismo polen puede ser considerable de una región a otra (Galán C, 2013) y como consecuencia,

el recuento de granos podría no ser representativo de la exposición que recibe el paciente de un modo lineal.

4.1.3. El prick test y/o el nivel de IgE frente a extracto completo de Olivo constituyen herramientas necesarias para el diagnóstico porque su negatividad podría ser excluyente, pero la presencia de Ole e 2 y Ole e 3 en el material biológico empleado constituye una causa de “ruido diagnóstico” suficiente para crear incertidumbre sobre la certeza de la sensibilización detectada.

4.1.4. La información recabada en la Fase de Sospecha-Cribado contiene indicios razonables de que el paciente puede ser alérgico al polen de Olivo, pero no es suficiente para afirmar que los alérgenos contenidos en éste son los responsables de la enfermedad.

4.2. Fase de Confirmación Diagnóstica: La principal herramienta diagnóstica empleada en este nivel es la IgE específica frente a componentes alérgicos individuales, con valor de marcador de sensibilización verdadera y eventualmente con valor de marcador de reactividad cruzada (Rodríguez R, 2007).

4.2.1. Para confirmar que un paciente está verdaderamente sensibilizado al polen de Olivo a día de hoy es necesario determinar la IgE específica frente a Ole e 1. En la mayor parte del territorio español, un valor negativo excluye alergia al Olivo, incluso en presencia de prick y/o IgE frente a extracto completo positivos (Orovitg A, 2011).

4.2.2. En caso de negatividad de IgE frente a Ole e 1 en áreas de alta presión de olivar, se debe testar Ole e 7, que también es muy prevalente y que en un porcentaje no desdeñable de la población, constituye el sensibilizante primario.

4.2.3. La determinación de IgE frente a panalérgenos (Ole e 2 y Ole e 3) no tiene valor confirmatorio, pero puede explicar unas positividades en la fase de sospecha sin posterior confirmación (Letran A, 2013). En caso de que Ole e 1 y Ole e 7 fueran negativos, un valor positivo de Ole e 2 o de Ole e 3 debería dirigirnos a buscar un sensibilizante genuino en otra especie botánica, principalmente en gramíneas.

4.3. Fase de Fenotipado: Si se ha confirmado que el paciente es alérgico a Olivo y cuando se pretende la inmunoterapia específica, resulta altamente conveniente definir el perfil de sensibilización tanto como se pueda. Una vez más, estamos hablando de diagnóstico basado en componentes individuales.

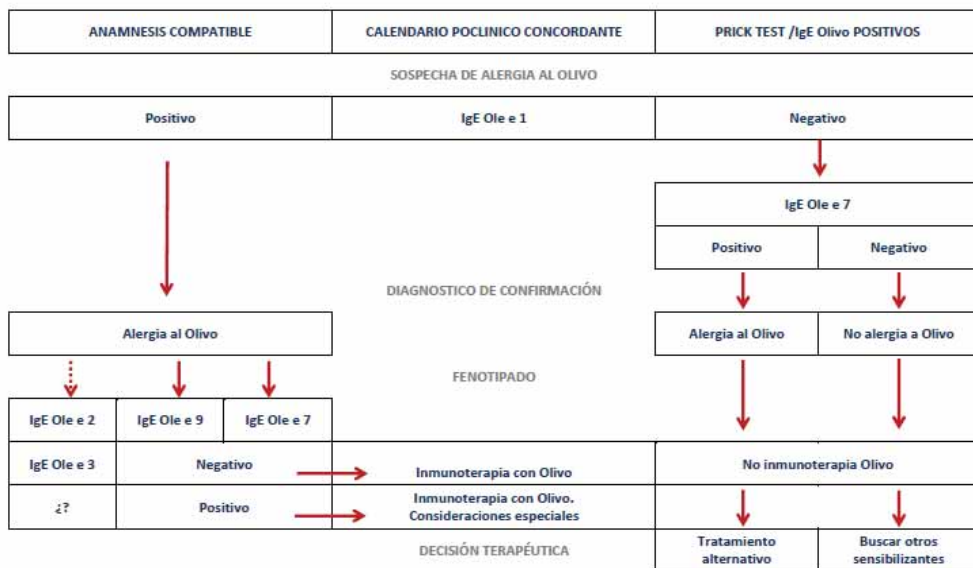
4.3.1. Ole e 9 no ha sido mencionado en el apartado anterior porque prácticamente siempre se asocia a Ole e 1 y por lo tanto tiene el mismo valor que éste como marcador de sensibilización genuina. Sin embargo representa una complicación para la inmunoterapia por la alta variabilidad de su contenido en los extractos de polen de Olivo (Duffort O, 2006) sumado al hecho de que no todas las vacunas comerciales controlan su contenido específicamente (web seaic). Es necesario saber si un paciente está o no sensibilizado antes de seleccionar un extracto de Olivo entre los disponibles para tratamiento, con el fin de garantizar la seguridad del paciente en los cambios de lote.

4.3.2. Los pacientes sensibilizados a Ole e 7 sin Ole e 1 presentan reacciones adversas sistémicas con la inmunoterapia por la especial intensidad de la respuesta alérgica asociada a las LTPs, y tienen muy pocas posibilidades de éxito con la vacunación, posiblemente por el bajo contenido de Ole e 7 en el polen de Olivo presente en los extractos. Como consecuencia, deberían quedar excluidos de este tipo de tratamiento.

4.3.3. Existe una diferencia en la magnitud de la respuesta a la inmunoterapia si el paciente es monosensible a Ole e 1 o si está sensibilizado a Ole e 1 + Ole e 9 / Ole e 7 (datos no publicados).

4.3.4. La profilina Ole e 2 parece tener escasa importancia en la polinosis de Olivo (cuando menos una importancia mucho menor a la que tiene en el caso de la polinosis de gramíneas) pero la polcalcina Ole e 3 parece constituir también un factor de gravedad y en la actualidad su contenido no está específicamente controlado en los extractos de inmunoterapia. Se necesitan más estudios para profundizar en el papel de Ole e 3 en el algoritmo diagnóstico de la enfermedad alérgica por Olivo.

La Figura 10 es un diagrama que describe el algoritmo diagnóstico de la alergia al Olivo.



5. Bibliografía

- VILLALBA, M. (2014). «The spectrum of olive pollen allergens from structures to diagnosis and treatment», *Methods* 66, pp. 44-54
- PALOMARES, O. (2008). «Airway disease and thaumatin-like protein in an olive-oli mill worker», *N Engl J Med* 358, pp. 1306-8
- QUIRALTE, J. (2002). «Olive allergen-specific IgE responses in patients with Olea europea pollinosis», *Allergy Suppl* 71, pp. 47-52
- GARCIA, B.E. (2011). «Oleaceae-induced polinosis in an área with exposure to olive and ash trees», *J Investig Allergol Clin Immunol* 21, pp. 34-7
- PALOMARES, O. (2006). «The major allergen of olive pollen Ole e 1 is a diagnostic marker for sensitization to Olleaceae», *Int Arch Allergy Immunol* 141, pp. 110-8
- BARBER, D. (2008). «Understanding patient sensitization in complex pollen áreas: a molecular epidemiological study», *Allergy* 63, pp. 1550-8
- TORDESILLAS, L. (2011). «Plant Lipid Transfer Protein Allergens: No cross-reactivity between those from foods and olive and parietaria pollen», *Int Arch Allergy Immunol*, 156, pp. 291-6

- 8) HUECAS, S. (2001). «Ole e 9, a major olive pollen allergen is a 1,3-beta-glucanase. Isolation, characterization, amino acid sequence and tissue specificity», J Biol Chem 276, pp. 27959-66
- 9) ASTURIAS, J.A. (1977). «Cloning and expression of the panallergen profilin and the major allergen (Ole e 1) from olive tree pollen», J Allergy Clin Immunol 100, pp. 35-72
- 10) LEDESMA, A. (1998). «Molecular cloning and expression of active Ole e 3, a major allergen from olive-tree pollen and member of a novel family of Ca²⁺-binding proteins (polcalcins) involved in allergy», Eur J Biochem 1, pp. 4544-9
- 11) AGUILERA, F. (2013). «Heat accumulation period in the mediterráneas región: phenological response of the olive in different climate areas (Spain, Italy and Tunisia) », Int J Biometeorol 49, pp. 184-8
- 12) GARCIA-MOZO, H. (2014). «Statistical approach to the analysis of olive long-term pollen season trends in southern Spain», Sci Total Environ 1, pp. 473-4
- 13) GALAN, C. (2013). «Airborne olive pollen counts are no representative of exposure to the major allergen Ole e 1», Allergy. 2013; 68: 809-12
- 14) RODRIGUEZ R, (2007). «Olive pollen recombinant allergens: value in diagnosis and immunotherapy», J Investig Allergol Clin Immunol 17, pp. 4-10
- 15) OROVITG, A. (2011). «Enhanced diagnosis of pollen allergy using specific immunoglobulin E determination to detect major allergens and panallergens», J Investig Allergol Clin Immunol 21, pp.253-9
- 16) LETRAN, A. (2013). «Measurement of IgE to pollen allergen components is helpful in selecting patients for immunotherapy», Ann Allergy Asthma Immune 111, pp. 295-7
- 17) DUFFORT, O. (2006). «Variability of Ole e 9 allergen in olive pollen extracts: relevance of minor allergens in immunotherapy treatments», Into Arch Allergy Immune. 2006; 140: 131-8
- 18) web seaic <http://www.seaic.org/inicio/guia-farmacoterapeutica> de inmunoterapia.