

1 Informació General

1.1 Identificació de l'estudi

Títol: ESTUDI SOBRE L'EFICACIA D'UNA DIETA BAIXA EN HISTAMINA I SUPLEMENTACIÓ AMB L'ENZIM DIAMINO OXIDASA EN PACIENTS AMB INTOLERÀNCIA A LA HISTAMINA

Códi o número d'identificació del protocol: (no és obligatori)

1.2 Identificació del promotor

Nom i direcció del promotor.

Sr. Juanjo Duelo Riu i el Sr. Carlos de Lecea Flores de Lemus, actuant en representació de DR Healthcare España, S.L.U.) amb domicili a Barcelona, carrer Escoles Pies, 49.

1.3 Identificació dels Investigadors Principals de l'estudi:

Dr. RAMON ESTRUCH RIBA, Departament de Medicina Interna, Hospital Clínic, Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Espanya. Tel. + 34-93- 2275745; FAX: + 34-93-2275758.

Dra. M.CARMEN VIDAL CAROU, Campus de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona, Avda. Prat de la Riba, 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet, Espanya. Tel. 93 4033786.

1.4 Identificació dels investigadors participant de l'Hospital Clínic i Laboratori CELLEX.

Dr. Ramon Estruch Riba, Departament de Medicina Interna, Hospital Clínic, Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Espanya. Tel. + 34-93- 2275745; FAX: + 34-93-2275758.

Dra. Rosa M^a CASAS, Facultat de Medicina. Laboratorios CELLEX. Laboratori de Medicina Interna. Planta 4B-Dpto. 4 C/Casanova 143. 08036-Barcelona. Telf. 932275400, Ext. 2907.

Dra. Sara Castro Barquero, Facultat de Medicina. Laboratorios CELLEX. Laboratori de Medicina Interna. Planta 4B-Dpto. 4 C/Casanova 143. 08036-Barcelona. Telf. 932275400, Ext. 2907.

Sra. Ana M^a Ruiz León, Facultat de Medicina. Laboratorios CELLEX. Laboratori de Medicina Interna. Planta 4B-Dpto. 4 C/Casanova 143. 08036-Barcelona. Telf. 932275400, Ext. 2907.

Sr. Francesc Casanovas, Facultat de Medicina. Laboratorios CELLEX. Laboratori de Medicina Interna. Planta 4B-Dpto. 4 C/Casanova 143. 08036-Barcelona. Telf. 932275400, Ext. 2907.

Dr. Joaquim Fernández Solà, Departament de Medicina Interna, Hospital Clínic, Villarroel, 170, 08036 Barcelona, España. Tel. + 34-93- 2275745; FAX: + 34-93-2275758.

Dr. Joan Bartra, Servicio de Neumología i Al·lèrgia Al·lèrgòloga, Hospital Clínic, Villarroel, 170, 08036 Barcelona, España. Tel. + 34-93- 2275745; FAX: + 34-93-2275758.

Dra. Rosa Maria Muñoz-Cano, Servicio de Neumologia i Al·lèrgia Al·lèrgòloga, Hospital Clínic, Villarroel, 170, 08036 Barcelona, España. Tel. + 34-93- 2275745; FAX: + 34-93-2275758.

Sra. Andrea Combalia, Metge Especialista en Dermatologia – Tricòloga, Hospital Clínic, Villarroel, 170, 08036 Barcelona, España. Tel. + 34-93- 2275745; FAX: + 34-93-2275758.

1.5. Identificació dels investigadors del grup de recerca Amines i Poliamines bioactives dels Aliments del Campus l'Alimentació de la Universitat de Barcelona.

Dra. M.Carmen Vidal Carou, Campus de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona, Avda. Prat de la Riba, 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet, Espanya. Tel. 93 4033786.

Dra. M.Teresa Veciana Nogués, Campus de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona, Avda. Prat de la Riba, 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet, Espanya. Tel. 93 4033791

Dra. Mariluz Latorre Moratalla, Campus de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona, Avda. Prat de la Riba, 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet, Espanya. Tel. 93 4033796

Dr. Oriol Comas-Basté, Campus de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona, Avda. Prat de la Riba, 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet, Espanya. Tel. 93 4020907

Sra. Sònia Sánchez Pérez, Campus de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona, Avda. Prat de la Riba, 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet, Espanya. Tel. 93 4020910

Sra. Adriana Duelo Martínez, Campus de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona, Avda. Prat de la Riba, 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet, Espanya. Tel. 93 4020910

Sra. Judit Costa Català, Campus de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona, Avda. Prat de la Riba, 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet, Espanya. Tel. 93 4020910

Sr. Ricard Celorio i Sardà, Campus de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona, Avda. Prat de la Riba, 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet, Espanya. Tel. 93 4020910

Sra. Irache Iduriaga Platero, Campus de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona, Avda. Prat de la Riba, 171, 08921, Santa Coloma de Gramenet, Espanya. Tel. 93 4020910

2 Antecedents

La intolerància a la histamina es deu a una incapacitat per metabolitzar la histamina de la dieta deguda principalment a una activitat reduïda de l'enzim diamino-oxidasa (DAO) a nivell intestinal, el que provoca un augment de la concentració plasmàtica d'aquesta amina i l'aparició dels símptomes clínics (1-4). La deficiència de DAO pot tenir un origen genètic o adquirit. Alguns estudis han identificat una menor activitat enzimàtica degut a diferents polimorfismes d'un nucleòtid simple (SNPs) en el gen que codifica l'enzim DAO (gen AOC1 del cromosoma 7) (5-7). Així mateix, el dèficit pot deure's a malalties inflamatòries de l'intestí, que limiten la secreció d'aquest enzim(1,5), o bé a l'acció de certs fàrmacs que poden causar una inhibició puntual i reversible de la seva activitat (acetilcisteïna, àcid clavulànic, metoclopramida, verapamil, isoniazida, etc.) (1,6).

Els efectes fisiològics de la histamina en l'organisme són múltiples i, per tant, també els símptomes derivats de la seva acumulació. Així, un excés d'histamina a l'organisme pot donar símptomes gastrointestinals (dolor abdominal, diarrea, vòmits, restrenyiment), dermatològics (urticària, dermatitis o pruit), respiratoris (esternuts, rinitis, congestió nasal i asma), cardiovasculars (hipotonia i arrítmies) i/o neurològics (cefalees). Així, molts pacients amb aquest trastorn presenten freqüentment més d'un d'aquests símptomes a la vegada (1,8-11).

A diferència de les intoxicacions histamíniques, que apareixen després del consum de productes amb quantitats molt elevades d'histamina, en les intoleràncies (persones amb dèficit de la DAO), la simptomatologia pot aparèixer fins i tot després de la ingesta de quantitats baixes en histamina, les quals serien ben tolerades per persones sense aquest dèficit (8,12). Conseqüentment, la principal estratègia per evitar o prevenir les manifestacions clíniques d'aquesta intolerància és l'exclusió de la dieta d'aliments que continguin histamina i/o la suplementació amb enzim DAO exogen que ajudaria a la metabolització d'aquesta amina a nivell intestinal (1,13,14).

En els aliments, la histamina y altres amines biògenes es formen principalment per la descarboxilació dels aminoàcids precursors per part d'enzims específics d'origen microbià. Els aliments susceptibles de contenir alts nivells d'histamina i altres amines son, per tant, aquells que es troben microbiològicament deteriorats i els productes fermentats (8,12). En aquest últim, la presència o absència d'histamina depèn, no sols de les condicions higièniques de les matèries primeres i/o processos d'elaboració, sinó també de la capacitat histaminogènica dels bacteris responsables de la fermentació (8,12). Així doncs, la presència i concentració d'histamina en aliments pot ser molt variable, fins i tot dins d'un mateix tipus de producte, ja que dependrà de la naturalesa de l'aliment, del tipus de microorganisme responsable de la seva formació i d'altres factors que influeixen en el creixement i l'activitat metabòlica microbiana. A part de la histamina, la presència d'altres amines bioactives o l'alcohol, que competeixen amb la histamina per ser metabolitzats per la DAO, poden ser responsables de l'aparició de la simptomatologia (1,8,9). També cal contemplar que certs aliments podrien tenir una capacitat per alliberar histamina endògena, encara que no és prou conegut el mecanisme pel que aquests aliments tenen aquest efecte (1,12-15). Per tant, el seguiment d'una dieta lliure o molt baixa en histamina és complexa, el que justifica l'ús de complements alimentosos amb enzim DAO com a estratègia complementaria al seguiment d'aquest tipus de dietes (14).

Actualment existeix una quinzena d'estudis sobre l'eficàcia de les dietes baixes en histamina en pacients amb símptomes típics d'intolerància a la histamina (6,16-29). Encara que alguns d'aquests estudis presenten certes limitacions, com ara un reduït nombre de pacients o de setmanes d'intervenció dietètica, tots ells demostren que el seguiment d'una dieta baixa en histamina condueix a una millora o reversió de la simptomatologia. A més, en alguns estudis, a més d'observar una millora dels símptomes, els pacients també van a mostrar un augment

significatiu de l'activitat DAO i/o una disminució de la histamina plasmàtica (17-19,23,27,28).

En els darrers anys també han aparegut estudis clínics enfocats a avaluar l'eficàcia de la suplementació amb DAO exògena com a possible estratègia per controlar els símptomes associats a la intolerància a la histamina per dèficit de DAO (24,29-32). L'administració enzim DAO va reduir de manera significativa els símptomes avaluats en cadascun dels diferents estudis. Com en el cas de les dietes baixes en histamina, el nombre d'estudis i el disseny dels mateixos és limitat, i cal dur a terme més treballs per extreure conclusions sobre la seva eficàcia en la millora dels símptomes.

2.1 Bibliografía relevante

1. Maintz L, Novak N. 2007. Histamine and histamine intolerance. Am J Clin Nutrition 85: 1185–1196.
2. Schwelberger HG. 2010. Imflamm. Res., 59:S219.
3. Comas-Basté O, Sánchez-Pérez S, Veciana-Nogués MT, Latorre-Morabella ML, Vidal-Carou MC. 2020. Histamine Intolerance: The Current State of Art. Biomolecules, 2020;19(8):1181.
4. Ayuso P, García-Martin E, Martinez C, Agundez JA. 2007 Genetic variability of human diamine oxidase: occurrence of three nonsynonymous polymorphisms and study of their effect on serum enzyme activity. Pharmacogenet Genomics 17:687-693.
5. García-Martín E, Martínez C, Serrador M, Alonso-Navarro H, Ayuso P, Navacerrada F, Agúndez JA, Jiménez-Jiménez FJ. 2015. Diamine oxidase rs10156191 and rs2052129 variants are associated with the risk for migraine. Headache 55:276-286.
6. Kaura s, Alib a, Siahbalaic y, Ahmadc u, Nargisc f, Pandeyd AK, Singh B. 2019. Association of Diamine oxidase (DAO) variants with the risk for migraine from North Indian population. Russian J Genetics 55(7):794-814.
7. Rosell-Camps A, Zibetti S, Perez-Esteban G, Vila-Vidal M, Ramis L, Garcia T. 2013. Histamine intolerance as a cause of chronic digestive complains in pediatric patiens. Rev Esp Enferm Dig 105: 201-207.
8. EFSA Panel on Biological Hazards. 2011. Scientific Opinion on Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. EFSA Journal 9:2393.
9. Kovacova-Hanuslava E, Buday T, Gavliakova S, Plevkova J. 2015. Histamine, histamine intoxication and intolerance. Allergol Immunopathol 43:498-506.
10. Comas-Basté O, Latorre-Moratalla ML, Bernacchia R, Veciana-Nogués MT, Vidal-Carou MC. 2017. New approach for the diagnosis of histamine intolerance based on the determination of histamine and methylhistamine in urine. J Pharm Biomed Anal. 145:379-385.
11. Jarisch R, Wantke F, Raithel M, Hemmer W. Histamine and biogenic amines. 2015. In: Jarisch R, editor. Histamine intolerance. Histamine and Seasickness. Heidelberg: Springer Verlag GmbH; p. 3–44.
12. Latorre-Moratalla ML, Comas-Baste O, Bover-Cid S, Vidal-Carou MC. 2017. Tyramine and histamine risk assessment related to consumption of dry fermented sausages by the Spanish

population. *Food Chem Toxicol*, 99:78-85.

13. Sánchez-Pérez S, Comas-Basté O, Rabell-González J, Veciana-Nogués MT, Latorre-Moratalla ML, Vidal-Carou MC. Biogenic amines in plant-origin foods: are they frequently underestimated in low-histamine diets? *Foods*. 2018.

14. Comas-Basté O, Latorre-Moratalla ML, Sánchez-Pérez S, Veciana-Nogués MT, Vidal-Carou MC. 2019. In vitro determination of diamine oxidase activity in food matrices by an enzymatic assay coupled to UHPLC-FL. *Anal Bioanal Chem* 411(28):7595-7602

15. Vlieg-Boerstra BJ, Van der Heide S, Oude JNG, Kluin-Nelemans JC, Dubois AEJ. 2005. Mastocytosis and adverse reactions to biogenic amines and histamine-releasing foods. What is the evidence?. *Neth J Med* 63:244-249.

16. Wantke F, Gotz M, Jarisch R. 1993. Histamine-free diet: treatment of choice for histamine-induced food intolerance and supporting treatment for chronic headaches. *Clin Exp Allergy* 23:982-5.

17. Guida B, De Martino CD, De Martino SD, Tritto G, Patella V, Trio R, D'Agostino C, Pecoraro P, D'Agostino L. 2000. Histamine plasma levels and elimination diet in chronic idiopathic urticaria. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54,155-8.

18. Steinbrecher I, Jarisch R. 2005. Histamin und Kopfschmerz. (Histamine and headache.) *Allergologie* 28:84-91.

19. Maintz L, Benfadal S, Allam JP, Hagemann T, Fimmers R, Novak N. 2006. Evidence for a reduced histamine degradation capacity in a subgroup of patients with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 117(5):1106-12

20. Park KP, . Ji HC, Chun WP, Cheol HL. 2008. A study of diet Restriction in Chronic Idiopathic Urticaria. *Korean J Dermatol*. 46 (9), 1155-1162.

21. Worm M, Fielder E, Döle AS, Schink T, Hemmer W, Jarisch R, Zuberbier T. 2009. Exogenous histamine Aggravates Eczema in a Subgroup of patients with atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 89:52-56.

22. Hoffmann M, Gruber E, Deutschmann A, Jahnel J, Hauer A. 2016. Histamine intolerance in children with chronic abdominal pain. *Arch Dis Child* 98:832-833.

23. Mušič E, Korošec P, Šilar M, Adamič K, Košnik M, Rijavec M. 2013. Serum diamine oxidase activity as a diagnostic test for histamine intolerance. *Wien Klin Wochenschr* 125:239-43

24. Manzotti G, Breda D, Gioacchino M, Burastero SE. 2015. Serum diamine oxidase activity in patients with histamine intolerance. *Int J Immunopath Ph* 1:7.

25. Wagner N, Dirk D, Peveling-Oberhag A, Reese I, Rady-Pizarro U, Mitzel H, Staubach P. 2016. A Popular myth – low-histamine diet improves chronic spontaneous urticaria – fact or fiction?. *European Academy of Dermatology and Venereology*.

26. Siebenhaar I, Melde A, Magerl T, Zuberier T, Church MK, Maurer M. 2016. Histamine intolerance in patients with chronic spontaneous urticaria *J Eur Acad Dermatol Venereol* 30:1774-1777.

27. Son JH, Chung A, Kim BY, Park CW. 2018. Histamine-Free Diet Is Helpful for Treatment of Adult Patients with Chronic Spontaneous Urticaria. *Ann Dermatol.* 30(2):164-172.
28. Lackner S, Malcher V, Enko D, Mangge H, Holasek SJ, Schnedl WJ. 2019. Histamine-reduced diet and increase of serum diamine oxidase correlating to diet compliance in histamine intolerance. *Eur J Clin Nutr.* 73(1):102-104
29. Yacoub MR, Ramirez GA, Berti A, Mercurio G, Breda D, Saporiti N, Burastero S, Dagna L, Colombo G. 2018. Diamine Oxidase Supplementation in Chronic Spontaneous Urticaria: A Randomized, Double-Blind Placebo-Controlled Study. *Int Arch Allergy Immunol*, 176:268–271.
30. Komericki P, Klein G, Reider N, Hawranek T, Strimtz T, Lang R, Kranzelbinder B, Aberer W. 2011. Histamine intolerance: lack of reproducibility of single symptoms by oral provocation with histamine: a randomised, double-blind, placebo-controlled cross-over study. *Wien Klin Wochenschr* 123:15-20.
31. Izquierdo-Casas J, Comas-Basté O, Latorre-Moratalla ML, Lorente-Gascón M, Duelo A, Soler-Singla L, Vidal-Carou MC. 2019. Diamine oxidase (DAO) supplement reduces headache in episodic migraine patients with DAO deficiency: A randomized double-blind trial. *Clin Nutr.* 38(1):152-158
32. Schnedl W, Schenk M, Lackner S, Enko D, Mangge H, Forster F. 2019. Diamine oxidase supplementation improves symptoms in patients with histamine intolerance. *Food Sci Biotech.* 28: 1779–1784.
33. Schnedl WJ, Lackner S, Enko D, Schenk M, Holasek SJ, Mangge H. Evaluation of symptoms and symptom combinations in histamine intolerance. *Intest Res.* 2019 Jul;17(3):427-433.
34. European Commission Commission Implementing Regulation (EU) 2017/2470 of 20 December 2017 establishing the Union list of novel foods in accordance with Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council on novel foods. *Off. J. Eur. Union* 2017, L 351, 72–201.

3 Hipòtesis de l'estudi

L'eficàcia d'una dieta baixa en histamina i dels suplementes de DAO s'ha demostrat en petits estudis clínics publicats en els últims anys, la majoria d'ells reportant resultats favorables quant a millora o remissió total dels símptomes. No obstant això, aquests estudis dietètics tenen certes limitacions, principalment en implicar un grup reduït de pacients i/o un període d'intervenció curt. Per tant, les estratègies actuals de gestió dietètica de la intolerància a la histamina encara requereixen de més assajos clínics controlats, aleatoris, doble cec i més ambiciosos i ben dissenyats per confirmar definitivament la seva eficàcia.

4 Objectiu i finalitat de l'estudi

Objectiu principal:

Estudiar l'eficàcia de la dieta baixa en histamina i/o la suplementació amb enzim DAO en el tractament de la simptomatologia associada a la intolerància a la histamina per dèficit de DAO.

Objectius secundaris:

- Estudiar la validesa de la determinació urinària dels metabòlits de la histamina com a biomarcador de la intolerància a la histamina.
- Estudiar el paper de la microbiota intestinal en la etiologia de la intolerància a la histamina.
- Estudiar la validesa dels polimorfismes de nucleòtids simples (SNP) com a marcadors genètics de la intolerància a la histamina per dèficit de DAO.

4.1 Variables principal i secundaries

Volem veure si hi ha una millora del símptomes associats a la intolerància a la histamina per dèficit de DAO. A més, volem:

- Estudiar la influència de la intervenció dietètica (dieta baixa en histamina i/o suplementació amb DAO) en el perfil metabolòmic urinari dels individus intolerants a la histamina.
- Avaluar si el seguiment d'una dieta baixa en histamina i/o la suplementació amb l'enzim DAO podria modificar el patró de microbiota intestinal dels individus intolerants a la histamina.
- Estimar la prevalença d'una deficiència genètica de DAO (presència de SNP) en la població amb símptomes associats a la intolerància a la histamina. A més, s'avaluarà la freqüència de les quatre diferents variants genètiques (SNP) relacionades amb una disminució de l'activitat DAO

5 Procediment de l'estudi

5.1. Disseny de l'estudi

Estudi Prospectiu, Unicèntric, a Doble Cec, Aleatoritzat i Controlat amb Placebo.

El dia 1 de l'estudi el metge de l'estudi practicarà una valoració clínica i analítica dels participants per seleccionar els candidats. Els que compleixin els criteris d'inclusió, i cap d'exclusió, hauran de signar el consentiment informat per entrar a l'estudi. Els voluntaris que signin seran assignats de manera aleatòria a un dels vuit grups d'intervenció:

- Placebo + dieta mediterrània (n=50)

- Placebo + Dieta baixa en histamina (n=50)

- Suplement DAO porcí + dieta mediterrània (n=50)
- Suplement DAO porcí + Dieta baixa en histamina (n=50)
- Suplement DAO vegetal + dieta mediterrània (n=50)
- Suplement DAO vegetal + Dieta baixa en histamina (n=50)
- Suplement DAO vegetal en dosis altes + dieta mediterrània (n=50)
- Suplement DAO vegetal en dosis altes + Dieta baixa en histamina (n=50)

Les intervencions duraran un període de tres mesos, i després seran revalorats per l'equip mèdic per valorar el grau d'eficàcia de la intervenció administrada.

5.2. Àmbit de l'estudi

L'estudi d'intervenció es realitzarà al Servei de Medicina Interna, Hospital Clínic, dins de l'Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer (IDIBAPS) de Barcelona. Les determinacions analítiques es duran a terme a:

- a) Laboratori de Medicina Interna de la Fundació Clínic, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona.
- b) Laboratori del grup de recerca Amines i Poliamines Bioactives dels Aliments, Campus de l'Alimentació, Universitat de Barcelona.
- c) Laboratorios Echevarne: Anàlisi genètic i d'activitat DAO

5.3. Aspectes ètics

Aquest protocol d'estudi ha estat aprovat pel Comitè d'Ètica i Investigació de la Universitat de Barcelona i per Comitè d'Ètica de l'Hospital Clínic de Barcelona. Tots els participants hauran de signar voluntàriament el consentiment informat. Durant el període de l'estudi, abans i després de cada intervenció es passarà als participants un qüestionari per detectar possibles efectes adversos de la intervenció administrada, tot i que, segons la nostra experiència en altres estudis, la dosi i el tipus d'aliment a administrar no solen donar lloc a cap efecte advers rellevant. Així mateix, en el full de consentiment s'inclourà el nom i telèfon del facultatiu responsable de l'assaig per contactar en cas de que el participant presenti algun símptoma que pogués estar relacionat amb alguna de les intervencions rebudes.

L'estudi es desenvoluparà d'acord amb el protocol i procediments normalitzats de treballs (PNTs) que assegurin el compliment de les normes de Bona Pràctica Clínica (BPC), tal com es descriuen a les Normas Tripartitas Harmonizadas de la ICH para Buena Práctica Clínica 1996.

Full d'informació i formulari de consentiment

L'investigador haurà d'explicar a cada participant (o representant legalment autoritzat) la naturalesa de l'estudi, objectius, procediments, duració estimada, riscos i beneficis potencials derivats de la seva participació en l'estudi, així com qualsevol inconvenient que aquest pugui donar. Tots els participants han de ser avisats que la seva participació en l'estudi és voluntària i que podrà abandonar-lo en qualsevol moment, sense que això afecti al seu tractament mèdic posterior, ni a la seva relació amb el metge que el tracta.

El participant ha de tenir temps suficient per llegir i entendre les explicacions del full d'informació als participants, abans de datar i signar el formulari de consentiment informat, i es quedarà una còpia del document signat. Cap participant podrà entrar a l'estudi sense haver signat el consentiment informat.

5.4. Intervenció

S'assignarà de manera aleatòria i mitjançant una taula de números aleatoris generada per ordinador, un total de 400 pacients dividits en 8 grups de tractament (50 individus per grup):

- **GRUP PLACEBO:** 50 participants rebran un mini-comprimet gastroresistent (placebo) i seguiran una dieta estil mediterrani (3 cops/dia, 20 min abans de cada àpat)
- **GRUP DIETA:** 50 participants rebran un mini-comprimet gastroresistent (placebo) 3 cops/dia (20 min abans de cada àpat) i seguiran una dieta baixa en histamina
- **SUPLEMENT DAO PORCÍ + DIETA MEDITERRÀNIA:** 50 participants rebran un mini-comprimet gastroresistent amb l'enzim DAO animal (4,2mg) 3 cops/dia (20 min abans de cada àpat) i seguiran una dieta estil mediterrani
- **SUPLEMENT DAO PORCÍ + DIETA BAIXA EN HISTAMINA:** 50 participants rebran un mini-comprimet gastroresistent amb l'enzim DAO animal (4,2mg) 3 cops/dia (20 min abans de cada àpat) i seguiran una dieta baixa en histamina
- **SUPLEMENT DAO VEGETAL + DIETA MEDITERRÀNIA:** 50 participants rebran un mini-comprimet gastroresistent amb l'enzim DAO vegetal (4,2mg) 3 cops/dia (20 min abans de cada àpat) i seguiran una dieta estil mediterrani
- **SUPLEMENT DAO VEGETAL + DIETA BAIXA EN HISTAMINA:** 50 participants rebran un mini-comprimet gastroresistent amb l'enzim DAO vegetal (4,2mg) 3 cops/dia (20 min abans de cada àpat) i seguiran una dieta baixa en histamina
- **SUPLEMENT DAO VEGETAL A DOSI ALTA + DIETA MEDITERRÀNIA:** 50 participants rebran un mini-comprimet gastroresistent amb l'enzim DAO vegetal en dosi alta (8,4 mg) 3 cops/dia (20 min abans de cada àpat) i seguiran una estil mediterrani

- **SUPLEMENT DAO VEGETAL A DOSI ALTA + DIETA BAIXA EN HISTAMINA:** 50 participants rebran un mini-comprimet gastroresistent amb l'enzim DAO dosi alta (8,4 mg) 3 cops/dia (20 min abans de cada àpat) i seguiran una dieta baixa en histamina

La combinació d'aquests grups permetrà:

- La comparació dels grups PLACEBO i DAO ens permetrà determinar l'efecte de la suplementació amb DAO en la reducció de la simptomatologia.
- La comparació dels grups PLACEBO i DIETA ens permetrà determinar l'efecte de la dieta en la reducció de la simptomatologia.
- La comparació dels grups DAO i DAO-DIETA ens permetrà determinar l'efecte sinèrgic entre dieta i suplementació DAO.
- La comparació dels grups DAO i DIETA ens permetrà determinar l'efecte dels dos tractaments de forma separada.
- La comparació dels grups DAO PORCÍ i DAO VEGETAL ens permetrà determinar quin dels dos tipus de DAO és més efectiu.
- La comparació dels grups DAO VEGETAL i DAO VEGETAL A DOSI ALTA ens permetrà determinar quina de les dues dosis és més efectiva.

La **dieta baixa en histamina** es basarà en l'exclusió de certs aliments que poden contenir histamina o altres amines i que es relacionen amb l'aparició de la simptomatologia (Annex 2) i s'acompanyarà de consells nutricionals

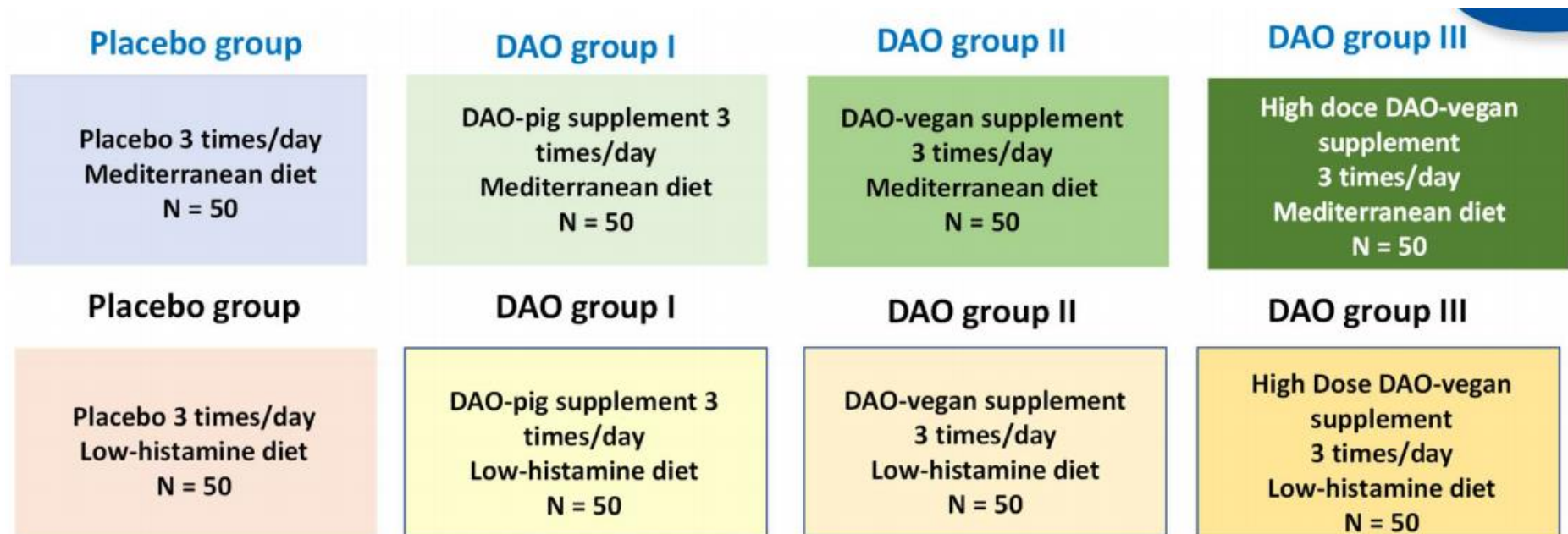
Per mantenir el disseny de doble cec de l'estudi, tots els pacients hauran de prendre diàriament 3 còpsules. Així, l'administració dels productes seran com segueix:

DAO porcí (4,2 mg) un mini-comprimet al dia	3 mini-comprimetsDAO porcí Pot
DAO vegetal (4,2 mg) mini-comprimet al dia	3 mini-comprimetsDAO vegetal 4,2 mg Pot
DAO vegetal (8,4 mg) mini-comprimet al dia	3 mini-comprimetsDAO vegetal 8,4 mg Pot
Placebo	3 mini-comprimetsPlacebo Pot

Tots els pots seran idèntics. La única informació disponible serà la data d'expiració del producte, lot del producte i una etiqueta blanca (codi del producte) que indicarà una lletra de l'A a la D, sent cada lletra un tipus de producte a prendre. Els IPs de l'estudi seran les úniques persones que sàpiguin a què correspon cada lletra (DAO animal 4,2 mg, DAO vegetal 4,2 mg, DAO vegetal 8,4 mg o placebo). Aquesta informació es guardarà com a informació sensible i es requerirà sempre clau d'accés.

Cada participant rebrà 3 pots amb 100 comprimits cadascun. Es requereixen 90 mini-comprimits per mes d'intervenció. (no obstant, es posa un 10% més per cobrir possibles incidències).

Esquema dels 8 grups de tractament:



Complement d'Enzim DAO a administrar

L'enzim DAO d'origen porcí és un complement alimentari autoritzat i regulat per la Comissió Europea segons la legislació de Novel Food de l'any 2017³⁴. Per tant, no és un medicament. La dosi unitària conté 4,2 mg d'extracte proteic de ronyó porcí (l'ingredient que conté l'enzim en aproximadament un 7%) formulat gastroresistent. La posologia és 1 dosi unitària 20 minuts abans de cada àpat (3 cops al dia) d'acord amb les indicacions del fabricant.

En el cas de la DAO vegetal, aquesta no es comercialitza però disposem de tots els informes de seguretat que adjuntem per la seva valoració. Es tracta d'un extracte de germinat de pèsol (7% d'enzim aproximadament) formulat gastroresistent. Els comprimits de DAO vegetal contenen 4,2 mg (dosi baixa) i 8,4 mg (dosi alta), aquest s'administrarà 3 cops al dia, 1 dosi unitària 20 minuts abans de cada àpat.

6 Selecció dels participants

Els participants elegibles seran pacients atesos als serveis d'Al·lèrgies, Digestiu i Dermatologia de l'Hospital Clínic de Barcelona que compleixin els criteris d'inclusió i no compleixin els d'exclusió. El qüestionari d'Inclusió/Exclusió serà proporcionat per un metge de l'equip investigador. Només si compleix els criteris d'inclusió i cap d'exclusió, se'l convidarà a participar en l'estudi d'intervenció i se li sol·licitarà que signi el consentiment.

6.1 Criteris d'inclusió dels subjectes

- Adults majors de 18 anys
- Història recent de dos o més símptomes associats a la intolerància a la histamina (cefalees, dermatològics, respiratoris i digestius) (veure Annex 1).
- Presenti alterada l'activitat de l'enzim DAO plasmàtica i/o presenti alguna de les variants genètiques pròpies del dèficit de DAO:
 - Variants de tipus SNP associades a nivells reduïts d'activitat DAO (frotis mucosa bucal o sang)
 - rs10156191
 - rs1049742
 - rs1049793
 - rs2052129
- No haver començat un tractament dietètic (dieta baixa en histamina /suplementació amb enzim DAO) abans de començar l'estudi.

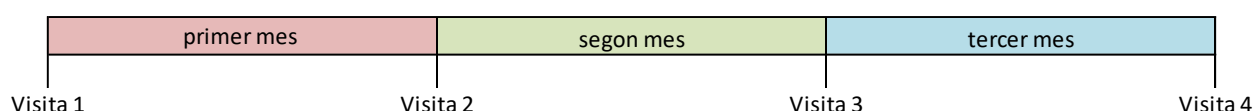
6.2 Criteris de exclusió dels subjectes

- Al·lèrgies alimentàries i/o ambientals.

- Haver pres tractament farmacològic amb antibiòtics o complements de probiòtics en el darrer mes abans de l'estudi.
- Estar embarassada

7 y Protocol i calendari de l'estudi

El temps de l'estudi serà de tres anys, incloent-hi tot el temps entre la redacció i adaptació del protocol fins al tancament de l'estudi amb entrega de l'informe final. El temps de tractament serà de tres mesos.



Visita 0: Selecció de pacients

Els voluntaris que presentin dos o més símptomes associats a la intolerància a la histamina (cefalees, dermatològics, respiratoris i digestius), se'ls hi proposarà una analítica per comprovar si l'activitat de l'enzim DAO es troba alterada o no, i es prendrà una mostra sanguinària per fer-li estudi genètic.

En aquesta primera visita, abans de l'inici de l'estudi, el temps estimat és de 30 minuts.

Estudi genètic i activitat de la DAO

El temps estimat per fer aquesta prova és de 15 minuts. El participant haurà de venir en dejú (10 hores mínim de dejú).

Visita 1 (basal): Abans inici Intervenció

A tots els participants se'ls hi farà una història clínica completa, on es recolliran totes les dades referents a consum d'alcohol, tabaquisme i hàbits dietètics. També es determinarà l'IMC i la pressió arterial i la freqüència de pols amb un aparell electrònic Omron HEM-705CP (Països Baixos). La pressió arterial es prendrà després de 10 minuts de repòs, tres vegades en cada braç amb un interval de 3 minuts i anotant posteriorment el valor mitjà de les tres. Es practicarà una exploració física completa i se'ls extraurà sang i recollirà orina de primera hora del matí (després d'un mínim de 10 hores de dejuni) per als anàlisis hematològics i bioquímics bàsics a més dels metabòlits de la histamina en orina. També es recolliran les femtes per estudi de la microbiota intestinal.

A cada voluntari se li entregarà:

- Tractament segons grup: DAO porcina, DAO vegetal, DAO vegetal dosi alta o placebo
- Quadern de recollida d'informació (QRI): Valoració de símptomes, qualitat de vida i qüestionari dietètic
- Recomanacions dietètiques:
 - a) dieta baixa en histamina
 - b) dieta estandarditzada d'estil mediterrani

En aquesta segona visita, el temps estimat és de 1 hora.

Per tant, les **variables d'estudi** que es recolliran en aquesta primera visita seran:

- Valoració de símptomes i qualitat de vida mitjançant els següents qüestionaris validats:
 - Símptomes gastrointestinals (Criteris Roma IV, Bristol Stool Scale, Índex de Calidad de Vida Gastrointestinal (GIQLI))
 - Cefalees/mal de cap (Quality of life Questionnaire: escala MIDAS i HIT-6)
 - Símptomes respiratoris (SNT0-22 o PNIF, Cuestionario de calidad de vida para pacientes con rinoconjuntivitis (RQLQ).
 - Símptomes dermatològics (Índex SCORAD, Itch Severity Scale (ISS), Quality of Life Questionnaire DLQI / QoLIAD)
 - Qualitat de vida (SF-3616)
- Qüestionari dietètic (Registre setmanal i qüestionari de freqüència de consum de 150 ítems- FFQ)
- Paràmetres Bioquímics de l'estudi: Activitat DAO / Histamina / Triptasa / Eosinòfils / Basòfils / TSH / Coure / Zinc
- Paràmetres d'estudi de seguretat: Hemograma, Bioquímica de sang (glucèmia, HbA1c, funció renal i hepàtica, ionograma, perfil lipídic, valoració nutricional, Proteïna C-reactiva e interleukina 6) i orina (examen bàsic) – proteïnúria i sediment).
- Marcadors metabòlics en orina (histamina, metilhistamina, àcid imidazol acètic, àcid metil-imidazol acètic).
- Microbiota intestinal (Seqüenciació masiva dels gens 16S rRNA bacterià, regions v3-v4)

Visita 2 i 3: un i 2 mesos de l'inici del tractament

Durant, les visites 2 i 3 (visites control) de seguiment del tractament es tornaran a determinar l'IMC i la pressió arterial i la freqüència de pols. Novament, es realitzarà recollida de qüestionaris i mostres biològiques (sang, orina i femtes) per a la determinació de les variables d'estudi.

Les **variables d'estudi** que es recolliran en aquesta segona i tercera visita seran:

- Valoració de símptomes i qualitat de vida (veure visita 1)
- Qüestionari dietètic (Registre setmanal)
- Paràmetres Bioquímics: Histamina / Triptasa / Eosinòfils / Basòfils / TSH / Coure / Zinc
- Paràmetres de seguretat (veure visita 1)
- Marcadors metabòlics en orina (histamina, metilhistamina, àcid imidazol acètic, àcid metil-imidazol acètic).

En aquesta tercera visita, el temps estimat és de 30 minuts. El participant haurà de venir en dejú (10 hores mínim de dejú).

Visita 4: Als 3 mesos de l'inici del tractament (Fi d'estudi)

L'última visita (**visita 4**) es correspon amb la fi de la intervenció i de l'estudi.

Les **variables d'estudi** que es recolliran en aquesta quarta visita seran:

- Valoració de símptomes i qualitat de vida (veure visita 1)
- Qüestionari dietètic (Registre setmanal, FFQ)
- Paràmetres Bioquímics de l'Estudi: Activitat DAO / Histamina / Triptasa / Eosinòfils / Basòfils / TSH / Coure / Zinc
- Paràmetres de Seguretat (veure visita 1)
- Marcadors metabòlics en orina (histamina, metilhistamina, àcid imidazol acètic, àcid metil-imidazol acètic).
- Microbiota intestinal (Seqüenciació massiva dels gens 16S rRNA bacterià, regions v3-v4)

En aquesta tercera visita, el temps estimat és de 60 minuts. El participant haurà de venir en dejú (10 hores mínim de dejú).

7.1. Protocol de seguiment de la intervenció

Trucades telefòniques setmanals

Tots els participants rebran una trucada telefònica setmanal recordant el seguiment de l'estudi i valoració de l'aparició de possibles efectes secundaris.

El temps estimat al telèfon serà 5 minuts.

8 Estadística

8.1 Mida de la mostra

La variable principal de l'estudi a partir de la qual s'ha calculat la mida de la mostra és el nombre mitjà de símptomes observats en persones diagnosticades de dèficit de DAO (33). Basant-nos en el valor mitjà de 11.1 símptomes i una desviació estàndard de 4.8, trobem que per un risc alfa de 0.05 i un risc beta de 0.2 en un contrast bilateral, es necessiten un mínim de 42 participants per grup, si volem detectar un mínim de 3 símptomes. S'ha estimat una taxa de pèrdues de seguiment del 10%. Per tant, cada grup d'intervenció inclourà 50 individus. Tenint en compte que el disseny de l'estudi inclou 8 grups d'intervenció, el nombre total de participants a incloure és de 400. Segons la nostra experiència això implica la realització d'unes 600 entrevistes.

8.2 Anàlisi estadístic

Els resultats s'inclouran en una base de dades permanent i interactiva, que s'analitzarà amb el paquet estadístic SPSS 20.0 per a Windows. Les altres variables a estudiar són qualitat de vida, activitat DAO, concentració d'histamina, nivells d' eosinòfils, basòfils, tirotròpina (TSH), coure, zinc, marcadors metabòlics en orina i microbiota intestinal. Per a l'anàlisi descriptiu s'utilitzarà la mitjana i desviació estàndard de les variables. Com que la majoria d'anàlisis es mesuren dues o més vegades, per a les anàlisis estadístiques s'utilitzarà la mitjana de totes les determinacions realitzades. Per a les variables que no segueixin una distribució normal, es transformaran als seus logaritmes naturals per fer la seva anàlisi. Les diferències intragrups s'analitzaran mitjançant la prova de la "T" de Student per a mostres aparellades. Les diferències entre els grups d'intervenció s'analitzaran mitjançant anàlisi de la covariància amb el valor inicial com a covariable. També s'aplicarà una anàlisi multivariat ajustada per edat, sexe i paràmetres clínics que hagin presentat diferències basals significatives entre els grups. Com anàlisi posthoc es farà servir el test de Bonferroni. Les diferències s'expressaran com a mitjana (intervalls de confiança del 95%).

9 Ética y aspectos legales Ètica i aspectes legals

Aquest estudi haurà de ser aprovat per la Comissió de Recerca de l'Hospital Clínic de Barcelona, que vela per la qualitat científica dels projectes de recerca que es duen a terme en el centre. Aquest estudi haurà de ser aprovat també pel Comitè Ètic i Recerca Clínica de l'Hospital Clínic de Barcelona que vigila perquè la recerca que es fa amb persones es faci d'acord amb la declaració d'Hèlsinki (versió en vigor; actualment Fortaleza, Brasil, octubre 2013) i aplicant la normativa legal vigent sobre recerca biomèdica (Llei 14/2007, de 3 de Juliol de recerca biomèdica).

Tots els participants hauran de signar voluntàriament el consentiment informat. Durant el període de l'estudi, abans i després de cada intervenció es passarà als participants un qüestionari per a detectar possibles efectes adversos de la intervenció, encara que, segons la nostra experiència en altres estudis d'intervenció dietètica, no solen donar lloc a cap efecte advers rellevant.

10. Gestió de dades

Los datos de salud utilizados en este estudio estarán codificados. No se guardarán los datos

identificativos de ningún paciente (Nombre, Apellidos, Iniciales, DNI, Número de historia clínica, CIP, dirección postal o dirección de correo electrónico). A cada paciente se le asignará un código. En otra base de datos separada, el Investigador principal guardará la relación entre cada código y el número de historia clínica del paciente.

La base de datos a utilizar se encontrará será de acceso restringido y bajo contraseña, teniendo acceso solo los investigadores principales y los miembros colaboradores del equipo de investigación. La base de datos se almacenará en una unidad segura del grupo (Unidad F). El responsable de la custodia de esta base de datos será la Dra. Rosa M. Casas. En ningún caso, los datos serán almacenados en una nube tipo Google drive. La base de datos permanecerá guardada y custodiada en nuestro centro. En caso de tener que ceder algún tipo de dato siempre se hará de manera totalmente codificada y utilizando siempre la herramienta compartir: <https://compartir.clinic.cat/storagecloud/index.php/login>.

11 Tratamiento de los Datos y Archivo de los Registros. Confidencialidad de los datos.

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los participantes se ajustará al cumplimiento del Reglamento UE 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 relativo a la protección de las personas físicas en cuanto al tratamiento de datos personales y la libre circulación de datos, y a la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. La base legal que justifica el tratamiento de sus datos es el consentimiento que da en este acto, conforme a lo establecido en el artículo 9 del Reglamento UE 2016/679 .

Los datos recogidos para estos estudios se recogerán identificados únicamente mediante un código, por lo que no se incluirá ningún tipo de información que permita identificar a los participantes. Sólo el médico del estudio y sus colaboradores con derecho de acceso a los datos fuente (historia clínica), podrán relacionar los datos recogidos en el estudio con la historia clínica del paciente.

La identidad de los participantes no estará al alcance de ninguna otra persona a excepción de una urgencia médica o requerimiento legal.

Podrán tener acceso a la información personal identificada, las autoridades sanitarias, el Comité de Ética de Investigación y personal autorizado por el promotor del estudio, cuando sea necesario para comprobar datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de acuerdo a la legislación vigente.

Sólo se cederán a terceros y a otros países los datos codificados, que en ningún caso contendrán información que pueda identificar al participante directamente (como nombre y apellidos, iniciales, dirección, número de la seguridad social, etc.). En el supuesto de que se produjera esta cesión, sería para la misma finalidad del estudio descrito y garantizando la confidencialidad.

Si se realizara una transferencia de datos codificados fuera de la UE, ya sea en entidades relacionadas con el centro hospitalario donde participa el paciente, a prestadores de servicios o a investigadores que colaboren con nosotros, los datos de los participantes quedarán protegidos

por salvaguardas como contratos u otros mecanismos establecidos por las autoridades de protección de datos.

Como promotores del proyecto nos comprometemos a realizar el tratamiento de los datos de acuerdo al Reglamento UE 2016/679 y, por tanto, a mantener un registro de las actividades de tratamiento que llevemos a cabo y a realizar una valoración de riesgos de los tratamientos que realizamos, para saber qué medidas tendremos que aplicar y cómo hacerlo.

Además de los derechos que ya contemplaba la legislación anterior (acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, supresión en el nuevo Reglamento) ahora los participantes también pueden limitar el tratamiento de datos recogidos para el proyecto que sean incorrectos, solicitar una copia o que se trasladen a un tercero (portabilidad). Para ejercitar estos derechos deberán dirigirse al investigador principal del estudio o al Delegado de Protección de Datos del Hospital Clínic de Barcelona a través de protecciodades@clinic.cat. Así mismo tienen derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no quedara satisfecho/a.

Los datos no se pueden eliminar aunque un paciente abandone el estudio, para garantizar la validez de la investigación y cumplir con los deberes legales y los requisitos de autorización de medicamentos.

El Investigador y el Promotor están obligados a conservar los datos recogidos para el estudio al menos hasta 20 años tras su finalización. Posteriormente, la información personal solo se conservará por el centro para el cuidado de su salud y por el promotor para otros fines de investigación científica si el paciente hubiera otorgado su consentimiento para ello, y si así lo permite la ley y requisitos éticos aplicables.

11 Gestió de mostres biològiques

La participació en aquest estudi comporta l'obtenció de mostres:

- orina per a la determinació de marcadors metabolòmics en orina (histamina, metilhistamina, àcid imidazol acètic, àcid metil-imidazol acètic), així com per a la determinació de proteïnúria i sediment (examen bàsic d'orina).
- Femta: per a la determinació de la microbiota intestinal
- Plasma i sèrum: per a la determinació de l'activitat DAO i altres paràmetres bioquímics importants.

De conformitat amb el que estableix la Llei 14/2007 de recerca biomèdica i el Reial decret 1716/2011 pel qual es regula la utilització de mostres biològiques en recerca, en signar aquest document vostè accepta que s'utilitzin les mostres que s'obtingran per a les finalitats del present estudi, amb l'objectiu d'estudiar l'eficàcia de la dieta baixa en histamina i / o la suplementació amb enzim DAO en el tractament de la simptomatologia associada a la intolerància a la histamina per dèficit de DAO.

L'accés a les mostres només podrà realitzar-se sota la conformitat de l'investigador que tingui assignada la responsabilitat de custodiar-les sota document signat. Qualsevol anàlisi o cessió de mostres a tercers es realitzarà sota l'acceptació, mitjançant document escrit, de l'investigador

responsable de custodiar les mostres, podent-se obtenir tota la informació del voluntari exceptuant qualsevol dada que pogués identificar-lo. Si el participant revoca el seu consentiment a l'ús de les mostres biològiques que d'ell s'hagin derivat, aquestes seran destruïdes. Les mostres es mantindran emmagatzemades en els laboratoris IDIBAPS (Planta 4B-Dpto. 4) i del Campus de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona fins a la seva utilització per als objectius d'aquest estudi. Una vegada finalitzat, les mostres sobrants seran destruïdes.

S'utilitzarà un codi per a identificar la seva mostra i no s'utilitzarà cap dada seva que pugui revelar la seva identitat. Únicament el metge de l'estudi i els seus col·laboradors podran relacionar la mostra amb vostè.

Les dades que es deriven de la utilització d'aquestes mostres es tractaran de la mateixa manera que la resta de dades que s'obtinguin durant aquest estudi.

La cessió de mostres biològiques per a aquest estudi és gratuïta i voluntària. Això suposa que vostè no tindrà drets sobre possibles beneficis comercials dels descobriments que poguessin derivar-se del resultat de la recerca biomèdica.

Si s'obtingués informació rellevant que pogués afectar la salut del participants o a la dels seus familiars, se'ls hi notificarà. En cas que fos necessari contactar amb ells, s'utilitzarien les dades que consten en la seva història clínica. No obstant això, es respectarà el seu dret a decidir que no se li comuniquin aquests, per al que es pot marcar la casella que es troba en el formulari de consentiment.

Així mateix, en cas que es realitzin anàlisis genètiques no se li comunicarà ni al participant ni al seu metge els resultats que s'obtinguessin, encara que el participant té dret a sol·licitar-los dirigint-se al metge de l'estudi. En tractar-se d'estudis de recerca exploratoris, no es proporcionarà informació útil ni es podrà utilitzar per a guiar el tractament ni per a diagnòstic del participant.

12 Financiació

Concepto	Total	H. Clínic	UB
Personal			
Tit. Superior: Enfermera 1/3 jornada (10.000 € x 3 años)	30.000,00	30.000,00	
Médico/Dietista-Nutricionista 1/2 jornada (12.000 € x 3 años)	36.000,00	36.000,00	
Contrato de investigación pre-doctoral (30.000 € x 3 años)	90.000,00		90.000,00
Dietas adaptadas al personal con déficit de DAO en función del grupo asignado: Trípticos, recetas individualizadas y lista de la compra por temporada y consejos nutricionales			
Documentación visita basal x 400	1.200,00	1.200,00	
Documentación visita seguimiento x 400	1.200,00	1.200,00	
Valoración nutricional			
. Lectura del registro de consumo de frecuencia de alimentos basal x 400	670,00	670,00	
. Lectura del registro de consumo de frecuencia de alimentos final x 400	670,00	670,00	
. Valoración e interpretación de los registros semanales basal, seguimiento y final x 1200 (400*3)	2.500,00	2.500,00	
Data managment (elaboración de base de datos para exportación datos, verificación datos-validación datos, resolución queries)	3.000,00	3.000,00	
Determinaciones analíticas			
Determinación de perfil de salud x 800 (análisis bioquímicos pacientes)	19.650,00	19.650,00	
DAO REA Kit (600 basal & 400 final)			
Análisis microbiota (200 basal y 200 final)	28.000,00		28.000,00
Determinación de polimorfismos asociados (600 basal; incluido transporte Madrid)	15.000,00		15.000,00
Determinación metabolitos de la histamina en orina (400* 4 puntos de muestreo)	25.000,00		25.000,00
Otros			
Asesoría estadística	2.000,00	1.000,00	1.000,00
Costes de publicación, viajes, congresos y dietas	30.000,00	15.000,00	15.000,00
Responsabilidad Civil derivada de la realización del estudio	15.250,00	15.250,00	
investigación clínica del producto.	300.140,00	126.140,00	174.000,00
Dirección científica (10%)	30.014,00	12.614,00	17.400,00
TOTAL GASTOS DIRECTOS	330.154,00	138.754,00	191.400,00
Overhead (18%)	72.472,83	30.458,20	42.014,63
TOTAL	402.626,83	169.212,20	233.414,63
COSTE ANUAL	134.208,94		

Faltaria afegir la pòlissa de responsabilitat civil: 12.600 eur/any

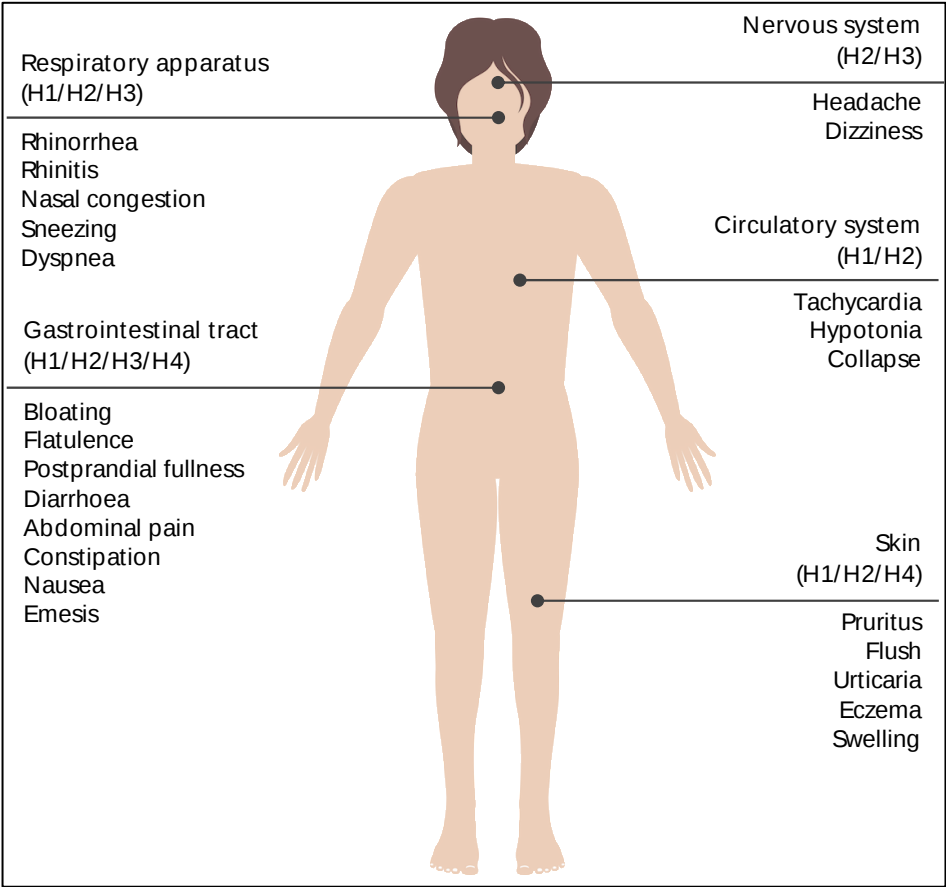
14 Política de Publicació

Després de la finalització de l'Estudi, es preveu la publicació dels resultats tant si fossin positius com si fossin negatius. Quan una de les parts vulgui utilitzar els resultats parcials o finals, en part o totalment, per a difondre'ls i/o publicar-los com a article, conferència, etc., haurà de sol·licitar la conformitat de l'altra part per escrit. Aquesta haurà de comunicar l'autorització o manifestar el seu desacord o reserva per escrit en un termini màxim de vint (20) dies naturals. Transcorregut aquest termini sense resposta, s'entendrà l'autorització per a la difusió dels resultats.

15 Annexos

ANNEX 1

Principals símptomes de la intolerància a la histamina³



ANNEX 2

DIETA BAJA EN HISTAMINA
TABLA DE ALIMENTOS EXCLUIDOS Y PERMITIDOS

ALIMENTOS	ALIMENTOS EXCLUIDOS	ALIMENTOS PERMITIDOS
CEREALES Y TUBÉRCULOS	-	Arroz, avena, espelta, maíz, mijo, quinoa, trigo, trigo sarraceno, boniato, patata, yuca, etc.
FRUTAS Y FRUTOS SECOS	Fresas y frutos rojos, papaya, aguacate, cítricos (naranja, pomelo, mandarina, limón, kiwi, piña), plátano, ciruelas, frutos secos (nuez, cacahuete, almendra, anacardos, avellana),	Albaricoque, cerezas, granada, higo, mango, manzana, melocotón, melón, pera, uva, sandía, piñones, etc.
VERDURAS Y HORTALIZAS	Encurtidos vegetales (ej. chucrut, aceitunas), calabacín, calabaza, espinacas, berenjena, tomate.	Acelga, alcachofa, brócoli, cebolla, hinojo, judías verdes, espárrago, lechuga, pimiento, remolacha, zanahoria, etc.
LÁCTEOS, DERIVADOS Y SUSTITUTOS	Quesos curados, semicurados y rallados, leche y yogures	Quesos frescos, bebidas vegetales, producto fermentado a base de soja u otros vegetales ("yogurt" vegetal)
LEGUMBRES Y DERIVADOS	Sufu, Tempeh	Alubias, frijoles, garbanzos, lentejas, soja, etc.
PESCADO	Marisco, conservas o semiconservas de pescado (atún en lata, anchoas, sardinas o caballa en conserva, boquerones en vinagre, salmón ahumado, etc)	Pescado blanco o azul, sepia, calmar, pulpo etc, frescos o congelados*
HUEVO	Clara	Yema
CARNE Y AVES	Embutidos (fuet, chorizo, longaniza...), vísceras (hígado, foie, riñón, etc)	Carne fresca o congelada*, jamón o lomo curado, jamón o pavo cocido, mortadela, Frankfurt, etc
BEBIDAS	Zumo de naranja, zumo de tomate, bebidas alcohólicas (cava, vino, cerveza, sidra, destilados), te	Agua, infusiones, café, etc
GRASAS	-	Aceite de oliva y semillas, crema de sésamo tostado (tahin), mantequilla y margarina
CONDIMENTOS	Vinagre, salsa de soja, salsa de tomate	Orégano, albahaca, cúrcuma, jengibre, menta, sal, azúcar, miel y edulcorantes

OTROS	Chocolate, mermelada de cítricos, productos de pastelería y bollería que contenga alimentos excluidos	Algarroba, compotas y sorbetes de frutas aptas, semillas de chía y lino, de girasol y calabaza
-------	---	--

*Será importante asegurar que tanto el pescado como la carne sean muy frescos en el momento de su compra. De lo contrario será preferible comprarlos directamente congelados.

Bibliografía; Sanchez-Perez, S., Comas-Basté, O., Veciana-Nogués, MT., Latorre-Moratalla, ML., Vidal-Carou, MC. 2021. Low-histamine diets: Is the exclusion of Foods justified by their histamine content?. *Nutrients*, 13, 1395.