

# TEST DE ACTIVACIÓN DE BASÓFILOS (TAB )/TEST DE DEGRANULACIÓN DE BASÓFILOS (TDBH)

1. **El dosaje de la histamina liberada por basófilos desafiados con el alérgeno** (Test de liberación de histamina). Mide la cantidad de histamina liberada in vitro cuando se añade un extracto alérgico en distintas concentraciones a la sangre del paciente alérgico, de utilidad limitada en la práctica clínica, se emplea en investigación.
2. **La medición de la cantidad de cisteinil-leucotrienos secretados por basófilos enfrentados con el alérgeno** (Test de liberación de leucotrienos – Cellular Antigen Stimulation Test - CAST)
3. **El recuento, observado por microscopía óptica, de basófilos que han perdido sus gránulos luego de la exposición con el alérgeno**, (test de degranulación de basófilos humanos - TDBH).
4. **La medición, por citometría de flujo, del aumento en la expresión de marcadores de activación en la membrana de basófilos luego de incubarlos con el alérgeno.** CD193 o CD203c, CD63.TAB

# TEST DE ACTIVACION DE BASOFILOS (TAB)

La activación de los basófilos por mecanismos dependientes de la IgE evaluando la expresión de CD63 en la membrana de las células de individuos sensibles después de ser estimuladas con el alérgeno específico

El CD63 se encuentra en la membrana de los gránulos internos de los basófilos en reposo de individuos normales y alérgicos.

Cuando son activados por entrecruzamiento del Fc RI, se desencadenan una serie de eventos  $\epsilon$  que llevan a la degranulación.

La membrana de los gránulos se fusiona con la membrana plasmática quedando el CD63 expresado en la superficie.

## BIOMARCADORES DE BASOFILOS

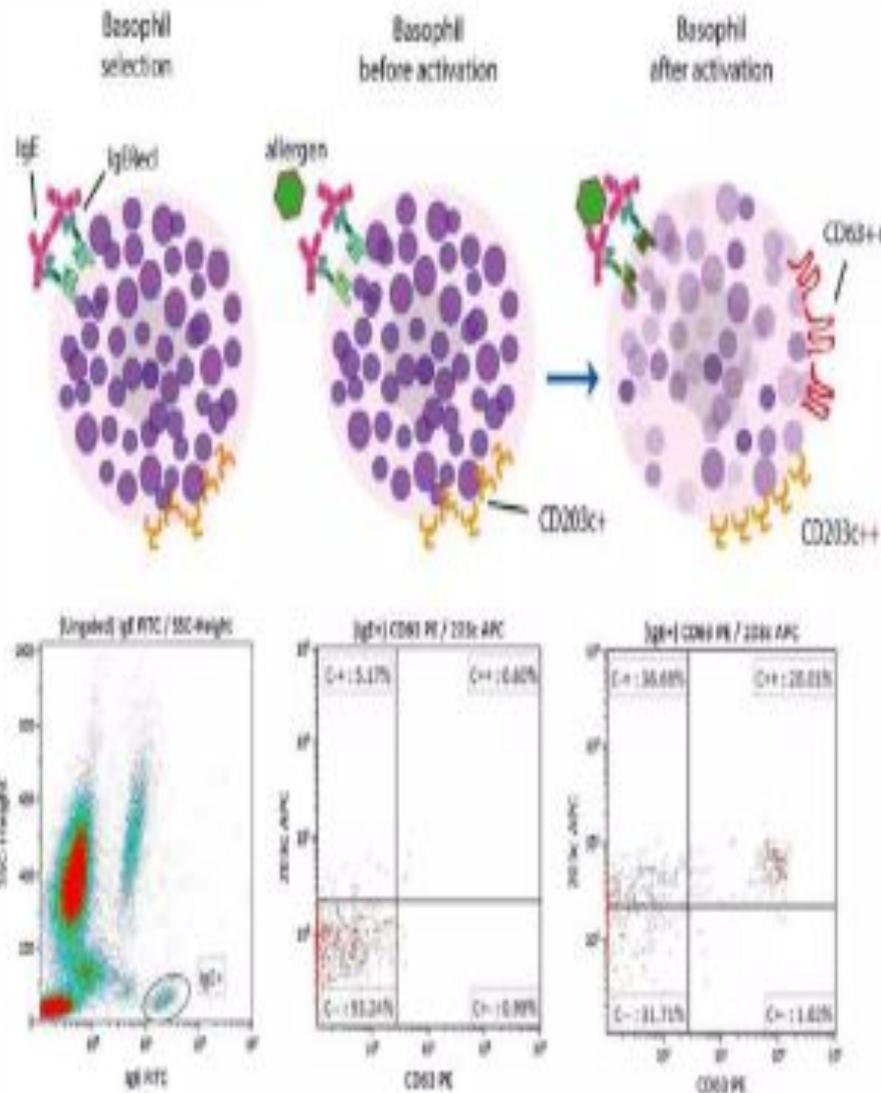
### CD63

- Es una proteína granular tetraespan de 53 Kda
- Está anclada en los gránulos de la membrana de los basófilos
- Por CM se detecta Anti CD63 PE y anti IgE FITC

### CD203c

- Es un Ag de superficie, expresado en basófilos humanos recientemente reconocida por el Acm 97A6
- Es una ectoenzima multifuncional llamada pirofosfatasa ectonucleotidasa 3 (E-NPP3)

# TEST DE ACTIVACION DE BASOFILOS



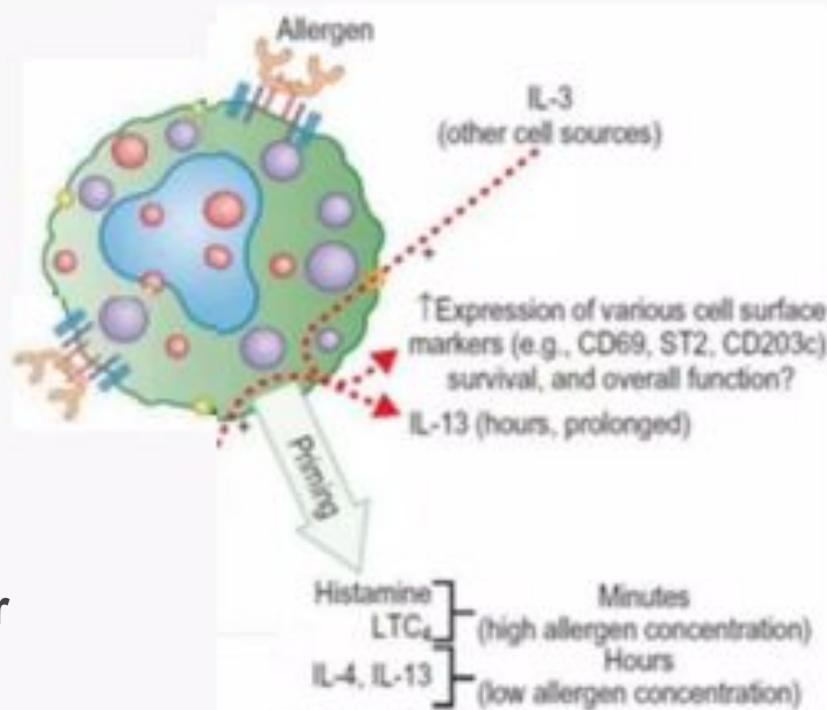
BAT se ha convertido en una Herramienta ampliamente utilizada de actividad alérgica.

Comparado con la determinación de IgE en suero.

BAT refleja una **Respuesta Funcional** como activación basófilo puede ser inducido por la reticulación de FcεRI, con la unión de IgE al alérgeno. Comparando BAT con la liberación de histamina basófila.

# BASOFILOS

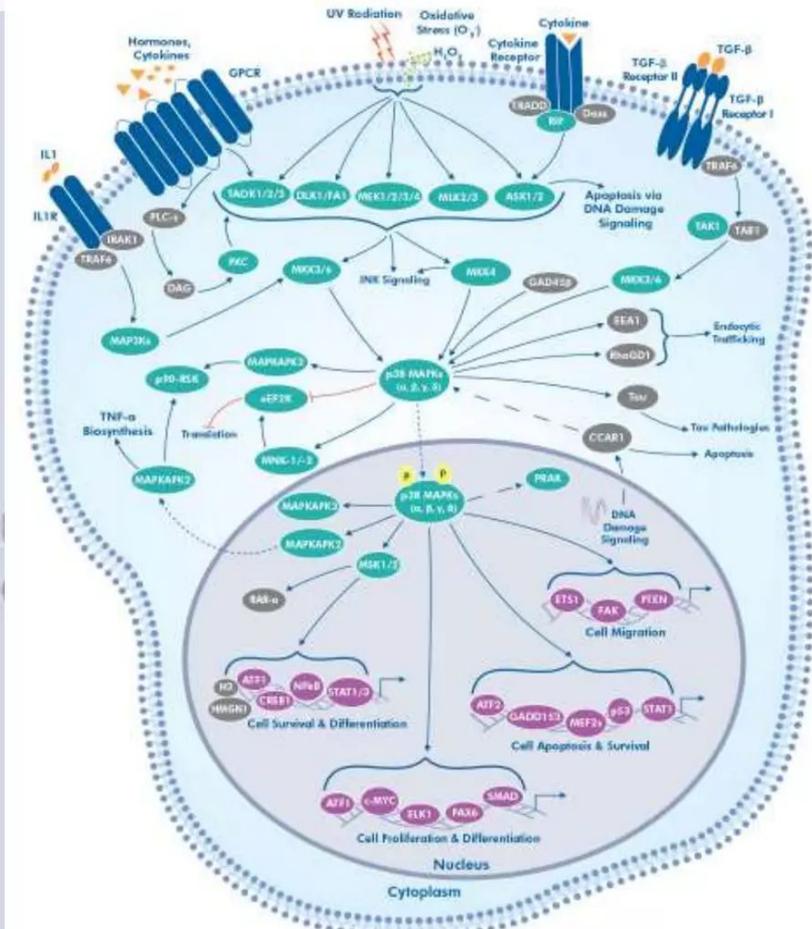
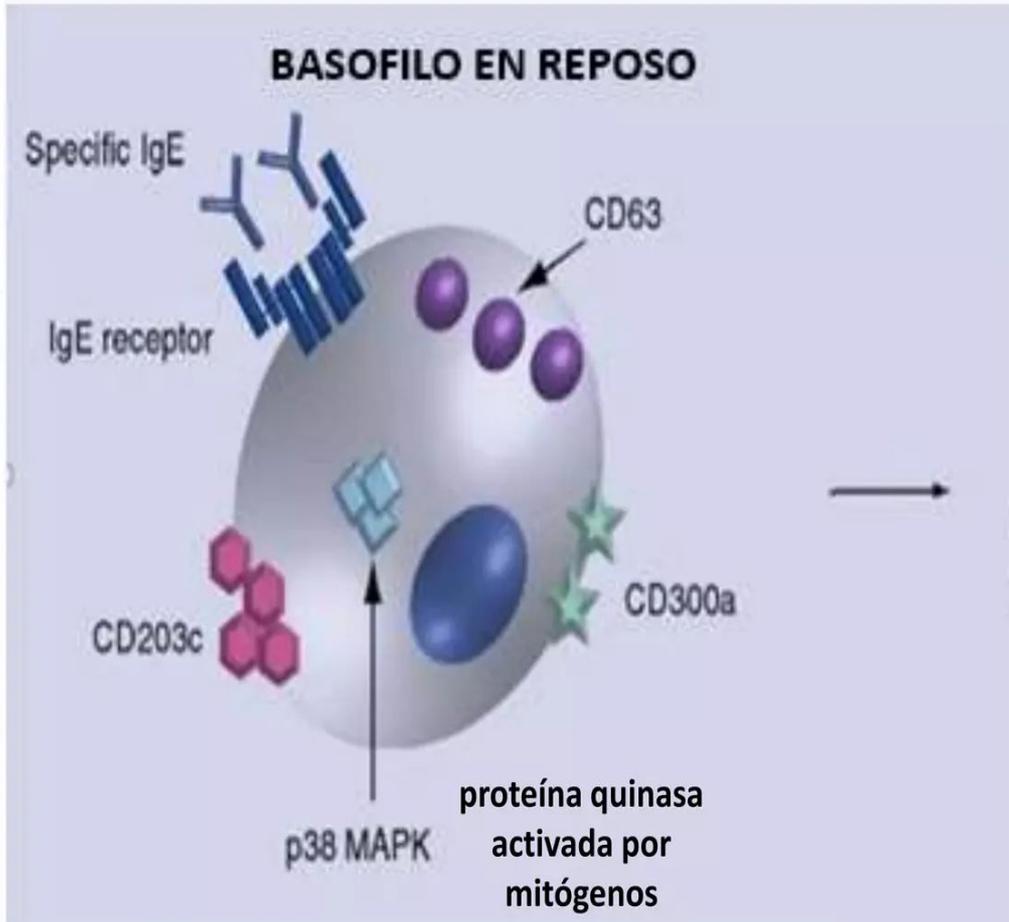
Receptor de alta afinidad de IgE



Demuestra la función de la IgE en su capacidad para inducir la activación de las células efectoras después de la estimulación con el alérgeno.

CD63 se almacena dentro de los gránulos que contienen histamina en los basófilos y se expone en la membrana plasmática después de la degranulación cuando los gránulos se fusionan con el plasma membrana

## BIOMARCADORES DE BASOFILOS



# TEST DE ACTIVACIÓN DE BASÓFILOS (TAB)

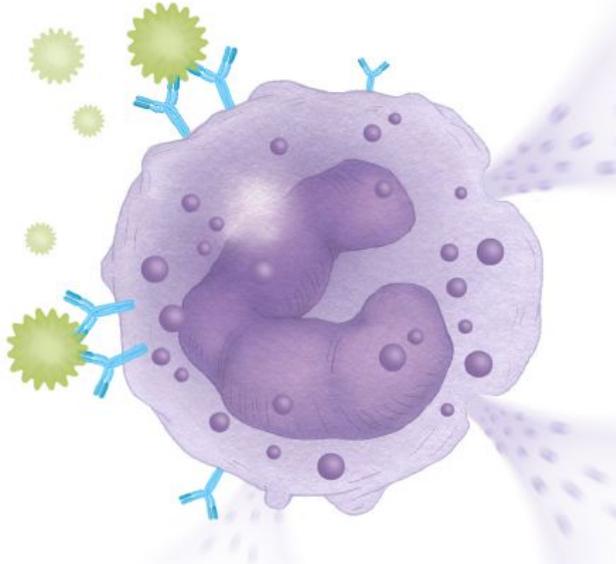
Los **basófilos** se identifican mediante conjugación con fluorocromo.

La activación es medido usando anticuerpos dirigidos contra **CD63** (esta en lo granulos y migra a la membrana cuando hay activación ) o **CD203c8** ( esta en la membrana y aumenta con la activación ).

Anticuerpos dirigidos a CD193, CD203c, IgE o CD123/ HLA-DR, consiguiéndose una mayor precisión con la combinación de dos o más anticuerpos.

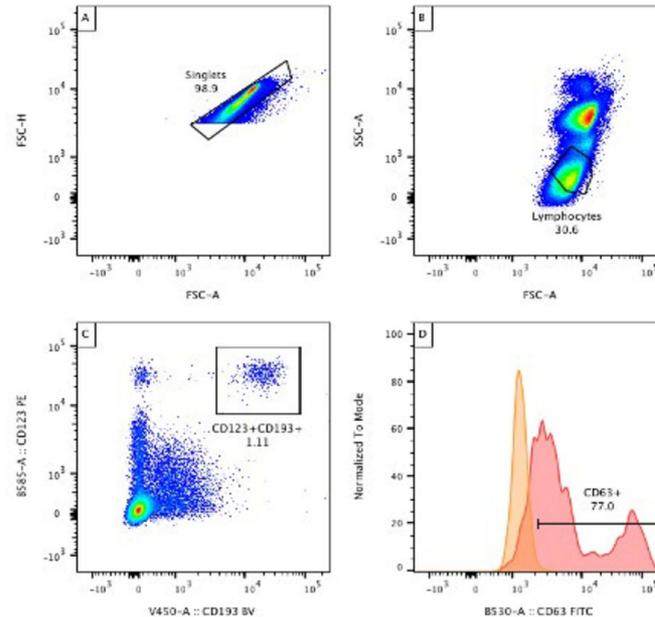
Hay otros marcadores que están al alza y regulado negativamente en basófilos activados, como CD107a y diaminoxidasa (DAO)

# TEST DE ACTIVACIÓN DE BASÓFILOS (TAB)



La sangre, los alérgenos y los anticuerpos se pueden combinar y calentar a 37°C durante entre 15 y 45 minutos en un baño de agua

Después de eso, la muestra debe ser hemolizada y analizada por citometría de flujo.



## TEST DE ACTIVACION DE BASOFILOS (TAB)

Prueba in vitro para el diagnóstico de hipersensibilidad .

- Dermatophagoides pteronyssinus, latex, relajantes musculares, veneno , polen, antibióticos  $\beta$ -lactámicos
- Estudiar la presencia de autoanticuerpos anti-IgE o anti- Fc $\epsilon$ RI en pacientes con Urticaria Crónica.

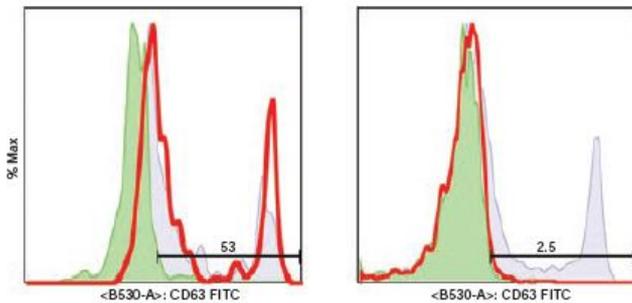


Fig. 1 Activación de basófilos en diagnóstico clínico de alergia al apio. Paciente (izquierda) con controles negativo (verde) y positivo (azul), y la respuesta al alérgeno en rojo es reactiva. A la derecha se muestra un control tolerante. (datos no publicados)

Estos anticuerpos pueden activar los basófilos de manera directa

**Urticaria crónica espontánea (UCE)** se producen anticuerpos dirigidos contra la IgE o contra el receptor de alta afinidad para IgE (Fc $\epsilon$ RI), que está presente en la superficie de los mastocitos y basófilos.

# VENTAJAS DEL TAB

1. **Alta especificidad en el diagnóstico:** S 85% -100% y E 83% - 100% de acuerdo al alérgeno utilizado

En alergia a **alimentos** y **venenos**

2. **Seguridad de los pacientes:** No requiere exposición in vivo al alérgeno.
3. **Variedad de estimulantes:** Muchas drogas y los alérgenos ocupacionales
4. **Reproducibilidad:** La prueba de basófilos es reproducible coeficientes de variación entre 0.89% a 5%.
5. **Equipo simple:** BAT se puede realizar en cualquier flujo citómetro requiere un número limitado de colores.



# LIMITACIONES DEL TAB

1. **Requiere sangre fresca** :dentro de las **24 horas posteriores** a la extracción de sangre/ hasta a 48 horas, pero los resultados pueden ser **falsos negativos**.

Un enfoque alternativo es activar, etiquetar, lisar y fijar basófilos en el sitio clínico, y analizarlos citometría de flujo. **lo ideal a las 4 horas** ;

2. **No respondedores**: entre el 10% y el 15% de los sujetos (es decir, basófilos que no responden al alérgeno o el control positivo mediado por IgE pero sólo al control sin IgE control positivo mediado) y sus resultados no pueden ser interpretado.

3. **El ensayo manual requiere mucho tiempo práctico.**

4. **Subjetividad de los análisis de datos.**

## TEST DE ACTIVACION DE BASOFILOS (TAB)

Se usa cuando la historia del paciente y la IgE específica o los tests cutáneos son discordantes

Cuando no hay una IgE específica o una prueba cutánea confiable

Historia del paciente indica que la prueba cutánea puede provocar una respuesta sistémica.

# CONDICIONES PREVIAS

- Los antihistamínicos, entre otros (antidepresivos tricíclicos, corticoides, etc.), pueden modificar TAB y TDBH, inhibiendo la activación de las células en respuesta al alérgeno
- Suspendir el tratamiento antes de realizar las pruebas in vitro, puesto que podrían obtenerse resultados **falsamente negativos**.
  
- Los antihistamínicos **no influyen en las pruebas serológicas** por lo que no es necesaria su suspensión para la realización de estos análisis sanguíneos.

# TEST DE ACTIVACIÓN DE BASÓFILOS (TAB)

Tratamiento con **ibrutinib** reduce la activación de basófilos (un inhibidor de la tirosina quinasa de Bruton (BTK), puede reducir la activación de basófilos al interferir con la señalización intracelular necesaria para su activación y degranulación) y los **esteroides orales** puede inducir basopenia

Se necesitan entre 50 y 100  $\mu$ l de sangre.

Los alérgenos se añaden ya sea 1/10 del volumen de sangre utilizado, o en una proporción igual volumen en función del método

**Evaluación de área bajo la curva, sensibilidad, especificidad y porcentaje de correctamente clasificados de los diferentes test frente a la prueba de provocación**

	Curva ROC	Error Estándar	IC 95%	Sensibilidad	Especificidad	Correctamente clasificados
Test de activación de basófilos	0.88	0.13	0.63 - 1.00	75.0%	100.0%	95.0%
Reacción intradérmica	0.69	0.15	0.39 - 0.98	50.0%	87.5%	80.0%
Prick test	0.59	0.13	0.34 - 0.85	25.0%	93.8%	80.0%

## TEST DE ACTIVACION DE BASOFILOS (TAB)

Los basófilos pueden ser activados también por **mecanismos independientes de la IgE.**

La estimulación se produce después del contacto de receptores en la superficie de las células con su ligando.

### REACCIONES ANAFILACTOIDEAS.

Muchas drogas inducen hipersensibilidad por mecanismos anafilactoideos.

No hay descrito por el momento un marcador de activación común para detectar este tipo de reacciones

**En las reacciones anafilactoideas la utilidad diagnóstica de estas técnicas es insuficiente**

## TEST DE ACTIVACION DE BASOFILOS (TAB)



- 1-El compuesto reactivo no sea la droga en sí misma sino uno de sus derivados metabólicos .**
- 2. No exista una forma hidrosoluble de la droga disponible para ser incubada con los basófilos.**
- 3. El fármaco no actúe en forma directa en basófilos**  
active el sistema de complemento o el sistema de quininas-bradiquinina plasmáticos que luego activen basófilo
- 4. La reactividad disminuya con el paso del tiempo,** desde que el paciente experimentó la reacción adversa hasta el momento del análisis.

# TEST DE DEGRANULACIÓN DE BASÓFILOS HUMANOS (TDBH)

Microscopía óptica puede seguirse gracias a la desaparición de la tinción metacromática de sus gránulos citoplasmáticos.

La exactitud de esta técnica depende de lograr una buena purificación de estas células, que constituyen menos del 1 % de los leucocitos de sangre

A partir de una muestra de sangre venosa heparinizada, se separa la capa de células mononucleares (donde quedan también los basófilos) por centrifugación en un gradiente de Ficoll-Hypaque.

Las células se lavan con PBS.

# TDBH POR MICROSCOPIA

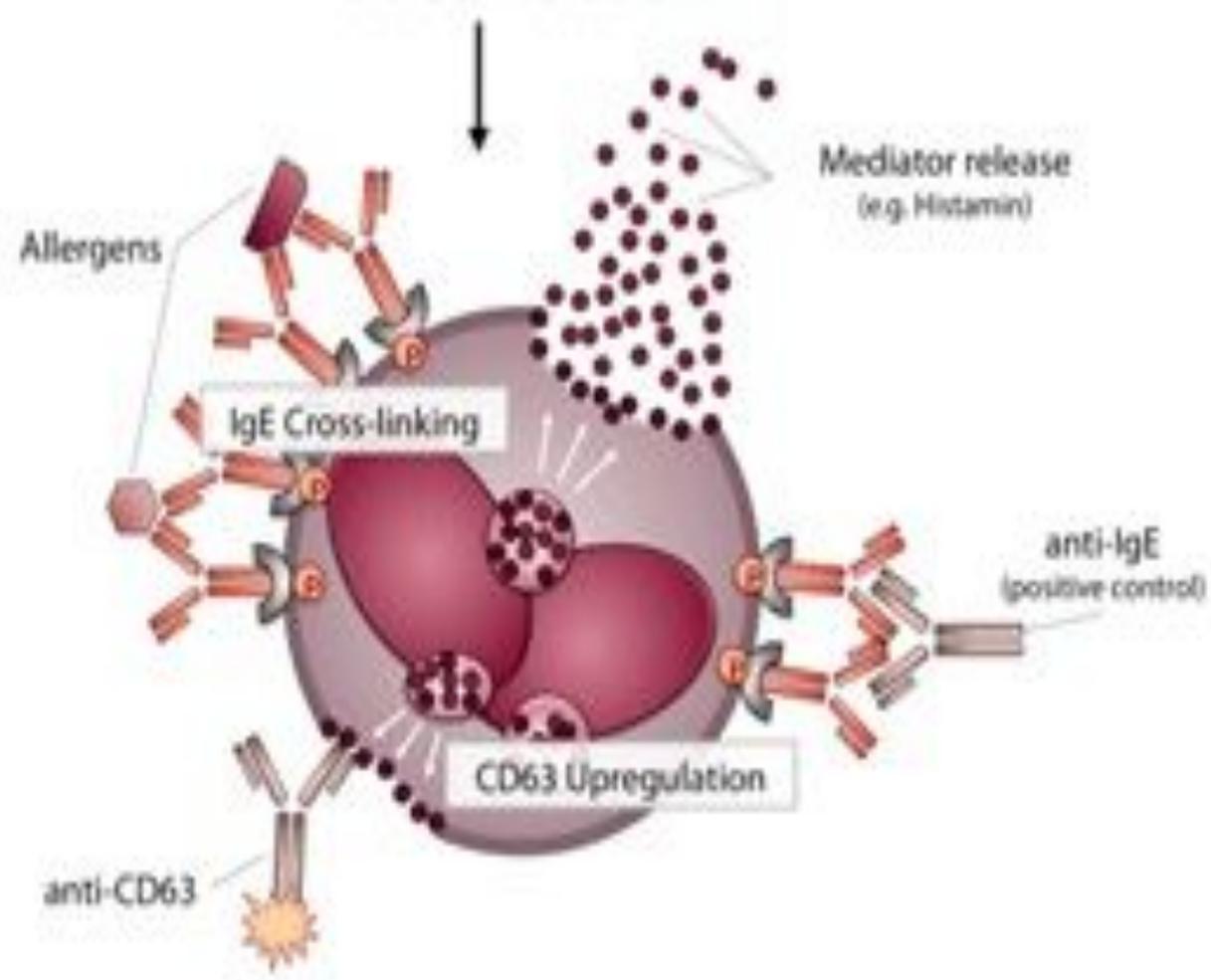
Se extrae una muestra de sangre del paciente y se aísla la fracción que contiene basófilos. Se debe procesar dentro de las 24 horas .

Los basófilos se exponen al fármaco (droga pura ) sospechoso en un medio controlado.

Si el paciente es alérgico o tiene hipersensibilidad al estímulo, los basófilos se activan, sufren cambios morfológicos y liberan los gránulos que contienen mediadores .

Los cambios morfológicos típicos de los basófilos activados, como la pérdida de gránulos intracelulares, pueden observarse con **microscopía óptica**.

# *in vitro* Stimulation



# TEST DE DEGRANULACIÓN DE BASÓFILOS HUMANOS (TDBH)

Alícuotas de de la suspensión celular se incuban con de PBS (control negativo), con el alérgeno o de la droga a ensayar, y con fMLP como estimulante inespecífico (control positivo).

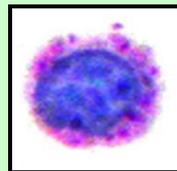
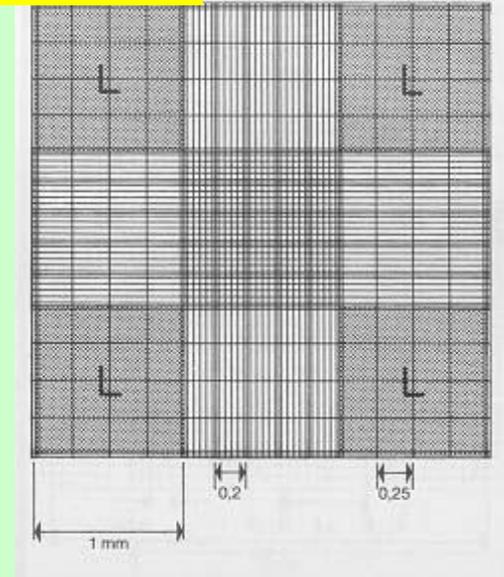
Se realiza la coloración metacromática

## Test de Degranulación de Basófilos Humanos (TDBH)

*Puesta a punto de la técnica original en nuestra la UAAIC:*

✓ Se emplean cámaras de Neubauer en vez del hemocitómetro.

Se cuentan por lo menos 50 basófilos en el control negativo.



El porcentaje de degranulación se obtiene aplicando un cálculo. Como criterio de positividad consideramos un porcentaje de degranulación superior a dos desvíos estándar de la media obtenida en individuos no alérgicos.

# TEST DE DEGRANULACIÓN DE BASÓFILOS HUMANOS (TDBH)

● **Hipersensibilidad a fármacos:**  
cuando las pruebas cutáneas no son viables o están contraindicadas

● **Evaluación de reacciones pseudoalérgicas:**  
detectar reacciones no mediadas por IgE, (AINEs, opioides), donde los basófilos se activan directamente por mecanismos no inmunológicos.

● **Alternativa a las pruebas cutáneas:** Es una herramienta clave para pacientes que no pueden someterse a pruebas cutáneas

# LIMITACIONES DEL TDBH POR MICROSCOPIA

**Requiere habilidades técnicas:** La interpretación de los resultados bajo microscopía requiere experiencia en la identificación de los basófilos y sus cambios morfológicos.

**Menos cuantitativo:** no proporciona una cuantificación exacta de la cantidad de basófilos

**Sensibilidad variable:** La sensibilidad del test puede depender del tipo de fármaco utilizado, y de la capacidad de los basófilos de activarse y liberar gránulos en el momento de la prueba.

## TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOBLÁSTICA (TTL)

- Incubar la sangre entera con el fármaco in vitro y por citometría de flujo el porcentaje de linfocitos CD69+ luego de la estimulación, comparando con células control no estimuladas, valorando si se produce una respuesta inmunológica que explique o confirme la reacción alérgica que presenta el paciente.
- Durante períodos prolongados de tiempo (desde 48 horas hasta 7 días).
- Se debe realizar de forma relativamente inmediata tras la extracción de la muestra de sangre.

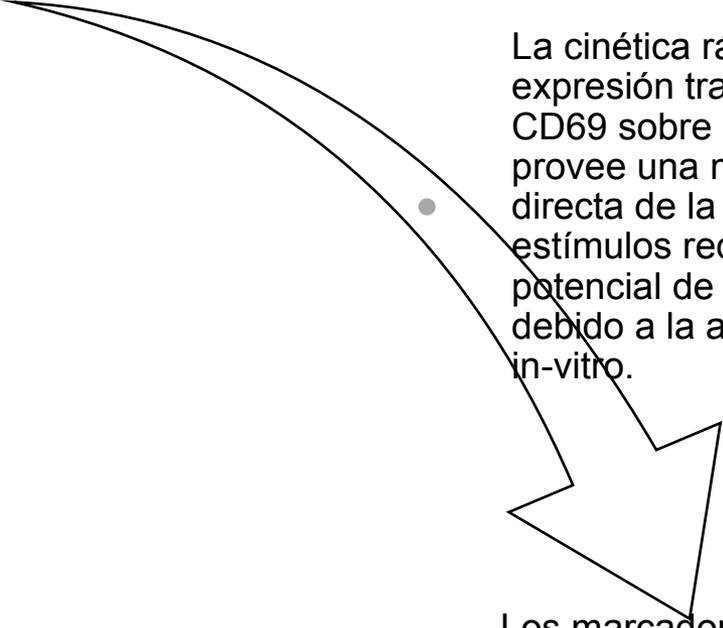
## TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL)

La expresión de CD69 posterior a la estimulación in vitro se correlaciona con la proliferación celular, por lo tanto se considera la detección de CD69 como una herramienta útil para el diagnóstico de **reacciones de hipersensibilidad a fármacos** ( DHRs.)

Es un método seguro comparado a la pruebas in vivo y tiene la ventaja de que se pueden evaluar diferentes drogas en el mismo momento.

# TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL)

El perfil de expresión de este antígeno de activación alcanza un pico dentro de las 8 horas



La cinética rápida y la expresión transiente del CD69 sobre células T provee una medida directa de la respuesta a estímulos reduciendo el potencial de artefactos debido a la activación in-vitro.

Los marcadores que son expresados más tarde requieren de incubaciones largas (3-10 días) y son vulnerables a la distorsión de los resultados por artefactos generados in-vitro.

# TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL)

Los TTL **detectan Li de memoria**, no dará un resultado positivo en ninguna reacción de hipersensibilidad a medicamentos que no esté mediada por una respuesta inmune específica.

La mayoría de los medicamentos son compuestos de bajo peso molecular y composición química simple, y sus estructuras no son reconocibles fácilmente por el sistema inmune.

Son moléculas demasiado pequeñas para interactuar con los receptores inmunes con suficiente potencia para activar los Li T o Li B.

**Diagnosticar la alergia a fármacos de tipo retardado**

# TEST DE TRANSFORMACION LINFOBLASTICA (TTL)

El resultado de la interacción de medicamentos con células T conduce :-tolerancia en la mayoría de los casos- o a la inducción de células T efectoras medicamento específico

Las interacciones medicamentosas con el TCR implican un asociado medicamento/péptido exhibido en el CMH de CPA ( **$\beta$ -lactámicos**, que forman enlaces covalentes con residuos de aminoácidos de proteínas)

Sulfametoxazol, deben ser metabolizados o bioactivados a formas químicamente reactivas antes de unirse a proteínas.

## TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL)

En su estado original, la mayoría de fármacos no tienen capacidad inmunogénica.

Si el fármaco es presentado a los LT por CPA tanto en su forma original como si se modifica tras su metabolización, puede desarrollar una respuesta mediada por  $Li\ T$ , o mediada predominantemente por anticuerpos, o tener características de ambos tipos de respuesta.

# TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL)

Múltiples mecanismos para explicar la activación de los Li T y la formación de Li T de memoria específicos de fármacos

-Haptenación (hipótesis hapteno-proteína, donde el fármaco se convierte en un inmunógeno por unión irreversible a una proteína)

- Interacción farmacológica directa con receptores inmunes

- El repertorio de péptidos alterados (hipótesis concepto p-i Pharmacological Interaction with Immune Receptors): Algunos fármacos pueden unirse directamente a los receptores TCR o MHC sin procesamiento previo, activando los linfocitos T

## TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL)

Después de una historia detallada, es crucial **evaluar la asociación temporal entre los síntomas y la exposición a los medicamentos** con la ayuda de una línea de tiempo de los medicamentos.

Es poco probable que cualquier medicamento que se comience a administrar más de 6 a 8 semanas antes de la reacción sea causal.

También se debe considerar la vida media del fármaco.

## TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL)

La S y la E son dependientes de los fármacos evaluados y de las distintas entidades clínicas involucradas, (S 60-70 %  
E 85 %).

Han sido reportados **TTL positivo** para diferentes grupos de drogas: antibióticos (b-lactámicos, quinolonas, sulfonamidas, etc.), antiepilépticos (lamotrigina, carbamazepina, fenobarbital, fenitoína), antihipertensivos, anestésicos locales, diuréticos, vitaminas, etc.

**Altos valores de activación no se asocian con la severidad de los síntomas clínicos**, son solo el reflejo de una alta frecuencia de precursores de LT específicos del fármaco en estudio.

## TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL)

Útil en pacientes con exantema generalizado de diversos tipos (maculopapular, bulloso, pustular), en pacientes con DRESS y con **reacciones anafilácticas severas “like” IgE mediadas**.

Las reacciones de hipersensibilidad generalizadas que involucran la piel y el hígado (como ocurre en DRESS) frecuentemente son **positivas para TTL**.

Además ha sido reportada positividad en pacientes con pancreatitis autoinmune, enfermedad intersticial de pulmón, fiebre y vasculitis.

En hepatitis medicamentosa, el TTL puede ser positivo y un instrumento útil para discriminar entre hepatitis inmune de reacciones tóxicas por drogas antituberculosas.

Este test es más bien **rara vez positivo** en discrasias sanguíneas como anemia hemolítica o aplásica; en NET, donde un TTL positivo es una excepción y en vasculitis de pequeños vasos (ANCA-negativas).

## TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL)

Idealmente, la evaluación de alergia a medicamentos debería **llevarse a cabo 4- 8 semanas** después de la resolución completa de todos los síntomas clínicos en la mayoría de las DHRs.

La realización del mismo durante la reacción aguda podría dar lugar a resultados **falsos negativos** ya que los linfocitos T son fuertemente activados.

Sin embargo se han reportado que reacciones de TTL pueden ser observadas cuando los test son realizados en estadios agudos (para MP, erupción maculo papular, síndrome de Stevens-Johnson (SJS) y la necrólisis epidérmica tóxica excepto para DIHS/DRESS (Síndrome de Hipersensibilidad/Rash por drogas y eosinofilia con síntomas sistémicas), en los cuales las **reacciones positivas de TTL pueden ser exclusivamente observadas luego de 1-2 meses de producido el debut de la enfermedad.**

Así en el estadio agudo, un aumento importante en la frecuencia de Li T regulatorios podría contribuir negativamente a la reacción de TTL y una vez recuperado el paciente retornan a sus valores normales.

## **TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL)**

El TTL evalúa la respuesta de Li T de memoria, por lo tanto puede permanecer positivo por muchos años.

Ha sido reportado positividad luego de 10-20 años posterior al tratamiento con b-lactámicos o carbamazepina, los cuales originalmente habían causado DHRs.

Sin embargo, en otros pacientes se observó pérdida de reactividad en un tiempo de 3-4 años, por lo tanto se recomienda realizar el TTL no más de este periodo.

La respuesta de los Li de memoria parece ser aún más intensa para las DHRs no inmediatas que para las inmediatas.

Por lo tanto, se recomienda evitar de por vida el fármaco implicado y aquellos con posible reactividad cruzada cuando exista reacción alérgica a fármacos

## TEST DE TRANSFORMACIÓN LINFOCITARIA (TTL)

Existen interferencias por el tratamiento con drogas que pueden dar lugar a **falsos negativos** como ocurre con los **corticoides**, ya que frecuentemente causan linfopenia y además inhiben la secreción de citoquinas por los Li T.

Otras drogas inmunosupresoras como metotrexato, ciclofosfamida y azatioprima interfieren en menor medida con la activación y proliferación de los Li T y se puede realizar el test si no hay linfopenia.

También puede haber falsos negativos por ingesta de anticonceptivos orales.

La positividad del TTL frente a un alérgeno concreto indica la presencia de una sensibilización a dicho alérgeno.

Es decir, una propensión, no la obligación, a desarrollar una reacción alérgica. Por otro lado, es importante tener en cuenta que la negatividad de esta prueba frente a un fármaco no excluye la sensibilización a dicho fármaco.

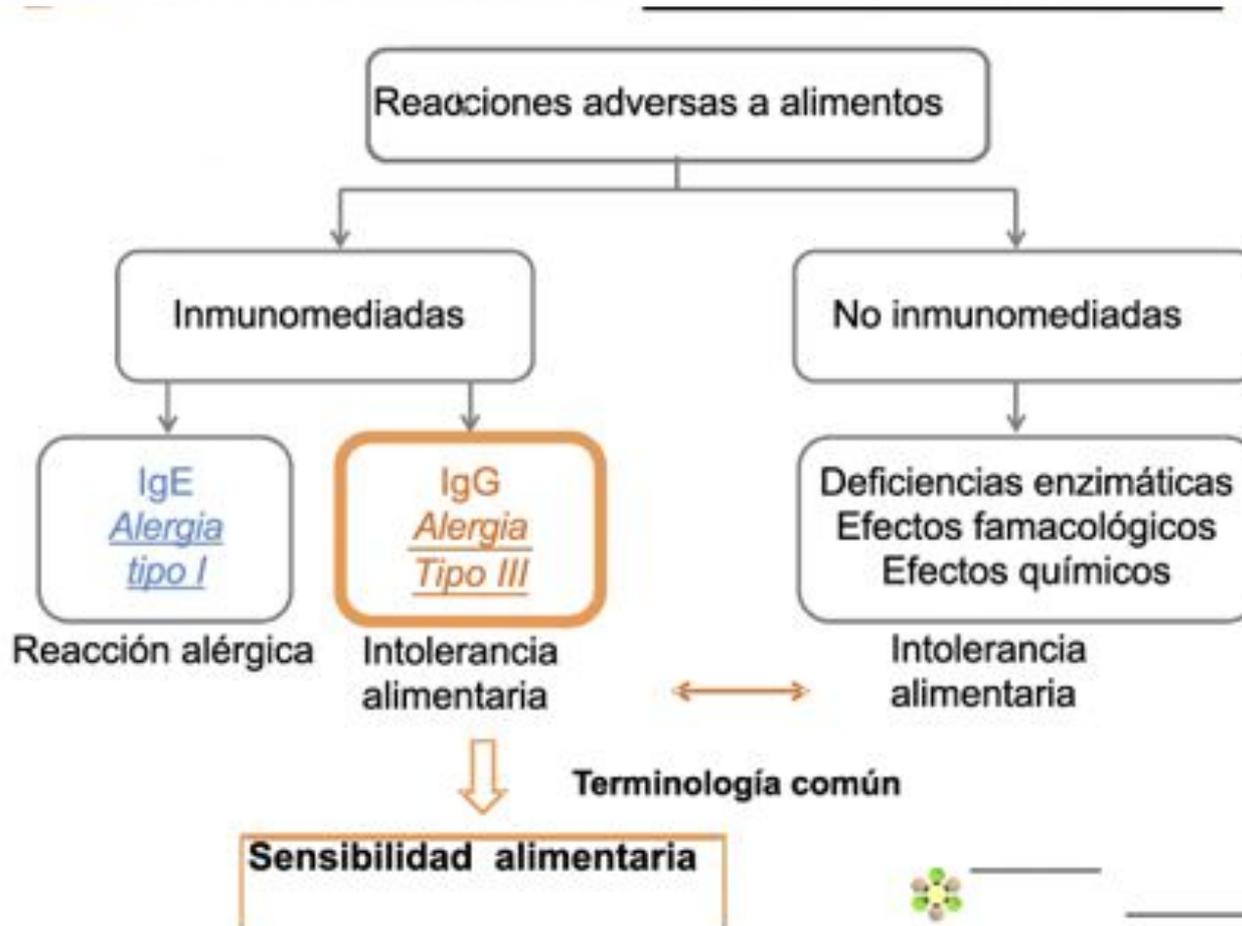
# ROL DEL LABORATORIO

- Determinación de (IgE) es la técnica más frecuentemente utilizada, aunque también se puede realizar la determinación de otras inmunoglobulinas o la detección de mediadores de la respuesta alérgica.
- Pruebas celulares consisten en estimular las células que participan en la reacción alérgica, aisladas de la sangre, con el alérgeno sospechoso de provocar la reacción, para valorar si se produce una respuesta inmunológica que explique la reacción alérgica que presenta el paciente.
- La positividad de los análisis de sangre frente a un alérgeno concreto o frente a una de sus proteínas o componentes, indica la presencia de una sensibilización a dicho alérgeno.
- Es decir, una propensión, no la certeza, a desarrollar una reacción alérgica.
- La negatividad de los análisis de sangre frente a un alérgeno no excluye la existencia de una sensibilización a dicho alérgeno.

# ROL DEL LABORATORIO

- Cuantificar los niveles de los anticuerpos IgG específicos frente a un alérgeno, e incluso determinado subtipo de anticuerpo como la IgG4, anticuerpo que se considera bloqueante de la reacción alérgica.
- La elevación de los anticuerpos IgG no sirve en el diagnóstico de alergia alimentaria.
- Los niveles de IgG4 en relación con los de IgE frente a un alimento se han asociado a la tolerancia a alimentos, pero su uso está reducido a la investigación.
- Tampoco se puede aplicar con fiabilidad la determinación de IgG4 como marcador de mejoría clínica de los pacientes tras una inmunoterapia.

# SENSIBILIDAD ALIMENTARIA



# SENSIBILIDAD ALIMENTARIA

- La sensibilidad a los alimentos **NO** es una enfermedad en el sentido más estricto
- Se intensifican los síntomas de enfermedades inflamatorias ya existentes
  - posibles síntomas inespecíficos y múltiples.
  - a menudo mal diagnosticado
- La intolerancia a varios alimentos es común
- Reacción retardada (horas/días) después del consumo

# SENSIBILIDAD ALIMENTARIA

- A menudo inflamación crónica
- Síntomas persistentes durante días
- NO pone en peligro la vida



- Dieta de eliminación o rotación  
→ alivio de los síntomas



- Reintroducir pequeñas cantidades del alimento perjudicial



# SENSIBILIDAD ALIMENTARIA

Relacionan los alimentos con reacciones de HS mediada por inmunoglobulina tipo IgG.

La continua ingestión de los alimentos a los que se es sensible provoca una constante presencia de anticuerpos en el torrente sanguíneo.

hipersensibilidad tipo II y III, /inmunocomplejos entre /tipo IgG.

La precipitación de estos inmunocomplejos a nivel vascular da lugar al inicio de un proceso inflamatorio responsable de los daños en los tejidos próximos a la reacción inmunológica.

Esto se refleja en múltiples y variados síntomas

# SENSIBILIDAD ALIMENTARIA

## **Gastrointestinal:**

SII, enfermedad de Crohn, dolor abdominal, diarrea, estreñimiento, hinchazón, flatulencia

## **Neuronales:**

Fatiga crónica, insomnio, ansiedad, depresión, encefalitis, dolor de cabeza, migraña, hiperactividad (TDAH)

## **Cardiovascular:**

Palpitaciones

## **Piel:**

Eczema, erupciones, manchas

## **Respiratorio:**

Asma, rinitis, sinusitis, tos persistente, catarro

## **Musculoesquelético:**

Dolor articular, artritis reumatoide, dolor muscular, fibromialgia

## **Metabólico:**

Aumento de peso, pérdida de peso

- **Muchos síntomas posibles** → difícil identificar la causa
- **La prueba de IgG puede ser útil** → diagnóstico → dieta de eliminación o rotación

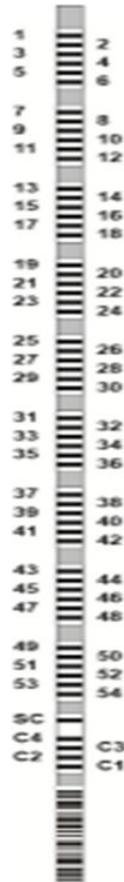
# IGG ALIMENTOS

- Existen 4 subclases de IgG: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4
- 2 variaciones de prueba para la determinación de anticuerpos IgG: IgG total, solo IgG4

IgG Subclases	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Abundancia	66%	23%	7%	4%
Concentración sérica media (mg/ml)	9	3	1	0.5
Neutralización	++	++	++	++
Opsonización	+++	+	++	-
Activación del complemento	++	+	+++	-

- IgG1 e IgG3 tienen fuertes propiedades proinflamatorias
- IgG4 tiene propiedades antiinflamatorias
- IgG4 juega un papel en la alergia clásica tipo I y se considera un antagonista de IgE

# INFORME DE RESULTADOS



ESPECIENE FOOD Pure 100 (200)		
Posición	Tras para ensayo 1 (200-4)	Tras para ensayo 2 (200-4)
1	Cebolla	Cebolla
2	Coliflor/Culinar	Uva (blancas/rojas)
3	Avena	Miel
4	Castaña	Lenteja
5	Espárrago	Nectarina
6	Tiempo	Naranja
7	Trigo, macarrones	Papa
8	Salsitas de soja	Frutas
9	Maíz	Sandía
10	Maíz	Papa
11	Arroz	Frutas
12	Juana	Frutas
13	Pollo	Melocotón
14	Pollo	Alfalfa
15	Cerdo	Alfalfa
16	Pavo	Alfalfa (negra/blanca)
17	Frutas de agua	Frutas
18	Venta de huevo (galinas)	Ajo
19	Cerdo de huevo (galinas)	Granos de montaña
20	Queso de cabra	Nuez picada
21	Queso de vaca	Cebolla
22	Leche de vaca	Papa
23	Queso de ovino	Harina de trigo
24	Yogur	Arroz
25	Berenjena	Bonito
26	Hamburques de soja	Tortilla
27	Patata	Patata
28	Patata	Alfalfa
29	Patata	Alfalfa
30	Patata	Alfalfa
31	Patata	Alfalfa
32	Patata	Alfalfa
33	Patata	Alfalfa
34	Patata	Alfalfa
35	Patata	Alfalfa
36	Patata	Alfalfa
37	Patata	Alfalfa
38	Patata	Alfalfa
39	Patata	Alfalfa
40	Patata	Alfalfa
41	Patata	Alfalfa
42	Patata	Alfalfa
43	Patata	Alfalfa
44	Patata	Alfalfa
45	Patata	Alfalfa
46	Patata	Alfalfa
47	Patata	Alfalfa
48	Patata	Alfalfa
49	Patata	Alfalfa
50	Patata	Alfalfa
51	Patata	Alfalfa
52	Patata	Alfalfa
53	Patata	Alfalfa
54	Patata	Alfalfa
C1	Mezcla de setas 1*	Mezcla de setas 2*
C2	Mezcla de setas 1*	Mezcla de setas 2*
C3	Mezcla de setas 1*	Mezcla de setas 2*
C4	Mezcla de setas 1*	Mezcla de setas 2*
SC	Mezcla de control de agua	Mezcla de control de agua
SC	Mezcla de control de agua	Mezcla de control de agua
SC	Mezcla de control de agua	Mezcla de control de agua
SC	Mezcla de control de agua	Mezcla de control de agua
SC	Mezcla de control de agua	Mezcla de control de agua

\*Mezcla de setas 1: champiñón chino, champiñón, seta shiitake, rebozuelo  
 Mezcla de setas 2: boleto castaño, boleto



# IgG4

Los anticuerpos con la misma especificidad o reactividad cruzada, pueden competir con la IgE por la unión antigénica y prevenir o suprimir la respuesta alérgica.

Esto ocurre con la inmunoterapia alérgeno específico, la cual estimula una respuesta Th2 modificada, causando una intensa regulación en alta de IgG4 e IgA2, que pueden competir por la unión al alérgeno con IgE.

Se cree que esta desviación inmune alérgeno específica de IgE hacia IgG4 e IgA2, puede contribuir al éxito de la inmunoterapia alérgeno específica

# IgG4

RA-M6G	IGG4 ALTERNARIA TENUIS (sIgG4 - IgG4 alérgeno-específica)
RA-I1G	IGG4 APIS MELLIFERA (Abeja) - Veneno (sIgG4 - IgG4 alérgeno-específica)
RA-M3G	IGG4 ASPERGILLUS FUMIGATUS (sIgG4 - IgG4 alérgeno-específica)
RA-D201G	IGG4 BLOMIA TROPICALIS (sIgG4 - IgG4 alérgeno-específica)
RA-G5G	IGG4 CESPED PERENNE DE CENTENO - LOLIUM PERENNE - BALLICO (sIgG4 - IgG4 alérgeno-específica)
RA-G6G	IGG4 CESPED TIMOTHY - POA PRATENSIS (sIgG4 - IgG4 alérgeno-específica)
RA-D2G	IGG4 DERMATOPHAGOIDES FARINAE (sIgG4 - IgG4 alérgeno-específica)
RA-D1G	IGG4 DERMATOPHAGOIDES PTERONYSSINUS (sIgG4 - IgG4 alérgeno-específica)

# **TRABAJOS PRESENTADOS**

# FRECUENCIA DE ALERGIA IgE MEDIADA A ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDES (AINE)

## DESCRIPCIÓN DE NUESTRA EXPERIENCIA DESDE 2013 A 2016

Romina P. Rancocchia<sup>1</sup>, M. Patricia Gentil<sup>2</sup>, Lujan Colombo<sup>3</sup>, Mauricio Rojas<sup>4</sup>, Claudio Farini<sup>5</sup> y Marta Romero

<sup>1</sup>Área de Inmunología, Fares Taie Instituto de Análisis, Mar del Plata

<sup>2</sup>Servicio de Alergia, Clínica 25 de Mayo, Mar del Plata

<sup>3</sup>Servicio de Alergia, Clínica Colón, Mar del Plata

<sup>4</sup>Laboratorio de Inmunopatología, Investigaciones y Docencia, Córdoba.

Contacto: [romina@fares-taie.com.ar](mailto:romina@fares-taie.com.ar)

### INTRODUCCIÓN



Los AINE a pesar de su eficacia en el tratamiento del dolor y la inflamación son, después de los antibióticos, la segunda causa más frecuente de reacciones alérgicas. Paralelamente al uso cada vez más habitual de los AINE ha sido el aumento de aparición de reacciones adversas, que varían desde erupciones cutáneas o irritación gástrica local de leve a severa, síntomas generalizados e incluso anafilácticos potencialmente mortales, que pueden involucrar mecanismos inmunológicos y no inmunológicos, creando así uno de los mayores retos en el diagnóstico de la alergia.

La mayoría de las reacciones adversas a fármacos no son alérgicas y tienen relación con las acciones farmacológicas del medicamento. Aunque diferentes clasificaciones han sido propuestas, según el Internacional Consensus on Drug Allergy (Demoly et al. 2014) las reacciones de hipersensibilidad a fármacos (DHRs) engloban todas aquellas reacciones a fármacos que parecen clínicamente alérgicas (involucran mecanismos inmunológicos y no inmunológicos). Más del 7% de la población puede verse afectada por una reacción adversa a fármaco, y en torno al 15% de ellas son DHRs. Se denominan DHRs alérgicas o alergias a fármacos, a aquellas DHRs en las que el sistema inmune adaptativo es responsable de la reacción. En caso contrario nos referimos a DHRs no alérgicas. Luego clasificamos las DHRs clínicamente como inmediatas o no inmediatas/ retardadas en función de su momento de aparición en relación a la toma del fármaco causal. Las DHRs inmediatas son posiblemente secundarias a un mecanismo IgE mediado.

Los AINE son de los fármacos más frecuentemente implicados en las reacciones de hipersensibilidad, que afectan aproximadamente a 0,5 a 1,9% de la población general. Si se toman en consideración las reacciones de pacientes con síntomas respiratorios y con una enfermedad asociada, aunque la prevalencia de la hipersensibilidad a AINE en pacientes asmáticos no se conoce fehacientemente, se ha informado en un rango de 4% a 23% y puede aumentar a 25,6% en los casos con asma y poliposis nasal.

El diagnóstico se basa en cuatro pilares fundamentales, la anamnesis y las pruebas: cutáneas, de provocación (es la prueba de referencia) y la detección "in vitro" de degranulación de basófilos (TDH) y anticuerpos IgE específicos. Esta última determinación adquiere particular importancia en el caso de pacientes atópicos, teniendo en cuenta que, en esta población, aunque por su condición, no tendrán riesgo mayor de presentar alergia a medicamentos, sí podrían presentar reacciones mediadas por IgE de mayor gravedad.

Con el fin de evitar los riesgos de los test in vivo es importante utilizar test in vitro. En el uso clínico común, a pesar de que existen comercializados métodos de detección de IgE específica para numerosos fármacos, los pruebas in vitro siguen considerándose menos sensibles que las pruebas in vivo aunque presentan alta especificidad. Como en el caso de las pruebas cutáneas, una IgE circulante negativa NO descarta alergia al fármaco.



### MÉTODO



**Pacientes:** Se realizó un estudio retrospectivo en el periodo comprendido entre Noviembre del 2013 a Abril del 2016. Un total de 117 de pacientes con sospecha de alergia a AINE (Mujeres, n = 80 y hombres, n=37) entre 4 a 73 años de edad acudieron al Instituto de Análisis Fares Taie y se les realizó la determinación de IgE específica para uno o varios AINE utilizando el método de ELISA.

**Evaluación de IgE específica para AINEs mediante ELISA (Enzimoinmuno ensayo en fase sólida).** Placas de 96 pocillos para microtiteración fueron sensibilizadas con antígenos (50 µg / ml) según la droga a determinar, diluido en tampón fosfato/ carbonato-bicarbonato durante 2 horas a 37°C. Al día siguiente, las proteínas no unidas se eliminaron mediante cinco lavados con PBS-Tween 20 al 0,1% y las placas se bloquearon con leche de soja (PBS al 0,1 % (peso/volumen)) y se incubaron durante 2 h con una dilución 1:5 en leche de soja / PBS (1%) de las muestras de suero de los pacientes.

Finalmente, se realizaron cinco lavados y se incubaron con una dilución 1:1000 de anti-IgE humana obtenido en cabra y conjugado con peroxidasa (Sigma) durante 1 hora a 37 ° C. Las placas se lavaron como se describió anteriormente y la presencia de peroxidasa fue revelada con o-fenilendiamina (Sigma). La reacción se detuvo mediante la adición de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4N y la densidad óptica se midió a 490 nm con un lector de microplacas (Bio-Rad, Richmond, CA). Una muestra se consideró positiva si su DO fue dos y medio o más desviaciones estándar por encima de la DO media del grupo control.

### OBJETIVOS

1. Mostrar la frecuencia de alergia a AINE-IgE mediada en nuestra población de pacientes con sospecha de alergia a AINE en el periodo comprendido entre noviembre de 2013 a abril de 2016.
2. Conocer la distribución por edad de los pacientes que presentan anticuerpos IgE específicos a AINE durante el periodo estudiado.
3. Establecer los AINE más representativos involucrados en los pacientes con presencia de anticuerpos IgE específicos.



# RESULTADOS



## FRECUENCIA DE PACIENTES CON PRESENCIA DE ANTICUERPOS IGE ESPECÍFICOS A AINE



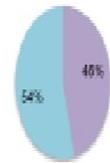
263 Solicitudes de IgE específica de **43,2%** pacientes : Presencia de anticuerpos anti IgE a AINE  
117 pacientes

Edad promedio de los pacientes **41 años** (rango de edad de 4-73 años)



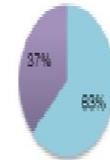
**63%** mujeres con anticuerpos IgE anti AINE

Relación mujeres/hombres: 1,7:1



POSITIVOS NEGATIVOS

Frecuencia de pacientes con presencia de anticuerpos IgE específicos a AINE



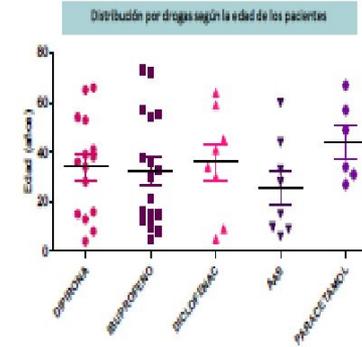
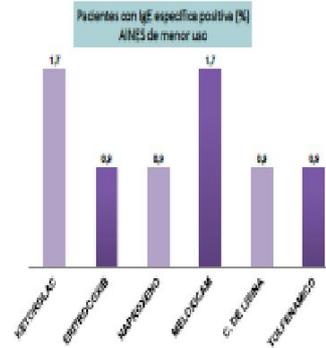
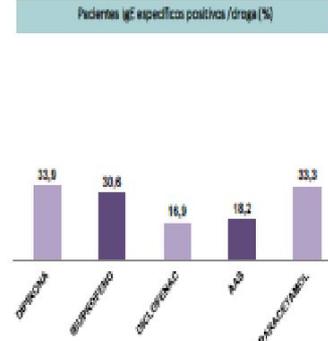
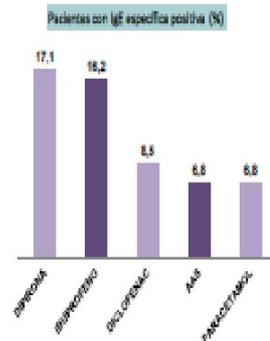
MUJERES HOMBRES

Distribución por sexo de pacientes con anticuerpos IgE específicos a AINE

Tabla 1: Pacientes con presencia de anticuerpos IgE específicos a AINE

Pacientes n=117			
Sexo	Totales (N <sup>o</sup> )	Ige + AINE (N <sup>o</sup> )	Ige + AINE (%)
Mujeres	80	34	37
Hombres	37	20	63
Total	117	54	

## AINE MÁS REPRESENTATIVOS INVOLUCRADOS EN LOS PACIENTES CON PRESENCIA DE ANTICUERPOS IGE ESPECÍFICOS.





## REACTIVIDAD MÚLTIPLE. PACIENTES CON PRESENCIA DE ANTICUERPOS IgE ESPECÍFICOS A MAS DE UN AINE

55,6 % de los pacientes fueron positivos a un solo AINE

Tabla 2: Pacientes con anticuerpos IgE específicos para 2 AINE.

PACIENTES	IBUPROFENO	DICLOFENAC	DIPIRONA	AAS	PARACETAMOL	DORISINA
1	+			+		
2	+					
3			+	+		
4			+		+	
5	+	+				
6	+	+				
7			+	+		
8				+		+
9	+			+		
10	+			+		

+ IBUPROFENO 

3 combinados con AAS, dos con diclofenac y uno con dipirona.

## CONCLUSIONES

En nuestra población, durante el periodo comprendido entre 2013-2016, la dipirona y el ibuprofeno, independientemente de la edad, y en acuerdo con la bibliografía son los AINE más comúnmente relacionados a hipersensibilidad mediada por IgE.

La determinación de IgE específica para AINE mediante el método de ELISA aporta una herramienta válida para sustentar el diagnóstico de alergia, aunque al igual que las pruebas cutáneas un resultado negativo no lo excluye.

Todos los pacientes fueron



+ DIPIRONA

combinada con otros AINE

Tabla 3: Pacientes con anticuerpos IgE específicos para 3 AINE.

PACIENTES	IBUPROFENO	DICLOFENAC	DIPIRONA	AAS	PARACETAMOL
1		+	+	+	
2	+		+		+
3		+	+		+
4	+		+	+	

## REFERENCIAS

- Kowalik M, Aswari R, Barbedi S, et al. Classification and practical approach to the diagnosis and management of hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy* 2018;68:1219-1232
- Tome M, et al. In vitro test for drug hypersensitivity reactions: an (IN)A/IMACI Drug Allergy Interest Group position paper. *Allergy* 2016;71:1103-1108
- Gemely R, et al. International Consensus on drug allergy. *Allergy* 2014;69:420-447
- Tome M, et al. Practical guidelines for diagnosing hypersensitivity reaction to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Inherid Allergy Clin Immunol* 2014; 16(3): 208-213

# FRECUENCIA DE IGE ESPECÍFICAS SÉRICAS PARA LOS PRINCIPALES GRUPOS DE ALERGENOS REALIZADOS EN UN LABORATORIO DE LA CIUDAD DE MAR DEL PLATA. DESCRIPCIÓN DE NUESTRA EXPERIENCIA DESDE 2012 A 2017.



Gentili María Patricia, Maffioli Mónica, Mayo Daiana, Uñates Belén, Ranocchia Romina.

Área Inmunología Fares Taie Instituto de Análisis ,Rivadavia 3343 ,Mar del Plata , Buenos Aires ,Argentina. [Contacto:inmunologia@farestaie.com.ar](mailto:inmunologia@farestaie.com.ar).

## INTRODUCCION

El diagnóstico de alergia requiere la combinación de una historia clínica, ensayos *in vivo* y la detección de IgE específica. Las pruebas *in vivo* nunca están exentas de riesgo, razón por la que cuantificar IgE específica se han convertido en una herramienta esencial en los algoritmos diagnósticos. Su inconveniente principal es que detectan "sensibilización" que está poco relacionada con "alergia clínica". La probabilidad de alergia clínica puede ser semicuantificada a partir del resultado de una prueba de IgE específica. Esta relación se ve influenciada por factores del paciente como la edad, la etnia, la naturaleza de la reacción alérgica, coexistencia de otras enfermedades clínicas tales como dermatitis atópica / eczema, la región geográfica, la exposición al polen, la dieta, los factores ambientales (temperatura, humedad), el ejercicio, el estrés físico y emocional, las infecciones y los medicamentos.

También hay que tener cuenta cualquier tratamiento que altere la composición o el volumen del compartimento sanguíneo del paciente (transfusiones sanguíneas, proteínas heterólogas, quimioterapia, administración de sueros o reacciones anafilácticas sistémicas recientes). La administración de Omalizumab interfiere con algunos ensayos de detección de IgE específica. Los esteroides o antihistamínicos no interfieren generalmente con la medida de IgE total o específica salvo que la administración prolongada de los esteroides ocasione una inmunosupresión importante. La inmunoterapia tradicional puede alterar determinados métodos, dada la posibilidad potencial de generar inmunoglobulinas específicas frente al alérgeno de un isotipo no IgE. La probabilidad de alergia clínica puede ser estimada a partir de un resultado de IgE específica teniendo en cuenta características de presentación del paciente (probabilidad pre-test). La presencia de cada uno de estos factores específicos del paciente indica que un paciente es más o menos propenso a tener alergia clínica con un determinado resultado de la prueba (probabilidad post-test). Las pruebas de cribado en individuos no afectados, con pruebas de IgE específica tiene un bajo valor predictivo positivo de aproximadamente el 50%. En las poblaciones donde la probabilidad de alergia clínica es mayor, el valor predictivo positivo de la prueba cutánea (PC) o de la IgE específica puede ser superior al 85%.

## OBJETIVOS

1. Mostrar la frecuencia de IgE específicas séricas para los principales grupos de alérgenos con sospecha de alergia en nuestra población de pacientes entre los años 2012 a 2017.
2. Establecer los alérgenos más representativos/grupo y las clases predominantes involucrados en los pacientes con presencia de anticuerpos IgE específicos.

## MATERIALES Y MÉTODO

**Pacientes:** Se realizó un estudio retrospectivo en el período comprendido entre los años 2012 a 2017. Un total de 7398 solicitudes de pacientes con sospecha de alergia acudieron al Instituto de Análisis Fares Taie y se les realizó la determinación de IGE específica para uno o varios alérgenos utilizando el método de ELISA.

**Evaluación de IgE específica mediante ELISA (Enzimoimmuno ensayo en fase sólida):** utiliza pocillos sensibilizados con anticuerpos humanos anti-IgE. Durante la primera incubación, el Anti-IgE en fase sólida capturan las IgE de la muestra de suero, tanto específicas de alérgenos como no específicas de alérgenos. Después de un lavado inicial para eliminar cualquier posible interferencia de otras inmunoglobulinas, (por ejemplo, IgG), se añade el conjugado anti-IgE-Biotina a los pocillos que previamente habían sido incubados con los calibradores y los diversos alérgenos. Durante esta segunda incubación, el conjugado anti-IgE-Biotina se une a la IgE de los calibradores. Después del lavado, el conjugado de Estreptavidina-Peroxidasa se añade a todos los pocillos. Esto reacciona tanto con el Anti-IgE-Biotina, unido a los pocillos de los calibradores, y con el conjugado de Alérgeno-Biotina, unidos a los pocillos de las muestras. El último lavado elimina las especies no reaccionadas. Finalmente, la adición del cromógeno-sustrato permite la detección del conjugado de Estreptavidina-Peroxidasa. El color que se desarrolla se correlaciona con la concentración de IgE de los calibradores. Los resultados son obtenidos por interpolación contra la curva de calibración (0 - 0.36 - 0.72 - 3.6 - 18 - 50 - 100 KIU/L) y se expresan en términos tanto de unidades como de clases (1,2,3,4,5 y 6) de positividad (Allergen A, Radim).

## RESULTADOS

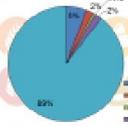
### FRECUENCIA DE PACIENTES CON PRESENCIA DE ANTICUERPOS IGE ESPECÍFICOS POR GRUPO DE ALERGENOS

Frecuencia de pacientes sensibilizados/grupo de alérgenos (%)

■ HONGOS ■ POLVO ■ MASCOTAS ■ VENENOS ■ GRAMINEAS ■ ALIMENTARIOS



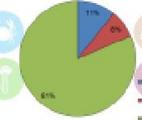
ALERGENOS DE HONGOS



ALERGENOS DEL POLVO



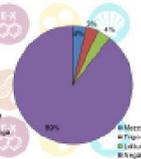
ALERGENOS DE MASCOTAS



ALERGENOS DE VENENOS



ALERGENOS DE GRAMINEAS

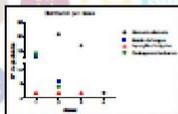


ALERGENOS ALIMENTARIOS

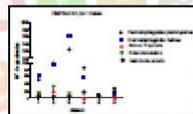


### FRECUENCIA DE PACIENTES CON PRESENCIA DE ANTICUERPOS IGE ESPECÍFICO/ALERGENO (%)

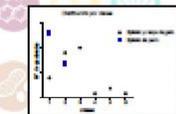
ALERGENOS DE HONGOS



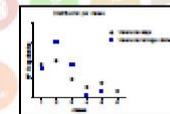
ALERGENOS DEL POLVO



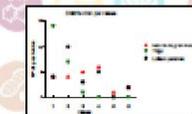
ALERGENOS DE MASCOTAS



ALERGENOS DE VENENOS

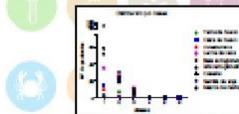


ALERGENOS DE GRAMINEAS



ALERGENOS ALIMENTARIOS

■ Yema de huevo ■ Leche de vaca ■ Arroz (14%) ■ Semilla de soja ■ Mezcla de mariscos y pescados ■ Clara de huevo ■ Beta caroteno ■ Caseína ■ Divalcábitos



## CONCLUSIÓN

- Por grupo de alérgenos observamos mayor sensibilización para alérgenos del polvo, venenos y de mascotas ,seguidos de alérgenos alimentarios y menor sensibilización para alergenos de hongos y de gramíneas.
- \*Cuando se sospecha alergia producida por cada alérgeno específico, los más representativos por grupo y sus clases fueron:  
ácaros de polvo casero la mayoría se encuentra entre mezcla de ácaros, Dermatophagoides pteronyssinus y farinae y para polvo de habitación con clases principalmente entre 2-4.
  - \*Un tercio de las IgE específicas fueron positivas para veneno de abeja y de hormiga colorada, principalmente clase 1 y 2.
  - \*Mayor sensibilidad para detectar epitelio y caspa gato, con clases 2 y 3.más que epitelio de perro con clases 1 y 2
- Alimentarios: \* Un cuarto de las IgE específicas fueron positivas para huevo, mayor detección para clara que yema y ovoalbúmina.
- \* Un quinto de las IgE específicas fueron positivas para proteínas de la leche de vaca, mayor detección para fracción beta-lactoglobulina que para caseína y alfa-lactoglobulina. La menor positividad se observó para pescados y mariscos y semilla de soya (clase 1 y 2 mayoritariamente).
  - \*Cuando se sospecha alergia producida por hongos por cada alérgeno la mayor positividad se observó para mezcla de levaduras y en mucha menor medida Alternaria alternata, Aspergillus fumigatus, Cladosporium herbarum (máxime clases 1 y 2);
  - \*Alérgenos de pólenes de gramíneas la positividad fue baja y principalmente clases 1 y 2.

## DISCUSION

- Considerar el análisis de IgE específicas en pacientes donde las PC son de difícil valoración (lactantes, pacientes con dermatitis atópica severa, dermatografismo o urticaria), peligrosas por la elevada sensibilización (alimentos y venenos) o dudosas, de difícil interpretación, en alérgenos donde las PC tienen escasa sensibilidad (Ej.: alergia alimentarios) y en enfermedades alérgicas donde la detección de IgE específica constituye uno de los criterios diagnósticos (Ej.: alergia a venenos de himenoptero, estudio de sensibilización a alérgenos que no pueden ser utilizados en las pruebas cutáneas (tóxicos, sustancias insolubles en agua, sensibilizantes potentes). También de utilidad para la evaluación de la reactividad cruzada entre los venenos de insectos. Históricamente se ha considerado únicamente la positividad en función de las clases asignadas a la concentración de IgE específica de forma artificial en un futuro se preciaría de estudios que valoren los puntos de corte a establecer para cada alérgeno según distintos "endpoints" (diagnóstico, pronóstico, sensibilización, etc.) y en distintas situaciones clínicas (niños, adultos, multisensibilizados, estación del año, etc.).

# ALERGIA RESPIRATORIA IgE MEDIADA A CEREALES. REPORTE DE UN CASO.

Romina P. Ranocchia<sup>1</sup>, Lujan Colombo<sup>1</sup>, Mauricio Rojas<sup>2</sup>, M. Patricia Gentili<sup>1</sup>  
1-Área Inmunología- Fares Tale Instituto de Análisis, Mar del Plata.  
2- Servicio Alergia e Inmunología Clínica 25 de Mayo, Mar del Plata.  
Contacto: [ranocchia@faretaie.com.ar](mailto:ranocchia@faretaie.com.ar)

## INTRODUCCIÓN

Los cereales son una importante fuente de proteína en la dieta para las personas en todo el mundo. El cereal más utilizado para el consumo humano es el trigo (*Triticum aestivum*), aunque también se consumen otros como el arroz, el maíz, la cebada, el centeno, la avena. Todos los cereales pertenecen a la familia Poaceae o Gramineae, es decir, son hierbas cultivadas y producen frutos comestibles conocidos como granos. Hay numerosos y variados alimentos que contienen cereales. Además de los productos de panadería, pastelería y pasta, los granos son ampliamente utilizados en la industria alimentaria como espesantes y rellenos. La alergia al trigo (AT) es común en todo el mundo y varía según la edad y la región de 0,4% a 4%. Aunque el trigo es el grano comúnmente involucrado en la alergia a los cereales en occidente, también pueden estar implicados otros como arroz, maíz, centeno, cebada y avena.

El trigo es una fuente de numerosos alérgenos responsables de diferentes manifestaciones de la alergia IgE-mediada y dependiendo de la ruta de la exposición, la ingestión de trigo puede inducir alergia alimentaria, se manifiesta con una variedad de síntomas que incluyen urticaria/angioedema, asma, rinitis, dolor abdominal, vómitos, exacerbación aguda de la dermatitis atópica y anafilaxia inducida por el ejercicio dependiente del trigo; mientras que la inhalación de harina de trigo y centeno es la causa principal del asma del panadero y rinitis.

Las alergias alimentarias mediadas por IgE pueden ser de tipo 1 (sensibilización por gastrotractointestinal/niños) o tipo 2 (sensibilización por aeroalérgenos/adolescentes y adultos). En las alergias alimentarias, de las personas que presentan rinitis, entre el 23 % y el 76 % experimenta el síndrome de alergia oral a algún alimento. En el síndrome polen alimento, la comida induce síntomas en aquellos pacientes previamente sensibilizados a los alérgenos homólogos, presentes en los neumoaérgenos. Así, los alérgenos contenidos en los alimentos son capaces de gatillar una reacción alérgica sin producir la sensibilización previa vía alimentaria. Entre las personas con síndrome de alergia oral, el 70 % reacciona a más de dos alimentos.

La fuerte reactividad cruzada de alérgenos del polen de gramíneas y los alérgenos de trigo, ambos pertenecientes a la misma subfamilia de Festucoideae, ha sido conocido por muchas décadas, las tribus de Festuceae (incluyendo *Lolium perennis* y *Phleum pratensis*) y *Triticeae* (incluido el trigo) comparten grupos de moléculas alérgicas (p. ej.: profilinas del polen, LTP y grupos polen del pasto 2-4).

El diagnóstico de AT y a los cereales en general, es complicado por los diferentes mecanismos patogénicos que pueden estar implicados. En la práctica clínica es importante distinguir si una reacción adversa a los granos de cereales es debido a una reacción alérgica IgE-mediada o a una intolerancia. El diagnóstico de AT se basa clásicamente en pruebas cutáneas (SPT), determinación sérica de IgE específica y pruebas de provocación. Los ensayos in vitro son los diagnósticos de primer nivel para AT, sin embargo, se ven afectados por un bajo valor predictivo. En particular, su baja sensibilidad y especificidad puede explicarse por el hecho de que los extractos comerciales son mezclas de proteínas de trigo solubles en agua / sal que carecen de alérgenos de la fracción de gluten insoluble. Los ensayos in vitro de IgE específica a extracto de trigo total son más sensibles (75%-80%) que el SPT, pero menos específicos (60%), debido principalmente a la reactividad cruzada con pólenes de gramíneas. También se puede evaluar la IgE específica para gluten. Dado que la prueba comercial contiene proteínas de gluten de trigo, sólo es positiva en el caso de una alergia al trigo y negativa en el caso de alergias a otros cereales que contienen gluten. Las pruebas de desafío siguen siendo el estándar de oro para el diagnóstico de la enfermedad, pero son engorrosas y potencialmente peligrosas. El análisis por componentes y el test de activación de basófilos representan nuevas y útiles herramientas para el diagnóstico in vitro de AT y en algunos casos pueden sustituir eficazmente las pruebas funcionales in vivo.

Aunque el diagnóstico de alergia a cereales dependerá de la presencia y concentración de los alérgenos principales de los extractos utilizados, también debemos considerar que los cereales son parte de la familia gramíneas, y hay reactividad cruzada entre harina de trigo y polen de gramíneas, contribuyendo a una disminuida especificidad en el dosaje de la IgE específica a trigo.

## OBJETIVO

Describir un caso de alergia respiratoria IgE mediada a cereales diagnosticada en adolescente femenina (17 años) que ingresa al Servicio de Alergia por un cuadro de rinitis crónica de años de evolución (principalmente estacional), con el fin de evaluar la hipótesis de que la sensibilización al trigo sería la responsable principal de los síntomas de alergia respiratoria.

*Muchos alérgenos aerotransportados inducen IgE, que reacciona de manera cruzada con alérgenos alimentarios, y muchos pacientes adultos afectados por polinosis también sufren de diferentes tipos de alergias a los alimentos. Existe una correlación entre alergia respiratoria, reactividad cruzada entre el polen de gramíneas y las proteínas de los granos de cereal (trigo, centeno, cebada y avena) dado que comparten proteínas homólogas (conservadas evolutivamente) y alta tasa de cosensibilización a estos alimentos.*

## DESCRIPCIÓN

Como antecedentes previos, la paciente presentaba episodios de broncoespasmos relacionados al esfuerzo y sibilancias, y refiere dolores abdominales y sensación de "panza rara"

## DESCRIPCIÓN

Como antecedentes previos, la paciente presentaba episodios de broncoespasmos relacionados al esfuerzo y sibilancias, y refiere dolores abdominales y sensación de "panza rara" con ecografía abdominal y análisis parasitológicos normales. Antecedentes familiares: padre asmático. Test cutáneos positivos para mezcla de gramíneas y ácaros (año 2015).

Al momento de la consulta al Servicio de Alergia (Abril de 2017) acusaba síntomas de rinitis: rinorrea, estornudos y prurito nasal. Asimismo refiere aparición de "ronchas en la piel" al contacto con gramíneas.

SPT (Alergo Pharma)	IGE ESPECÍFICA SÉRICA (KU/L)	ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS
Pólenes árboles tempranos y tardíos (1+) Pólenes de compuestas (1+) Pólenes de gramíneas (2++) Trigo (2+) Leche de vaca (-) Huevo (-)	Harina de Trigo (47,80 KU/L, clase 4) Cebada (2,36 KU/L, clase III) Centeno ( 0,30 KU/L clase I) Avena (0,30 KU/L clase I)	IgE sérica total: 1506 U/ml. Hemograma, hepatograma, IgA, IgG e IgM normales. Antitransglutaminasa IgA: < 1,9 CU (VR: Positivo, > 20 CU), IgA: 124 mg/dL, anti péptidos de gliadina IGG + IGA: 0,5 CU (VR: Positivo, > 20 CU), anticuerpos antigliadina IgA: 7,0 U y antigliadina IgG: 21,6 U (VR: Positivo, > 20 U).

Se realiza SPT (Alergo Pharma) con extractos estandarizados para aeroalergenos comunes y alimentos y se determina IgE específica sérica mediante enzoinmunoensayo (Allergen system y quimioluminiscencia normalizado CLSI-ILA20A) Se descarta enfermedad celíaca mediante pruebas serológicas.

Para corroborar un posible síndrome de alergia oral, específicamente alergia al trigo mediante sensibilización con aeroalergenos, se indica una dieta estricta de eliminación de alimentos que contengan trigo. Tras dieta libre de gluten (DLG) durante 1 mes y medio en ausencia de tratamiento habitual para la rinitis hay clara mejoría de su sintomatología respiratoria. El alergista indica reintroducir los alimentos con trigo en la dieta y se repite el laboratorio de IgE específica para trigo: 16,8 KU/L (Clase 3), cebada: 1,75 KU/L (Clase III), centeno y avena: 0,27 KU/L y 0,26 KU/L (Clase I). Además, se analizaron IgE específica para gramíneas: 23,3 KU/L (Clase 4), IgE arroz: 0,49 KU/L (Clase II) e IgE gluten: 0,27 KU/L (Clase I). La paciente manifiesta la reaparición de sintomatología de rinitis alérgica asociada a la ingestión de estos alimentos.

A futuro, además de la DLG, probablemente se proponga un tratamiento con inmunoterapia con el objetivo de desensibilizarla para los aeroalergenos, para evaluar si hay concomitantemente una mejoría de la sintomatología respiratoria.

## CONCLUSIONES

- ✓ Así, un resultado positivo de los anticuerpos IgE específicos séricos sumado a un SPT positivo para el trigo y para polen de gramíneas respalda la suposición de que las molestias son la consecuencia de una alergia. Más aún, la introducción de la DLG y la consecuente mejoría clínica al eliminar de manera estricta el alérgeno corrobora un diagnóstico de alergia respiratoria a los cereales, posiblemente un síndrome polen alimento (paciente sensibilizada primariamente con alérgenos del polen de gramíneas).
- ✓ Además, la paciente presenta valores bajos IgE específica para gluten en relación a los niveles de IgE específica para trigo nos permite pensar que quizás hay otras proteínas involucradas en la sensibilización al trigo (ej: LTP, profilinas).
- ✓ La positividad de las IgE séricas específicas para cebada, centeno, avena y arroz es probablemente consecuencia de reacciones cruzadas por la similitud en la estructura de estos alimentos (principalmente por el gluten).

## REFERENCIAS

- Cianfroni A et al. Wheat allergy: diagnosis and management. J Asthma Allergy 2016 Jan 29; 9:13-26.
- Quins B et al. Clinical presentation, allergens, and management of wheat allergy. Expert Rev Clin Immunol. 2015;12(2):263-72.
- Cruz-Quintana G et al. What Do We Know Now about IgE-Mediated Wheat Allergy in Children. Nutrients 2017, 9, 38.
- Vestsoed P et al. Primary versus secondary immunoglobulin E sensitization to soy and wheat in the MUs-Centre Allergy Study cohort. Clinical and Experimental Allergy 2008, 38, 493-500.
- Venier C et al. Very low prevalence of IgE mediated wheat allergy and high levels of cross-sensitisation between grass and wheat in a UK birth cohort. Clin Transl Allergy (2018) 8:22.

## DISCUSIÓN

La interpretación de la sensibilización al trigo con o sin sensibilización al polen de gramíneas es un problema clínico. La precisión del diagnóstico de alergia al trigo podría mejorarse midiendo las respuestas de IgE a varios componentes del trigo, los cuales ayudarían a distinguir entre la sensibilización causada por la exposición ocupacional y las pruebas serológicas positivas de IgE a la harina de trigo debido a la reactividad cruzada con el polen de gramíneas.

Actualmente, el conocimiento de los alérgenos del trigo relacionados con las alergias alimentarias y respiratorias tiene, al menos, las siguientes limitaciones: 1) amplia variabilidad en el campo clínico e inmunológico de las manifestaciones clínicas de los pacientes; 2) muchos de los alérgenos purificados muestran una baja prevalencia de reconocimiento de IgE que podría explicarse, en parte, por la heterogeneidad individual considerable en los patrones de sensibilización; 3) muchos estudios reportan sólo reactividad in vitro a los alérgenos de trigo, mientras que pocos estudios incluyen procedimientos de diagnóstico in vivo y pruebas de desafío; 4) escasa información relativa a datos clínicos sobre los síntomas, la vía de sensibilización y la tolerancia oral de los productos del trigo entre los pacientes con alergia respiratoria; 5) estudios comparativos limitados entre alérgenos naturales y recombinantes; Y 6) no hay resultados concluyentes sobre la reactividad cruzada con otros cereales harina (centeno, cebada, avena), alimentos vegetales y polen (especialmente polen de gramínea).

# TEST DE DEGRANULACION DE BASOFILOS

## Hipersensibilidad a medicamentos evaluada por Test de Degranulación de Basófilos (TDBH).



Nuestra experiencia desde 2008 a 2016

María Patricia Gentili<sup>1\*</sup>, Romina Raveoche<sup>2</sup>, Lujan Colombo<sup>2</sup>, Claudio Fantini<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Bioquímica. 1. Área Inmunología Fares Tafe Instituto de Análisis, Mar del Plata

<sup>2</sup> Médico Jefe de Servicio de Alergia e Inmunología Clínica Colón y Hospital Regional Dr. Alende HIGA.

Contacto: [inmunologia@faresfafes.com.ar](mailto:inmunologia@faresfafes.com.ar); Teléfono: 0223-410-4820

### INTRODUCCIÓN

Se denomina reacción adversa a todo efecto no deseado tras la administración de un fármaco a dosis terapéutica. En el 80% de los casos es predecible, dependiente de la dosis y explicable por acciones farmacológicas conocidas del fármaco. En otras ocasiones es impredecible, independiente de la dosis y se puede explicar por mecanismos inmunológicos (reacciones de hipersensibilidad) o genéticos (idiosincrasia). Las reacciones de hipersensibilidad a fármacos (DHRs) engloban todas aquellas reacciones a fármacos que parecen alérgicas. Más del 7% de la población podría afectarse por una reacción adversa a fármacos, y 15% de ellas son reacciones de hipersensibilidad. Las DHRs inmediatas suceden durante las primeras 1-6 horas tras la última administración del fármaco. Son posiblemente secundarias a un mecanismo IgE mediado. El término reacciones "anafilactoides" utilizado previamente en las DHRs no IgE mediadas se ha dejado de usar.

Las DHRs Tipo I, mediadas por IgE, como algunas no mediadas por IgE, activan mastocitos y basófilos con liberación de sus mediadores químicos responsables de los síntomas clínicos. Se denominan alergias a fármacos, a aquellas en las que el sistema inmune es responsable de la reacción, sino se denominan hipersensibilidad no alérgica o anafilactoides. Las DHRs no inmediatas suceden en cualquier momento después de la 1<sup>era</sup> hora de administración del fármaco. A menudo, se deben a un mecanismo alérgico dependiente de Linfocitos T.

Habitualmente estas reacciones son difíciles de predecir, requieren modificación de tratamiento y pueden ser potencialmente fatales. Un diagnóstico concluyente de DHR es preciso, con el fin de establecer las medidas preventivas adecuadas. Los errores de clasificación basados exclusivamente en anamnesis de DHR, pueden influir en las opciones de tratamiento de un determinado paciente y puede ser más perjudicial para los pacientes que un estudio completo de alergia a medicamentos. Las herramientas clínicas que permiten un diagnóstico concluyente son una historia clínica completa, pruebas cutáneas estandarizadas, pruebas in vitro fiables y pruebas de provocación a medicamentos.

La prueba de provocación es el patrón de referencia y es útil cuando la prueba de IgE específica o las pruebas cutáneas no pueden realizarse. Los síntomas que se producen en las reacciones Tipo I son consecuencia de la degranulación de los Basófilos sensibilizados, por ello se han diseñado a lo largo del tiempo el Test de Degranulación de Basófilos, el Test de Liberación de Histamina y últimamente el Test de Activación de Basófilos (T.A.B.)

La utilidad diagnóstica del TDBH en alergia drogas donde no se produce IgE específica concuerda con la conclusión de la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica (EAACI) con respecto a las técnicas de activación de basófilos: si el resultado es positivo existe una alta probabilidad de que el paciente sea sensible al fármaco en cuestión, pero un resultado negativo no excluye una reacción anafilactoides.

### OBJETIVO

Mostrar los resultados de los TDBH en nuestra población en un total de 468 colititudes de TDBH con sospecha de alergia a medicamentos y conservantes de 218 pacientes, que acudieron al laboratorio desde el 1 de enero del 2008 al 30 de abril del 2016. Se identificaron los cuadros clínicos que motivaron la consulta (principalmente urticaria, angioedema de cara labios y párpados, broncoespasmo y shock anafiláctico) y mediante una historia clínica detallada se corroboró la relación temporal de la administración de medicamentos relacionada con las mismas.

## MÉTODO

El estudio de degranulación de basófilos humanos por microscopía óptica puede seguirse gracias a la desaparición de la tinción metacromática de sus gránulos citoplasmáticos. La fiabilidad de esta técnica depende de lograr una buena purificación de estas células, que constituyen menos del 1 % de los leucocitos de sangre periférica.

De forma ideal, la muestra debe tomarse después de un periodo de aproximadamente seis semanas posteriores a la probable reacción alérgica, con ayuno de 12 horas y sin administración de medicamento 48 horas antes, como esteroides o antihistamínicos. Es importante que el paciente no padezca una enfermedad de base que requiera administración constante de esteroides, inmunomoduladores, antihistamínicos, etc., ya que estos factores afectan el resultado de la prueba.

Se utiliza sangre entera anticoagulada con heparina temperatura ambiente hasta su procesamiento. Lo ideal es que las muestras se procesen en el día debido a la labilidad de los basófilos, pero si el almacenamiento es correcto, a veces la muestra es apta para su análisis 24 y hasta 48 horas después de la extracción.

Luego se separa la capa de células mononucleares por centrifugación en un gradiente de Ficoll-Hypaque. Las células se lavan dos veces con PBS, a 4°C. El botón resultante se resuspende en PBS. Alicuotas de 45  $\mu$ l de la suspensión celular se incuban 15 minutos a 37°C con 5  $\mu$ l de PBS (control negativo), 5  $\mu$ l del alérgeno o de la droga a ensayar, o 5  $\mu$ l de fMLP 10<sup>-6</sup> M final como estimulante inespecífico (control positivo). La reacción se frena en frío. A continuación se realiza la coloración metacromática durante 2 minutos con Azul de Toluidina 0,1%. Se realiza el recuento de basófilos en una cámara de Neubauer, tomando un área de la cámara donde se cuenten por lo menos 50 basófilos en el control negativo.

Se calcula el porcentaje de degranulación. Como criterio de positividad consideramos un porcentaje de degranulación superior a dos desvíos estándar de la media obtenida en individuos no alérgicos.

Según Bibliografía la prueba de Shelley es positiva cuando es igual o mayor al 20%.

# RESULTADOS

458 Solicitudes de TDBH de 219 pacientes



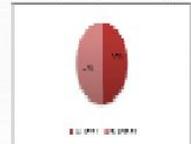
46,1 % de los pacientes Positivos (101 pacientes)

Edad promedio de los pacientes 33.3 años  
(rango de edad de 1-77 años)

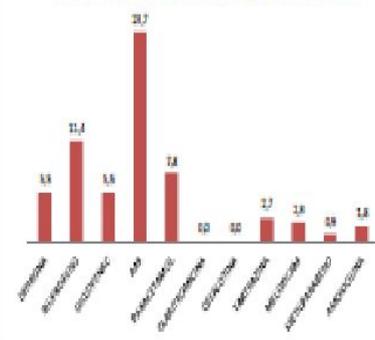
Porcentaje de pacientes con TDBH positivos



Porcentaje de pacientes positivos TDBH según edad



PORCENTAJE DE PACIENTES CON TDBH POSITIVOS



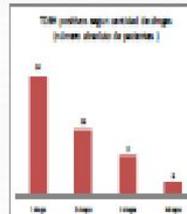
La mayoría de los pacientes de nuestra población presentaron TDBH + a AAS, Ibuprofeno y Paracetamol

PACIENTES	AAS	Ibuprofeno	Clonazepam	Clorazepato	Alprazolam	TOTAL
1	Positivo					101
2	Positivo	Positivo				15
3	Positivo	Positivo	Positivo			18
4	Positivo			Positivo		18
5	Positivo					14
6	Positivo					101
7	Positivo					18
8	Positivo					101
9	Positivo	Positivo	Positivo			15
10	Positivo	Positivo		Positivo		18
11	Positivo			Positivo		14
12	Positivo	Positivo				18

De los 101 pacientes positivos:

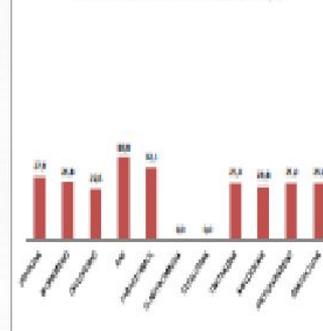
17 tuvieron solicitado IgE total

- 12 Pacientes valor mayor de 100 UI/ml
- 10 Pacientes fueron TDBH positivas para AAS



En relación a la sospecha clínica y según las solicitudes, observamos que el AAS y el Paracetamol son las drogas con mayor frecuencia de casos de TDBH positivos. El resto de las drogas y combinaciones no muestra diferencias.

PACIENTES CON TDBH POSITIVOS(DROGA) (%)



## CONCLUSIONES

De 219 pacientes, 101 fueron positivos con correlación TDBH/clínica/tiempo de aparición de los síntomas e Ingesta del medicamento/conservante. En algunos casos posteriormente se confirmó con test de provocación y en otros con la clínica de los pacientes.

El TDBH es un método inocuo y eficaz para sustentar el diagnóstico de alergia a medicamentos. Consideramos al TDBH una herramienta diagnóstica con buena especificidad a ser tomada en cuenta antes de realizar un desafío oral.

## REFERENCIAS

- Fruhen et al (EAAC) Position paper on biological allergy test 2004
- Consensus Internacional sobre Alergia a Fármacos (CICIF) 2010
- Respiril Reactivity to Gramicidin: Immediate Drug Hypersensitivity Reaction Potential and Limitations. Markus Steiner, Andre-Henri, and Martin Hirsj. Frontiers Pharmacology, June 2016 (Volume) Article 71
- Relación de Marcas Inmunológicas *in vitro* para el diagnóstico de alergias farmacológicas(200-201). John Freddy Cuervo Pérez, Julián Carol Arango y Jairoth Antonio Cardona-Vélez. Rev Española Pediatr 2014; 60: 67-68.
- Medicina Alergia Asentada, 2016, Pagina: 225-247
- Alergia a medicamentos evaluada con la prueba de Ghiesey modificada. Serie de casos: Alejandra Mora Nieto, Nora Hilda Segura Méndez, Víctor Almeida Ariza, María Teresa Díaz Torres, Teresa Martínez Pérez (Revista Alergia México 2008;52(1):68-69)