

Detección de IgE específica frente a componentes alérgicos a través de un microarray

La utilización de micromatrices de proteínas supone un enfoque nuevo en el abordaje complejos casos de Alergia.

Este novedoso sistema recibe el nombre de ISAC (Immuno Solid-phase Allergen Chip). Es un inmunoensayo miniaturizado en fase sólida basado en la tecnología moderna de biochip, donde los componentes alérgicos se inmovilizan en un microarray (portaobjetos) con capacidad para analizar cuatro muestras de suero (Fig 1).

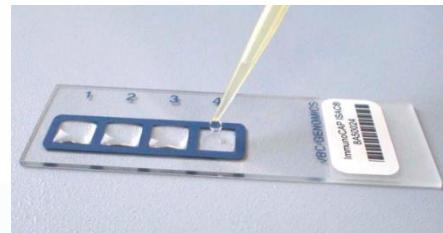


Fig 1. Plataforma de un ISAC

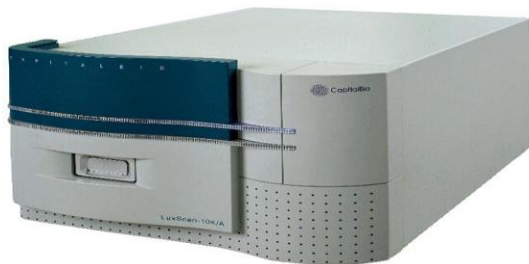


Fig 2. Scanner de ISAC

Los componentes alérgicos del microarray reaccionan con la IgE específica de la muestra de suero del paciente y son detectados por un anticuerpo secundario (Anti-IgE humana) marcado con un fluorocromo.

A continuación se realiza la medida de la fluorescencia mediante un scanner de microarrays (Fig 2)

El procedimiento de análisis de la muestra supone un tiempo total de ensayo de menos de 4 horas (Fig 3).

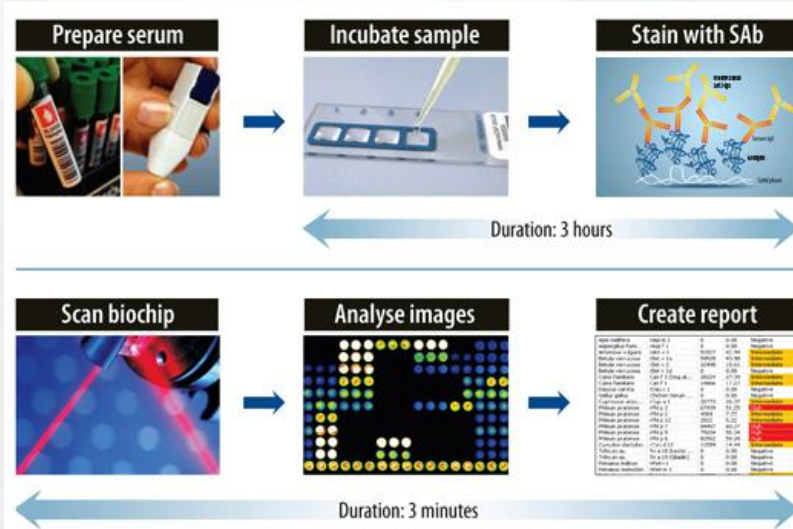


Fig. 3 Pasos de la técnica ISAC

Catlab Informa

Los resultados de la prueba se analizan con el software Phadia Microarray Image Analysis (MIA) y se evalúan por el facultativo responsable. En ellas si existe presencia de IgE específica frente a un determinado alérgeno se emite una señal fluorescente (Fig. 4). La intensidad de la señal fluorescente va del azul (menos intensa) al rojo (más intensa). Cuanto más intensa sea el valor de respuesta más IgE específica habrá en la muestra. Los resultados se expresan de forma semicuantitativa en unidades estandarizadas en un intervalo de medición de 0.3 a 100 ISU ISAC para IgE específica (Fig. 5).

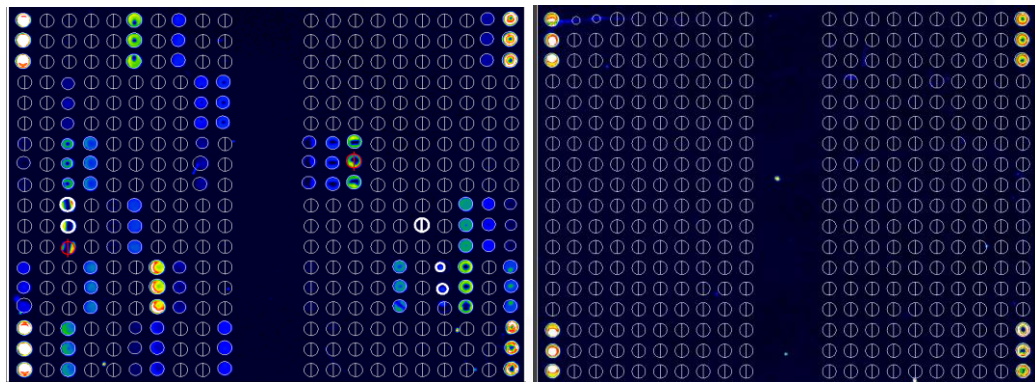


Fig 4. Imágenes de escaneo de dos ISAC de un paciente con alto grado de sensibilización y otro con resultado negativo, realizadas en el área de Inmunología de nuestro laboratorio.

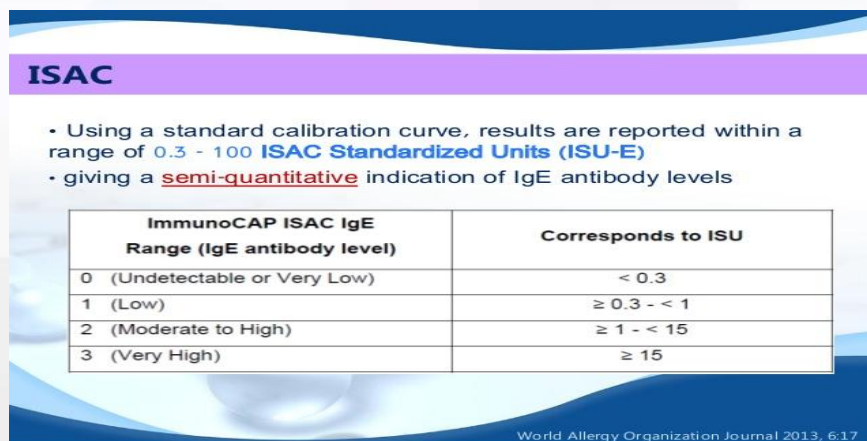


Fig. 5 Resultados semicuantitativos

El software MIA tiene una interfaz accesible y permite la lectura automática y generación de informes de resultados estructurados y personalizados.

Catlab Informa

Esta moderna tecnología permite la medición simultánea de anticuerpos IgE frente a un panel fijo de 112 componentes de más de 50 fuentes alérgicas (alimentos, pólenes, látex, epitelios... Fig 6), utilizando únicamente 30 µl de suero o plasma, de suma importancia sobre todo en niños de corta edad donde la cantidad de suero disponible es reducida.

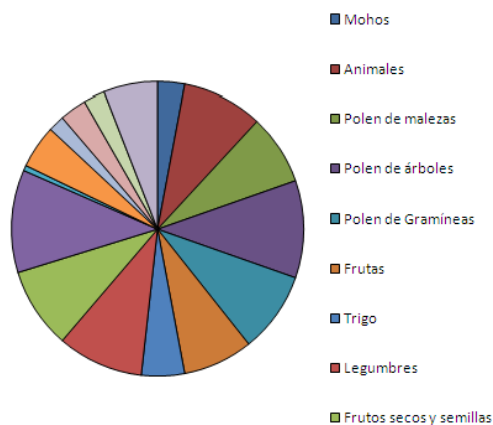


Fig 6. ImmunoCAP ISAC contiene un amplio panel de alérgenos. JOURNAL No.2. 2015 ImmunoDiagnostic

Los alérgenos en el ISAC quedan agrupados según sus características. Ello tiene un interés clínico, pues explican reactividades cruzadas y permiten diferenciar sensibilizaciones graves. Podemos diferenciar entre alérgenos especie-específicos de aquellos responsables de reactividades cruzadas (LTPs, TLPs, Tropomiosinas, Parvalbumina, Albúmina sérica, Profilinas, Polcalcinas, Lipocalinas, Proteína PR-10, Profilina, y CCD).

Obtener este perfil de sensibilización tan completo nos ofrece información complementaria a los resultados obtenidos mediante análisis basados en extracto total o componentes alérgicos individuales. En un solo paso es posible determinar el perfil de sensibilización global a diferentes fuentes alérgicas de un paciente, siendo importante no solo la presencia sino también la ausencia de reactividad para poder orientar el diagnóstico y el tratamiento del paciente.

Las principales aplicaciones del diagnóstico basado en un panel molecular de alérgenos son:

Catlab Informa

- **Mejorar el diagnóstico** en **pacientes polisensibilizados** a alimentos, inhalantes i/o venenos de himenópteros. Estos pacientes presentan un perfil complejo de sensibilización que incluye múltiples alimentos y pólenes según el diagnóstico convencional a partir de extracto total. El uso de ISAC permite clarificar las verdaderas causas de la reacción alérgica, dilucidando si se trata de sensibilizaciones primarias a múltiples fuentes alérgicas o un fenómeno de reactividad cruzada entre alérgenos. Evitando realizar estudios de extensos paneles de extractos totales, pudiendo evaluar la participación de moléculas de reactividad cruzada y permitiendo diferenciar sensibilizaciones que pudieran ser graves de otras no tan alarmantes (*Fig. 7*).

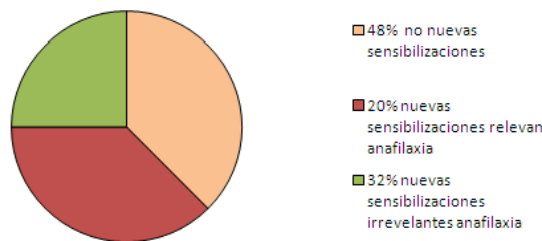


Fig 7. Resultados de ISAC que ayudaron al estudio de sensibilizaciones que derivaron en anafilaxia. Heaps et Al..

- **Evitar errores diagnósticos**, especialmente en pacientes donde no se observa una clara correlación entre la positividad de los test convencionales de alergia i los síntomas.
- **Evitar errores terapéuticos** en la composición y elección de las vacunas alérgicas.
- **Evaluar aquellos casos más complejos**, como son aquellos con una historia clínica inconsistente, dermatitis atópica, alergia i esofagitis eosinofílica o con una respuesta no satisfactoria al tratamiento.
- Evaluar pacientes con **anafilaxis idiopática**.
- Detectar **sensibilizaciones no esperadas**.

En conclusión esta técnica proporciona a los clínicos una visión general del perfil alérgico del paciente en una sola determinación. Aporta información de reacciones alérgicas especie - específica y reacciones cruzadas, lo que va a mejorar el diagnóstico,

Catlab Informa

permitir evaluar riesgos, manejar la enfermedad y determinar la efectividad de la inmunoterapia.

Desde el mes de Julio tenemos disponible en el área de Inmunología de nuestro laboratorio este microarray para detectar IgE específica desde los servicios especializados de Alergia, con un tiempo de entrega de resultados de pocos días.

Bibliografía:

Heaps A, Carter S, selwood C, Moody M, Unsworth J, Deacock S, et al. **The utility of the ISAC allergen array in the investigación of idiopathic anaphylaxis.** Clin Exp Immunol. 2014 Aug;177(2):483-90.

Carter S, Heaps A, Boswijk K, Jolles S, Kaminski E. **Identification of clinically relevant allergens using the Phadia ISAC microarray in patients with idiopathic anaphylaxis.** Clin Exp Allergy. 2012;42(12):1829-30

Paco Pujalte

Immunología

CATLAB

Tel. 93.748.56.00 - ext. 5035

Sandra Calabuig

Immunología

CATLAB

Tel. 93.748.56.00 - ext. 35035 / 628 16 85 00
