

Detección de IgE específica frente a componentes alérgicos por medio de un microarray.

Esta técnica permite identificar la presencia de anticuerpos IgE específicos frente a múltiples componentes alérgicos por medio de un ensayo semicuantitativo que proporciona el perfil de sensibilización de los pacientes. En el Servicio de Alergia del Hospital La Fe se realiza por medio de **ImmunoCAP ISAC® sIgE 112** (Phadia-ThermoFisher).

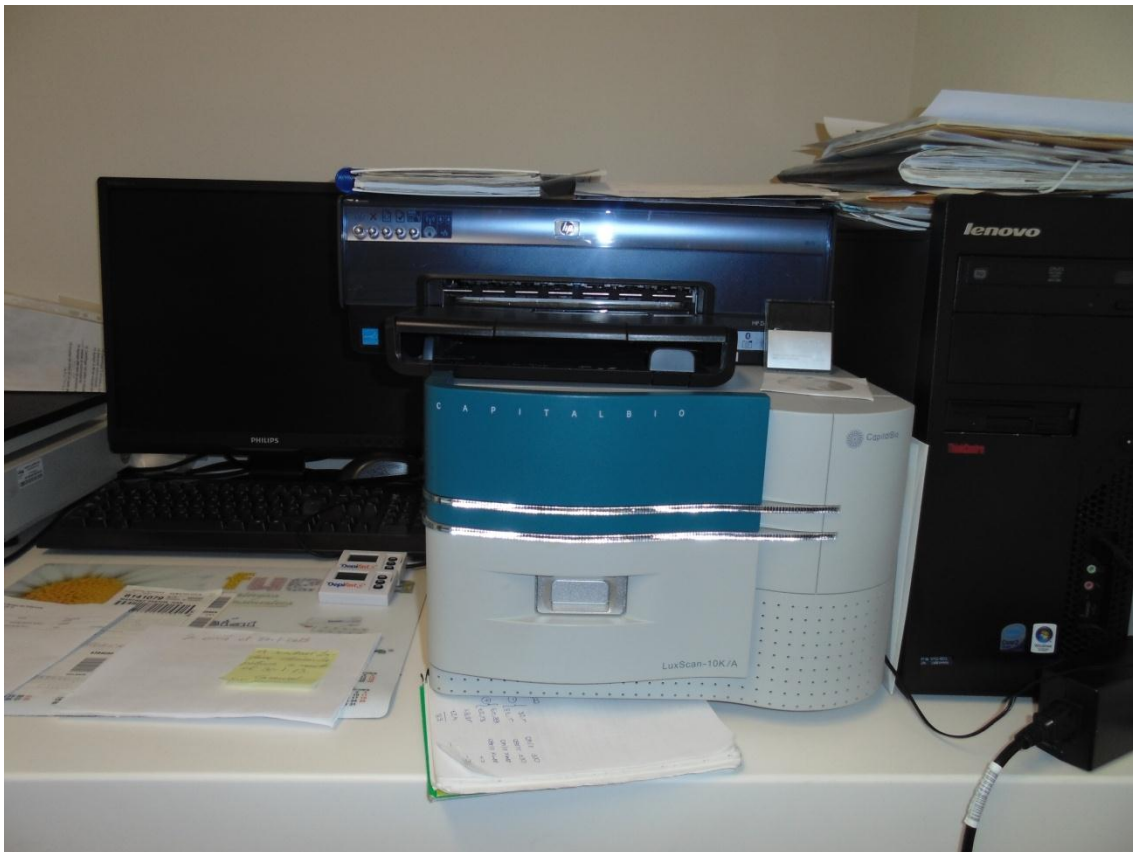


Figura 1. Escáner y software de ISAC®.

Procedimiento

ImmunoCAP ISAC® sIgE 112 es un inmunoensayo de fase sólida. Los componentes alérgicos son inmovilizados en un sustrato sólido en formato de micromatriz (portaobjetos) y reaccionan

con la IgE específica de la muestra de suero del paciente. Después de eliminar la IgE no específica, aquellos componentes que reaccionan con el suero son detectados por un anticuerpo secundario (Anti-IgE humana) marcado con un fluorocromo. Tras la incubación, los anticuerpos anti-IgE marcados que no se han unido se eliminan mediante un nuevo lavado. El procedimiento va seguido de la medida de la fluorescencia mediante un escáner de micromatriz. La intensidad de la señal fluorescente va del azul (menos intensa) al rojo (más intensa). Cuanto más elevado sea el valor de respuesta, más IgE específica habrá en la muestra.

Los resultados de la prueba se analizan con el software Phadia Microarray Image Analysis (MIA) y se calculan unidades estandarizadas ISAC para IgE específica (ISU-E).

Tan sólo bastan 30µl de suero o plasma por paciente para realizar esta prueba que incluye 112 componentes alérgicos.

Estructura

Se trata de un portaobjetos con cuatro chips donde se pueden analizar cuatro muestras de suero a la vez. En cada chip hay 112 pocillos, cada uno con un componente alérgico distinto unido a la matriz sólida.

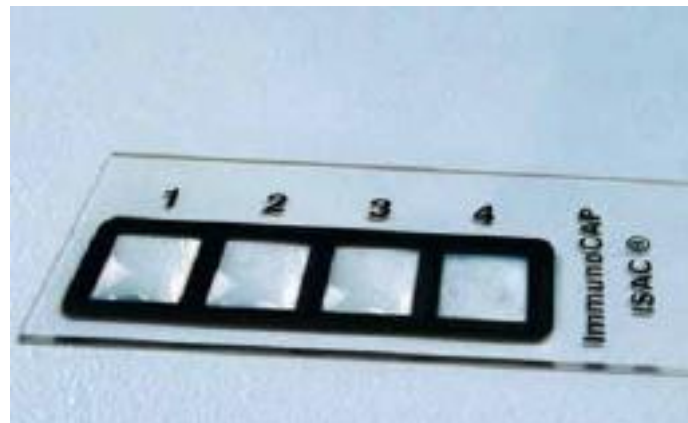





Figura 2. Plataforma de un microarray.

El resultado es positivo si la IgE específica se une al componente alérgico. Si no se produce esta unión, el resultado es negativo.

Los resultados se pueden presentar semicuantitativamente en 4 niveles (0=no detectable o muy bajo, 1=bajo, 2=moderado a alto, 3= muy alto).

| ISAC unidades estandarizadas(ISU-E) | Nivel | |
|-------------------------------------|----------------|---|
| < 0.3 | Indetectable | |
| 0.3 - 0.9 | Bajo |  |
| 1 - 14.9 | Moderado /alto |  |
| ≥ 15 | Muy alto |  |

Cada paciente sensibilizado tendrá un perfil individual de anticuerpos IgE cuando se analiza en ImmunoCAP ISAC® sIgE 112.

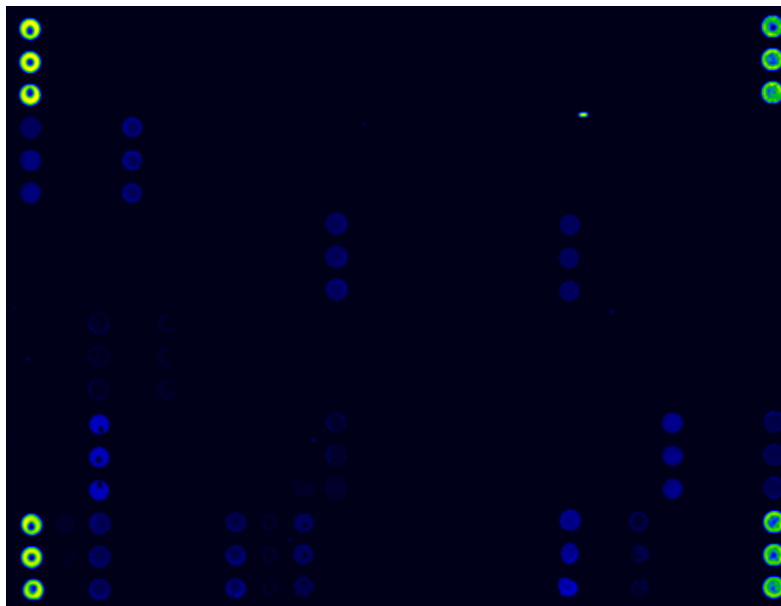


Figura 5. Imagen de la lectura de un chip de ISAC®.

Dependiendo de la sintomatología, el entorno y las condiciones de los pacientes, se pueden definir patrones de sensibilización. Algunos son muy característicos y permiten explicar cuadros clínicos complejos, como en el caso de sintomatología debida a panalergenos, presentes en diversas fuentes alérgicas. Un caso típico es el de los pacientes sensibilizados a panalergenos presentes en pólenes y alimentos vegetales. En otros casos los patrones pueden ser diferentes, expresando la existencia de múltiples sensibilizaciones alérgicas.

En la Figura 6 se presenta el resultado de un paciente alérgico a pólenes de gramíneas, trigo, pólen de plátano de sombra y gato.

1. Sumario de los resultados positivos IgE

| Componentes alimentarios especie-específicos | | | | |
|---|-----------|--|-----------|---|
| Trigo sarraceno | nFag e 2 | Proteína de almacenamiento, 2S albúmina | 0,6 ISU-E | ■ |
| Trigo | rTri a 14 | Proteína transportadora de lípidos (LTP) | 1,2 ISU-E | ■ |
| Componentes aeroalergenos especie-específicos | | | | |
| Polen de gramíneas | | | | |
| Gramma mayor | nCyn d 1 | Gramínea grupo 1 | 2,2 ISU-E | ■ |
| Hierba Timotea | rPhl p 1 | Gramínea grupo 1 | 3,1 ISU-E | ■ |
| | rPhl p 2 | Gramínea grupo 2 | 1,6 ISU-E | ■ |
| | nPhl p 4 | Enzima cortadora de berberina | 0,4 ISU-E | ■ |
| | rPhl p 5 | Gramínea grupo 5 | 2 ISU-E | ■ |
| Polen de árboles | | | | |
| Plátano de sombra | rPla a 1 | Inhibidor putativo de la invertasa | 1,9 ISU-E | ■ |
| | nPla a 2 | Poligalacturonasa | 0,6 ISU-E | ■ |
| Animales | | | | |
| Gato | rFel d 1 | Uteroglobina | 0,5 ISU-E | ■ |

Figura 6. Ejemplo de resultado de un microarray de IgE específica.

Ramón López Salgueiro
Belén García Lorenzo
Dolores Hernández F. de Rojas
Servicio de Alergia
Hospital La Fe, Valencia