



Fundación
J. L. Castaño

Para el desarrollo del Laboratorio clínico

CASOS CLÍNICOS DE EDUCACIÓN CONTINUADA

Ed Cont Lab Clín; 29: 79 - 89

SEQC^{ML}

Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

2016-2017

NIÑO DE 6 AÑOS DE EDAD CON TOS CRÓNICA Y REACCIÓN URTICARIAL A ALIMENTOS.

Pilar Ocón Sánchez

Anita Dayaldasani Khialani

Boris Battikhi Vilar

UGC Intercentros de Laboratorio. Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga

EXPOSICIÓN DEL CASO

Paciente de 6 años de edad que acude a su pediatra por tos crónica, sensación de disnea al reír, reacción urticarial ante la toma de marisco (gamba) y vómitos ante la ingestión de huevo, así como picor en la garganta ante la toma de frutos secos. Presenta frecuentes episodios de epistaxis.

Hasta esta consulta sus revisiones periódicas han sido normales.

Antecedentes personales: Embarazo normal, que termina en cesárea por prematuridad (7 meses). Peso al nacer: 2500 g. Persistencia de ductus que cierra sin necesidad de medicación. Lactancia materna 40 días.

Dermatitis atópica severa desde los 2 años de edad.

Antecedentes familiares: sin interés.

Exploración: Peso 22 Kg talla 122 cm. Rinorrea mucosa, resto exploración normal.

Se solicita analítica con estudio de aeroalérgenos y alérgenos alimentarios, cuyo resultado es:

IgE total	4590 UI/mL (VR <90 UI/mL)
Mezcla alimentos	19.30 KU/L (VR<0.10 KU/L)
Mezcla epitelio animal	22.10 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Mezcla mohos	<0.10 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Mezcla arboles	53.50 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Mezcla malezas	13.80 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Mezcla gramíneas	2.04 KU/L (VR<0.1 KU/L)

Tabla 1: Resultados del estudio de cribado de alérgenos.

Ante este resultado el laboratorio realiza alérgenos individuales con el siguiente resultado:

Caspa de gato	11.1 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Caspa de caballo	1.99 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Caspa de perro	1.41 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Caspa de vaca	0.40 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Olivo	66.3 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Pino	0.96 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Eucalyptus spp	1.12 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Clara de huevo	5.19 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Pescado	1.74 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Trigo	3.68 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Cacahuete	13.7 KU/L (VR<0.1 KU/L)
Soja	5.58 KU/L (VR<0.1 KU/L)

Tabla 2: Resultados del estudio de alérgenos específicos.

El pediatra de Atención Primaria lo deriva para consulta especializada de alergia pediátrica.

En la consulta de alergia le realizan prick test con resultados positivos para huevo, gamba y frutos secos por lo que, ante clínica compatible, es diagnosticado de alergia a clara de huevo, frutos secos y crustáceos. Se le recomienda seguir tomando aquellos alimentos que tolera (huevo elaborado) y se le pauta tratamiento con antihistamínicos si presenta reacción, y autoinyector de adrenalina por posibilidad de crisis.

En la siguiente revisión, un año después, se constata reacción con exantema con la toma de pescado y flan. Pero sigue tolerando huevo en empanados. (Analítica 2013).

Revisión tras un año (2014): el paciente toma huevo elaborado en galletas, bizcochos y empanados, sin presentar sintomatología. No ha probado huevo cocido ni otra preparación. Toma lenguado, sin introducir otros pescados. No toma crustáceos. Toma galletas con almendras con buena tolerancia.

Presenta hidrorrea, prurito nasal y broncoespasmo ocasionalmente a lo largo de todo el año con empeoramiento en primavera, que cede con broncodilatadores y antihistamínicos. Se realiza prick test a neumoalérgenos con resultado de pápula mayor que histamina a olivo y parietaria. Positividad a ballico, artemisa, salsola, ácaros y epitelio de perro. Negativo para gramíneas, alternaria, *Lepidoglyphus*, gato y profilina.

Se diagnostica de polisensibilización a neumoaérgenos.

Se recomienda continuar alimentación con huevo elaborado, e introducir en la dieta huevo cocido poco a poco. Tomará productos elaborados con almendra y mantendrá lo que tolere. Introducción de pescados blanco y azul progresivamente.

Volver tras un año y valorar posible inmunoterapia.

	2012	2013	2014
Clara huevo	3.64		
Yema huevo	1.90		
Ovoalbúmina	3.89		
Ovomucoide	<0.1		
Cacahuete	20.6	29.7	22.3
Almendra	4.33		
Avellana		15.5	6.89
Nuez		13.9	6.68
Camarón	14.5	17.6	16.5
Anchoa(Boquerón)		<0.1	
Pescado (bacalao)		0.82	
D. pteronyssinus			18.7
D. farinae			13.8
L. Destructor			0.69
Olivo			>100
A.Alternaria			<0.1
Derp 10			1.13
Ara H2			20.7
Ara H9			14.4
Cor A8			5.06

Tabla 3: Resumen de resultados obtenidos frente a distintos alérgenos en las diferentes analíticas realizadas. (Valores en kU/L) (VR<0.1 KU/L).

RESOLUCIÓN DEL CASO

Las enfermedades alérgicas son unas de las patologías crónicas más frecuentes en la edad infantil y su prevalencia está en constante aumento. Comprenden una serie de patologías de expresión clínica muy diversa (respiratoria, cutánea, digestiva o multiorgánica) y de gravedad variable mediadas inmunológicamente.

Se producen por la entrada de antígenos (Ag) por la piel o las mucosas del tracto gastrointestinal y respiratorio, los cuales son captados por las células presentadoras de antígeno que estimulan a los linfocitos Th2 a secretar citoquinas para activar a los linfocitos B y producir Inmunoglobulina E (IgE) específica contra el Ag. La IgE se fija a receptores ubicados en la membrana celular de los mastocitos, basófilos y eosinófilos, generando la sensibilización al alérgeno. (Figura 1)

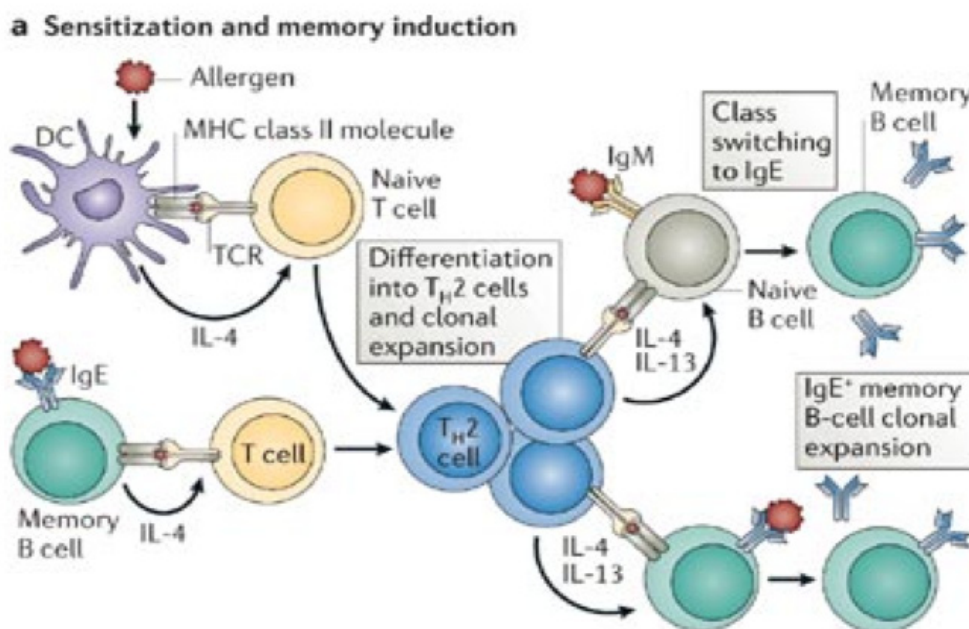


Figura 1: Sensibilización a alérgenos y desarrollo de memoria específica de células B y T.

La diferenciación y expansión clonal de las células específicas T helper 2 (TH2) conlleva la producción de citoquinas (interleukina-4 (IL-4) e interleukina-13 (IL-13), que induce un cambio de clase de inmunoglobulinas a IgE y a la expansión clonal de poblaciones de células B naive IgE+. La IgE en la superficie de células B específicas a alérgenos IgE+ y otras células presentadoras de antígeno sensibilizadas facilitan la presentación del antígeno. La activación de células T y la presencia de IL-4 aumenta la diferenciación a células TH2.

De: Larché et al. *Nature Reviews Immunology* 6, 761–771 (October 2006) | doi:10.1038/nri1934.

Cuando el individuo se expone al Ag, éste se une a la IgE de las células sensibilizadas lo que conduce a una degranulación celular y a la liberación de mediadores vasoactivos e inflamatorios como histaminas, factores quimiotácticos, leucotrienos y factores activadores de plaquetas que causan los signos de las alergias, como vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar, hipersecreción glandular, espasmo de músculo liso e infiltración

tisular de eosinófilos y otras células inflamatorias responsables de la sintomatología. Estos mecanismos explican las manifestaciones clínicas de enfermedades como rinitis, conjuntivitis, asma, urticaria, dermatitis atópica, alergias físicas y alergias a alimentos, fármacos y picaduras de insectos. (Figuras 2 y 3)

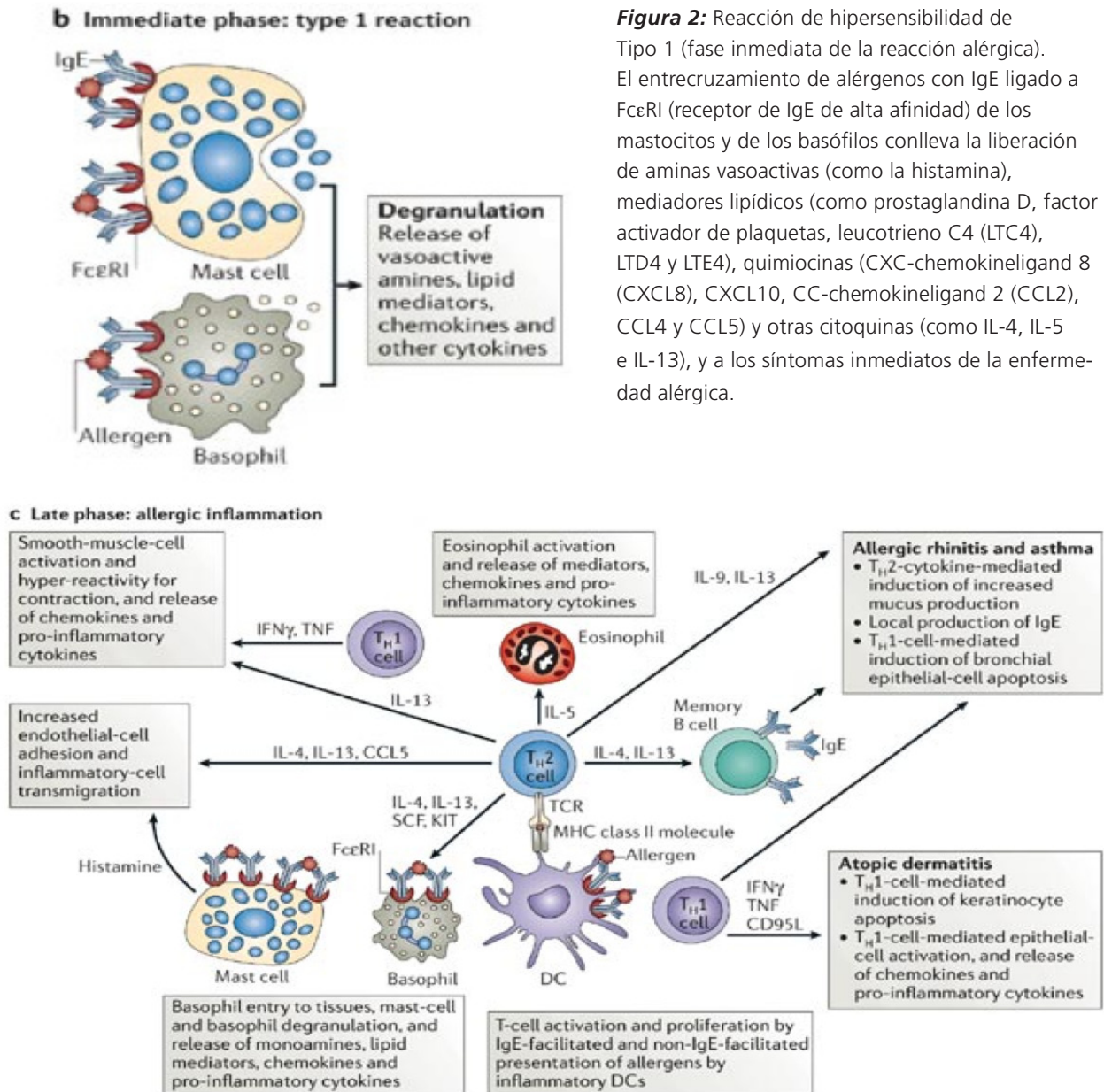


Figura 2: Reacción de hipersensibilidad de Tipo 1 (fase inmediata de la reacción alérgica). El entrecruzamiento de alérgenos con IgE ligado a FcεRI (receptor de IgE de alta afinidad) de los mastocitos y de los basófilos conlleva la liberación de aminas vasoactivas (como la histamina), mediadores lipídicos (como prostaglandina D, factor activador de plaquetas, leucotrieno C4 (LTC4), LTD4 y LTE4), quimiocinas (CXC-chemokineligand 8 (CXCL8), CXCL10, CC-chemokineligand 2 (CCL2), CCL4 y CCL5) y otras citoquinas (como IL-4, IL-5 e IL-13), y a los síntomas inmediatos de la enfermedad alérgica.

Figura 3: Inflamación alérgica (fase tardía de la reacción alérgica). Tras la migración a los sitios de exposición alérgica bajo la influencia de quimioquinas y otras citoquinas, las células T alérgeno específicas se reactivan y se expanden clonalmente. La presentación de antígenos facilitado por IgE de las células dendríticas (DC) aumenta la activación de las células T. Se puede observar la producción local de IgE en la rinitis alérgica y asma pero no en la inflamación cutánea alérgica (cuyo ejemplo principal es la dermatitis atópica). Los eosinófilos son unas de las células inflamatorias principales (constituyendo hasta el 50 % del infiltrado celular) en los pulmones de los individuos asmáticos, pero no en la piel de los que padecen dermatitis atópica (1-2 % del infiltrado celular). Las células TH1 que producen interferon- γ (IFN γ) y el factor de necrosis tumoral (TNF) contribuyen a la activación y apoptosis de los queratinocitos (en la piel), células epiteliales bronquiales y células musculares lisas pulmonares. La activación de mastocitos y basófilos que liberan histamina y otras citoquinas, contribuyen también a la fase tardía de la reacción alérgica.

DIAGNÓSTICO

Una historia clínica detallada es la principal herramienta en el diagnóstico de las enfermedades alérgicas, tras lo cual hay que establecer la gravedad mediante criterios clínicos y funcionales y por último determinar los alérgenos responsables mediante pruebas "in vivo" e "in vitro", lo cual nos permitirá establecer el tratamiento adecuado en cada paciente.

HISTORIA CLÍNICA

No se han de olvidar en la historia clínica los *antecedentes familiares*, porque aunque su ausencia no excluye el diagnóstico, hay mayor probabilidad de padecer alergia en hijos de padres alérgicos.

Además se debe prestar también especial atención a los *antecedentes personales* de atopia.

CRITERIOS CLÍNICOS Y FUNCIONALES DE GRAVEDAD

Para la valoración de la gravedad son necesarios los datos clínicos de la anamnesis y los datos de exploraciones complementarias y funcionales. Pueden existir discrepancias entre los diversos datos de gravedad, por ejemplo, pueden existir datos funcionales de mayor gravedad en pacientes que clínicamente están muy bien, y viceversa. Los datos funcionales son representativos del día en que se realizan, mientras que los datos de la anamnesis recogen información de periodos largos de tiempo.

Entre los datos clínicos de gravedad a valorar en la anamnesis están: frecuencia y duración de los síntomas, gravedad funcional, presencia de complicaciones, estado en intervalos entre agudizaciones, respuesta a la medicación de rescate y preventiva, evolución global de los síntomas, repercusión personal, escolar, en el sueño, familiar y socio-sanitaria.

La combinación de estos datos y los datos que pudieran proporcionar estudios funcionales, como la espirometría en el asma, permiten asignar una gravedad al síndrome objeto de estudio.

PRUEBAS IN VIVO E IN VITRO PARA EL DIAGNÓSTICO ALERGOLÓGICO

Entre las **pruebas in vivo** está el *prick test*, que es de lectura inmediata, y es con diferencia el más utilizado. Es barato, inocuo y permite resultados rápidos, reproduciendo la reacción de hipersensibilidad de Tipo I. Consiste en realizar una punción a través de una gota de extracto alérgico colocada en la epidermis, que posibilita que los componentes alérgicos se unan a moléculas de IgE específicas fijadas a la superficie mastocitaria, induciendo la activación de estas células. A los cinco minutos de la inoculación del alérgeno comienza la liberación de histamina y triptasa, que son los responsables de la formación de pápula

y eritema. Salvo en caso de contraindicación son de gran utilidad, presentando una alta sensibilidad y especificidad.

La *intradermorreacción (IDR)* consiste en inyectar 0,05 - 0,1 mL del extracto (específico para IDR, en solución salina en una concentración de 1.000 a 10.000 veces menor que para Prick), considerándose positiva la aparición de una pápula de al menos 5 mm de diámetro. Esta prueba se usa para el diagnóstico de alergia a fármacos e himenópteros.

La *prueba de parche epicutáneo (patch test)*, consiste en una exposición experimental limitada local y temporalmente, comprobando el efecto irritativo de determinada sustancia, además de la facilidad del paciente para adquirir eccemas de contacto.

Por último, las *pruebas de provocación*, se usan para confirmar el diagnóstico cuando hay discrepancia entre clínica y sensibilización. Consisten en la administración controlada y gradual de la sustancia sospechosa a través de diferentes vías: oral en el caso de trofoalérgenos, y conjuntival, nasal o bronquial en el caso de neumoaalérgenos. Al no estar exentas de riesgo, deberán efectuarse por personal cualificado en el ámbito hospitalario, tomando las precauciones necesarias.

Las **pruebas in vitro** son un complemento diagnóstico de la historia y test cutáneos, o sustituyen a las técnicas in vivo cuando éstas no pueden realizarse. In vitro podemos determinar IgE específicas, mediadores celulares de la inflamación y mediadores de anafilaxia.

Determinación de IgE total

La IgE tiene una alta especificidad para unirse a alérgenos. Al unirse la IgE con su alérgeno específico (mediante el receptor Fab), las células son activadas y liberan mediadores inflamatorios. Sin embargo, el valor de IgE total tiene una correlación débil con la presencia de enfermedad alérgica, por lo que no debe utilizarse para cribado diagnóstico.

Determinación de anticuerpos IgE específicos

La presencia de anticuerpos IgE específicos frente a un alérgeno indica sensibilización pero no es por sí sola una enfermedad. Debe ser valorada siempre en el contexto clínico para determinar si su positividad está relacionada con los síntomas alérgicos que presenta el paciente. En caso contrario se habla de sensibilización subclínica.

Aunque clásicamente los valores de IgE específicos se han distribuido en clases, es más interesante el valor absoluto, puesto que las clases agrupan valores muy dispersos que pueden asociarse a pronósticos clínicos muy diversos.

Ante un paciente con sospecha clínica de alergia podemos en primer lugar realizar determinaciones de IgE específica de los alérgenos más prevalentes, dependiendo del clima, zona geográfica, etc. y sobre todo en las alergias alimentarias orientado por edades.

Así, en niños pequeños es muy útil realizar un estudio frente a una mezcla de alimentos que incluyen leche, clara de huevo, pescado blanco, trigo, cacahuete y soja. Un resultado negativo tiene un alto valor predictivo negativo en niños menores de 4 años. En caso de positividad se identificarán los alérgenos de forma individual.

Igualmente, una mezcla de aeroalérgenos tanto estacionales como perennes (ácaros, caspas animales, mezclas de pólenes de árboles, malezas y gramíneas y mohos) es capaz de detectar sensibilización en un alto porcentaje de pacientes.

Tras la realización de estas mezclas se procede a identificar los alérgenos causales mediante extractos individuales. De esta forma se optimizan los recursos.

Cuando el paciente es derivado al alergólogo éste realizará pruebas in vivo que hará más precisa la orientación diagnóstica.

Aunque tradicionalmente se utilizaron técnicas de radioinmunoensayo para medir la IgE, actualmente se utilizan más las técnicas de fluoroinmunoanálisis o ensayos quimioluminescentes. Además, recientemente, se ha introducido la técnica de los microarrays para medir IgE específica frente a componentes múltiples recombinantes o alérgenos naturales purificados. Esta técnica permite la determinación de un número elevado de alérgenos con poca cantidad de suero.

Otros test diagnósticos in vitro de interés son el test de *liberación de histamina*, que es un test de utilidad limitada en la práctica clínica y se utiliza fundamentalmente en investigación; el *test de activación de basófilos*, que mide la proteína CD63 expresada en la superficie de los basófilos activados y es el marcador más eficaz de su degranulación; y la medición de las concentraciones de *triptasa sérica*, que es el biomarcador más útil para valorar la activación y degranulación mastocitaria.

Por último, y ante la posibilidad de indicación de inmunoterapia, y para orientar el pronóstico y prever la gravedad del proceso, se pueden estudiar alérgenos naturales o recombinantes de proteínas individuales, esto es lo que se denomina *diagnóstico molecular o diagnóstico por componentes*. (Figura 4)

Con el diagnóstico molecular podemos identificar el perfil de sensibilización alérgica del paciente a escala molecular, mediante moléculas alérgicas purificadas naturales o recombinantes, en sustitución de extractos alérgicos. Esto nos permite identificar las sensibilizaciones genuinas (a proteínas propias de una especie) de aquellas que se producen por moléculas que pertenecen a familias muy conservadas en un conjunto muy diverso de especies que desencadenan reacciones por reactividad cruzada (panalérgenos).

Los perfiles de sensibilización alérgica personalizados además permiten la evaluación del riesgo individual de severidad a una reacción alérgica y predecir el curso natural. Asimismo, en este contexto el diagnóstico molecular ha mostrado que los perfiles de sensibiliza-

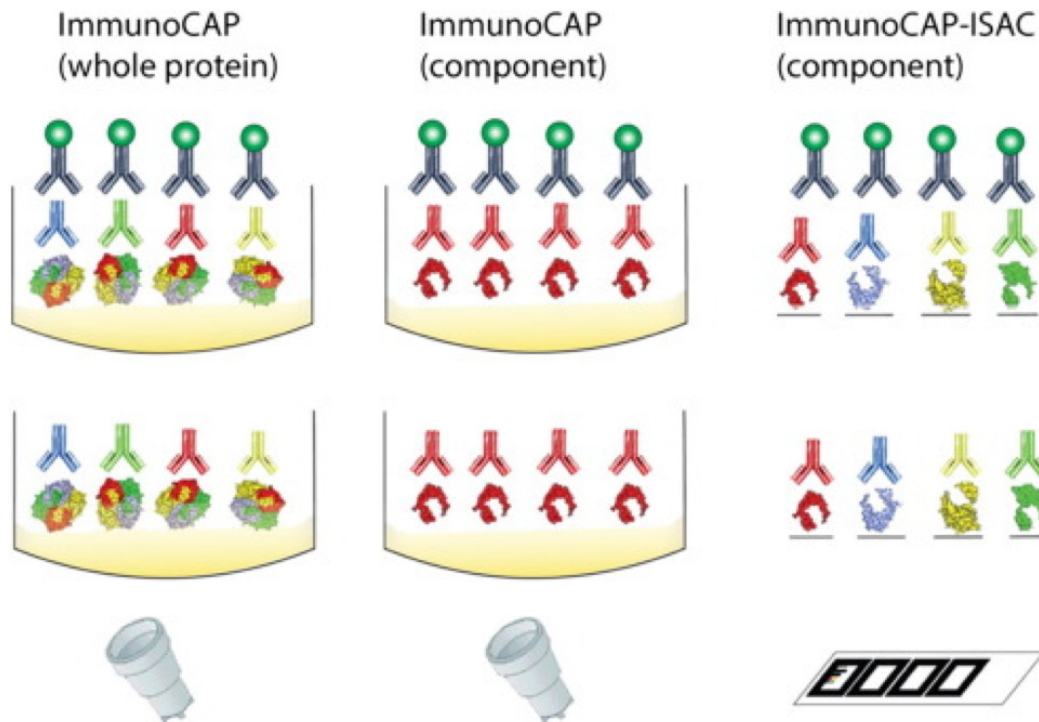


Figura 4: Principio de medida de IgE específica

En FEIA ImmunoCAP convencional (paneles de la izquierda), un extracto heterogéneo de proteína con diferentes componentes de interés se coloca en una fase sólida de celulosa. Los Ac IgE específicos (sIgE) en el suero del paciente que reconocen el antígeno se unirán para formar un complejo Ag-Ac. Posteriormente se añade un conjugado enzimático de Ac IgE humano. Este Ac secundario se unirá al complejo inmune Ag-Ac. Finalmente se añade un sustrato que se metabolizará para producir una fluorescencia cuantificable.

En el diagnóstico por componentes están disponibles dos técnicas. Primero en un ensayo singleplex componentes simples purificados o recombinantes (por ejemplo, componentes proteicos o peptídicos) se colocan en una fase sólida (paneles centrales) y la detección de sIgE es exactamente igual a la técnica convencional. En el ensayo multiplex, componentes simples nativos y/o recombinantes se colocan en un portaobjetos recubierto de polímero (paneles de la derecha), los sIgE de la muestra del paciente se unen a estos componentes y estos Ac son detectados mediante un anti-IgE con fluorocromo. Finalmente, la reacción es escaneada en un scanner por láser y los resultados son evaluados por software de análisis de imagen.

De: Van Gasse A.L., Mangodt E.A., Faber M., Sabato V., Bridts C.H., EboD.G.. *Molecular allergy diagnosis: Status anno 2015. ClinicaChimica Acta 2015;444:54-61.*

ción pueden resaltar diferencias geográficas y por edad con resultados clínicos diferentes. El diagnóstico molecular puede facilitar también la selección de pacientes para la inmunoterapia específica frente alérgenos y contribuir a la monitorización de los efectos inmunológicos de la terapia.

Marcha alérgica

La enfermedad alérgica es un proceso crónico que evoluciona con la edad de tal forma que las manifestaciones atópicas pueden ir variando a lo largo de los años. Así muchos adultos asmáticos han tenido antecedentes de dermatitis atópica o trastornos digestivos los primeros años de vida.

La sensibilización a alimentos en lactantes a menudo se asocia a aparición de alergia a inhalantes en épocas posteriores de la vida. Esto es lo que se denomina "*marcha alérgica*". Por ello la identificación precoz es fundamental para realizar un seguimiento y tratamiento específico adecuado, y mejorar el pronóstico del paciente.

En este paciente vemos como se solicitan IgE específicas a diversas proteínas del huevo. El número total de componentes proteicos del huevo es muy elevado, pero entre los alérgenos más importantes identificados está la ovoalbúmina, ovomucoide, ovotransferrina y lisozima. El ovomucoide es un alérgeno mayor, es una proteína resistente al calor y las proteasas por lo que en los pacientes con elevadas IgE específicas a ovomucoide hay riesgo de reacciones graves con huevo cocido y crudo. Su positividad se considera factor de riesgo de alergia persistente.

También se le estudian posteriormente algunos componentes de los frutos secos a los que presenta sensibilización como son las proteínas AraH2 y AraH9 del cacahuete y Cor A8 de la avellana. La alergia al cacahuete presenta una prevalencia en aumento. Entre sus componentes proteicos es aceptado que Ara H1, Ara H2 y Ara H3 son alérgenos mayores, son estables al calor y resistentes a degradación gástrica. Ara H2 es el alérgeno más importante y presentan mayor efectividad diagnóstica.

Ara H9 es una proteína transportadora de lípidos (nsLTP). La sensibilización a esta proteína indica riesgo de reacciones locales y sistémicas, además al ser un panalérgeno puede indicar reactividad cruzada con otros alimentos y pólenes que contiene nsLTP.

Cor A8 es también una nsLTP, frecuentemente asociada a reacciones sistémicas y graves, puesto que es una proteína estable al calor y la digestión.

Así vemos como el diagnóstico molecular o por componentes mejora la utilidad clínica de las pruebas con extractos, siendo una herramienta de apoyo a la toma de decisiones clínicas. En casos concretos puede evitar el uso de pruebas de provocación en alergias alimentarias y mejorar la selección de inmunoterapia específica.

Los estudios de alergia son, pues, un requisito indispensable para la identificación de niños con alto riesgo de evolución a enfermedades alérgicas y para el correcto tratamiento específico tanto para la eliminación de alimentos de la dieta como los tratamientos con vacunas específicas.

BIBLIOGRAFÍA

Canonica GW, Ansotegui IJ, Pawankar R, Schmid-Grendelmeier P, van Hage M et al. A WAO – ARIA - GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. World Allergy Organ J 2013;6:17.

Cuervo-Perez JF, Arango JC, Cardona-Arias JA. Evaluación de técnicas inmunológicas in vitro para el diagnóstico de alergias: Metaanálisis 2000-2012 RevEsp Salud Pública 2014; 88:67-84.

Host A, Andrae S, Charkin S et al. Allergy testing in children: why, who, when and how?. Allergy 2003;58:559–569.

Mazón A, Uixera S, Nieto A. Historia clínica en alergia infantil. Protocolo diagn ter pediátr. 2013;1:121-33.

Sampson HA. Update on food allergy J.AllergyClinImmunol 2004;113(5):805-19.

Sastre J. Molecular diagnosis in allergy.ClinExpAllergy.2010;40:1442–60.

Torres Borrego J, Fontán Domínguez M. Pruebas diagnósticas en Alergología Pediátrica. Protocolo diagn ter pediátr. 2013;1:185-205.

Van Gasse A.L., Mangodt E.A., Faber M., Sabato V., Bridts C.H., EboD.G. Molecular allergy diagnosis: Status anno 2015. ClinicaChimicaActa 2015;444:54-61.

EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi (*Residente*), R. Deulofeu, M. Gassó, N. Giménez, A. Merino, A. Moreno, A. Peña (*Residente*), M. Rodríguez (*Presidente*), N. Rico, MC. Villà.

ISSN 1887-6463 – Mayo 2017 (recibido para publicación Septiembre 2016).