

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



Nuestra experiencia desde 2008 a 2016

María Patricia Gentili^{1*}, Romina Ranocchia¹, Lujan Colombo¹, Claudio Fantini^{2}**

¹Bioquímica, 1. Área Inmunología Fares Taie Instituto de Análisis, Mar del Plata
² Médico Jefe de Servicio de Alergia e Inmunología Clínica Colon y Hospital Regional Dr Alende HIGA.
Contacto: inmunologia@farestaie.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^{ra} 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 458 solicitudes de TDBH con sospecha de alergia a medicamentos y conservantes de 219 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 µl de la suspensión celular se incuban 15 minutos a 37°C con 5 µl de PBS (control negativo), 5 µl del alérgeno o de la droga a ensayar, o 5 µl de MLP 10-6 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)

PACIENTES	ASIS	IBUPROFENO	DICLOFENAC	PARACETAMOL	OPRIDONA	IGE TOTAL
1	POSITIVO					262
2	POSITIVO	POSITIVO				174
3	POSITIVO					256
4	POSITIVO					256
5	POSITIVO					154
6	POSITIVO					152
7	POSITIVO					252
8	POSITIVO					252
9	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO			252
10	POSITIVO	POSITIVO		POSITIVO		252
11	POSITIVO					154
12	POSITIVO					262

De los 101 pacientes positivos:

17 tuvieron solicitado IgE total

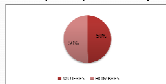
• 12 Pacientes valor mayor de 100 UI/ml

• 10 Pacientes fueron TDBH positivos para AAS

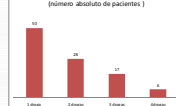
Frecuencia de pacientes con TDBH positivos



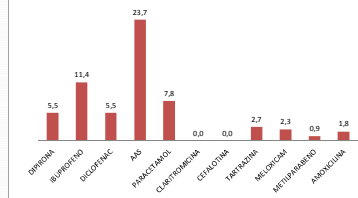
Distribución que emerge de los tests con TDBH y con IgE



TDBH positivos según cantidad de drogas
(número absoluto de pacientes)

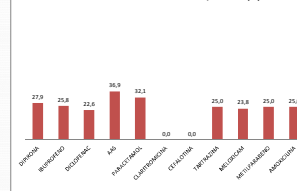


PORCENTAJE DE PACIENTES CON TDBH POSITIVOS



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

PACIENTES CON TDBH POSITIVOS/DROGA (%)



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 conservantes no muestra diferencias.

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 tenida en cuenta antes de realizar un desafío oral.

REFERENCIAS

- *Poulsen et al. EAACI Position paper on biological allergy test 2004
- *Consenso Internacional sobre Alergia a Fármacos (ICON) 2013
- *Basophil Reactivity as Biomarker in Immediate Drug Hypersensitivity Reactions: Potential and Limitations Markus Steiner, Andreaharrer and Martin Hinky. Frontiers Pharmacology June 2016 |Volume7|Article171
- *Valuación de técnicas inmunológicas in vitro para el diagnóstico de alergias: Metaanálisis 2000-2012. John Freddy Cuervo Perez, Julián Camiló Orango y Jaiberth Antonio Cardona-Arias. Rev Esp Salud Pública 2014;88:67-84.
- *Middleton's Allergy Essentials, 2016, Pages 225-247
- *Alergia a medicamentos evaluada con la prueba de Shelley modificada. Serie de casos Alejandra Mora Nieto, Nora Hilda Segura Méndez, Víctor Almeida Ariztu, María Teresa Díaz Torres, Teresa Martínez Pérez. Revista Alergia México 2006;53(3):89-93.