

DIAGNÓSTICO DE ALERGIAS A ANTIBIÓTICOS β -LACTÁMICOS



Edurne Peña, Sergi Morais, Ángel Maquieira

Doctorado en Química

Instituto Interuniversitario de reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM). Dpto. de Química. Universitat Politècnica de València. Camino de vera s/n, 46022 Valencia.

E-mail: edpemen1@doctor.upv.es



Introducción

La alergia a antibióticos β -lactámicos (BLCs) es la causa más frecuente de anafilaxia por medicamentos. Hasta el momento, el diagnóstico de alergias se basa en pruebas *in vivo* en piel y pruebas de provocación con fármacos. Dichas pruebas son caras (se estiman unos 375€ por fármaco estudiado), invasivas, provocan falsos negativos por lo que llegan a causar hospitalizaciones prolongadas y otros riesgos fatales.

En los últimos años, se han desarrollado ensayos *in vitro* de alergias para sólo 3-5 BLCs. Estos se basan en la determinación de la concentración de IgEs específicas en suero, no son multianálisis y la sensibilidad no es elevada. Además, no es posible el diagnóstico de alergias a otros BLCs comúnmente prescritos. Por estos motivos, se requiere disponer de nuevos determinantes antigénicos selectivos con los que se puedan desarrollar ensayos sensibles y específicos para alergias a antibióticos.

Objetivos

1. Objetivo general: Preparación y selección de determinantes antigénicos (BLCs-proteína)
2. Objetivos específicos:
 - i. Puesta a punto de un ensayo inmunoquímico utilizando IgGs de suero de conejo inmunizado frente a penicilinas (α -RB Serum Pen), cefalosporinas (α -RB Serum Cft), carbapenemas (α -RB Serum Mrp) y monobactámicos (α -RB Serum Azt).
 - ii. Estudio de diversas rutas de síntesis

1. Preparación de determinantes antigénicos

Tabla 1: Estructura química y determinantes de las familias de BLCs

Familia	Estructura química	Determinantes
Penicilinas		Penicilina G (PG) Penicilina V (PV) Amoxicilina (AMX) Ampicilina (AMP) Piperacilina (PPR) Carbacilina (CRB)
Cefalosporinas		Ceftriaxona (CFT) Cefaclor (CF2)
Carbapenemas		Meropenem (MRP)
Monobactámicos		Aztreonam (AZT)

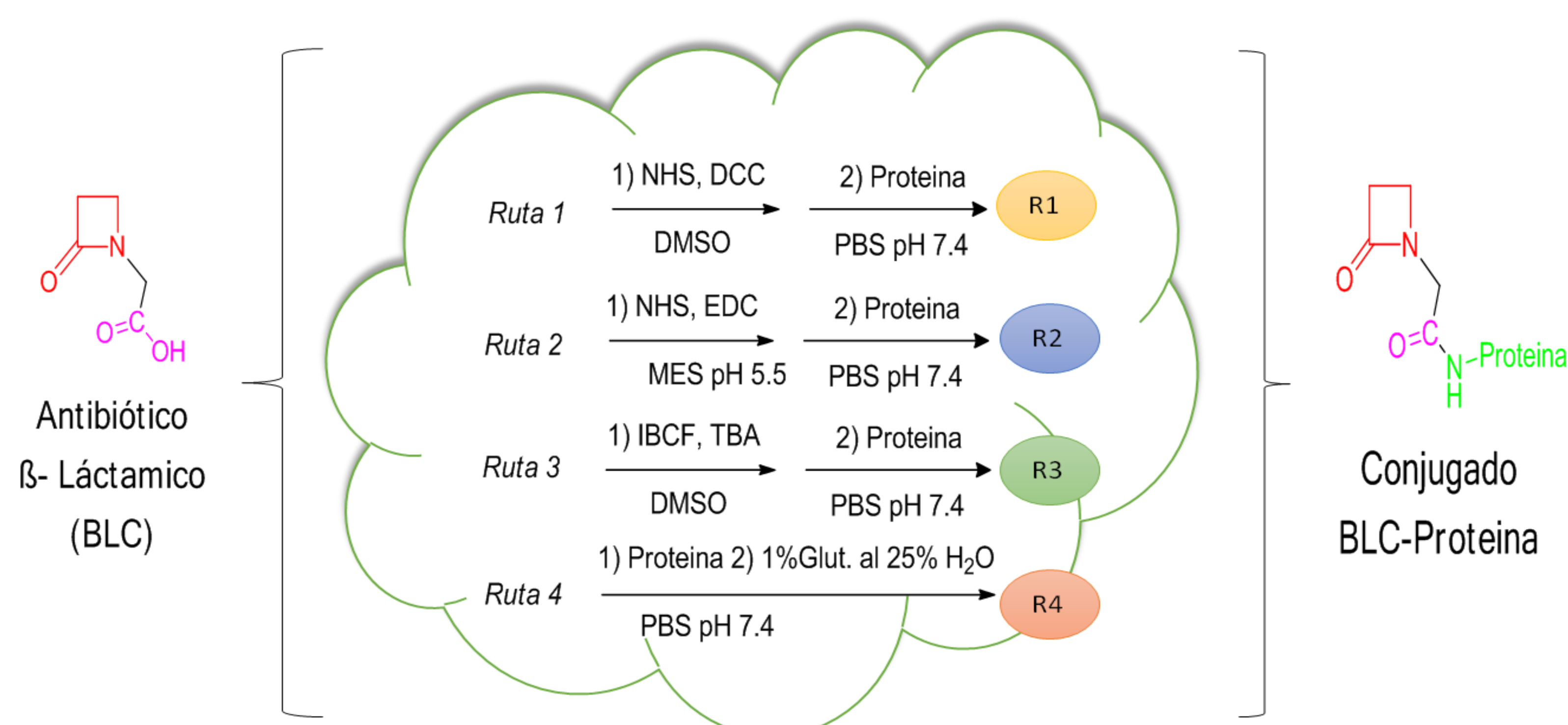
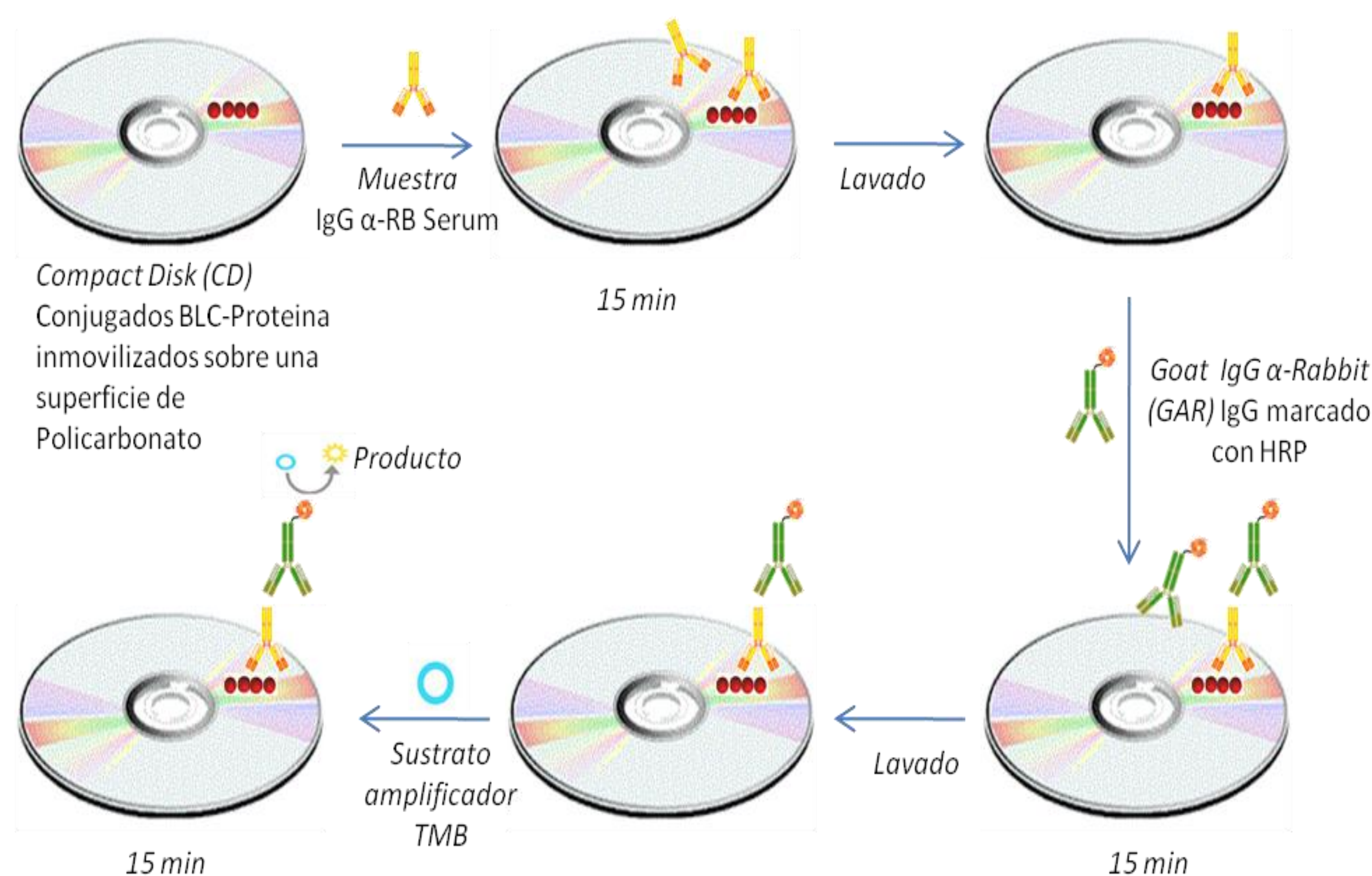


Figura 1: Esquema de las diversas rutas de conjugación BLC-Proteína estudiadas

2. Protocolo del ensayo inmunoquímico



* Condiciones del ensayo:
Concentración de tapizado del conjugado: 40 mg/L; calibrado α -RB Serum BLC: diluciones 1/1000, 1/10000 y 1/100000; dilución GAR-HRP: 1/400

Figura 2: Protocolo del ensayo inmunoquímico

Conclusiones y posibles utilidades

- Se ha puesto a punto un ensayo inmunoquímico que permite la selección de determinantes antigénicos.
- La ruta del éster activo (NHS y DCC en DMSO) es la que proporciona mejores determinantes antigénicos en combinación con el uso de la proteína histona.
- El suero α -RB Serum Pen es específico para la familia de las penicilinas, mientras que los sueros α -RB de AZT, MRP y CFT presentan reactividad cruzada.
- **Ensayos futuros:** Estudio de la afinidad de los determinantes en el reconocimiento específico de IgEs, utilizando suero de pacientes alérgicos.
- **Posibles utilidades:** Desarrollo de nuevos ensayos *in vitro* para un diagnóstico más completo de alergias a BLCs.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el programa H2020 (proyecto COBIOPHAD, grant agreement No. 688448), siendo una iniciativa de la Asociación Fotónica Pública Privada (www.photonics21.org). E.P.M agradece la ayuda predoctoral F.P.U al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte

3. Selección de los mejores determinantes antigénicos

Tabla 2: Señales obtenidas de los conjugados para cada uno de los sueros ensayados (dilución 1/1000)

	Señal (UA)			
	α -RB Pen Serum	α -RB Cft Serum	α -RB Mrp Serum	α -RB Azt Serum
P1-AMP-R1	118	-54	311	42
P1-AMP-R4	6738	-10	-107	436
P4-AMP-R1	6837	1079	1554	1031
P1-AMX-R1	3533	-4	-7	-45
P1-AMX-R4	4298	-14	-111	275
P4-AMX-R1	3784	1663	1404	800
P1-CRB-R1	4201	111	286	66
P1-PG-R1	12556	896	1985	415
P1-PG-R3	2212	28	-50	83
P4-PG-R1	18802	1965	1651	1225
P4-PG-R3	15680	286	1313	1336
P1-PIPER-R1	2860	-17	-50	-5
P1-PV-R2	491	-2	-8	-12
P1-PV-R1	6236	0	-55	-190
P4-PV-R2	13446	829	165	-209
P4-PV-R1	11458	487	-17	179
P1-MRP-R1	5643	217	6809	263
P4-MRP-R1	6328	-21	5686	1176
P1-AZT-R1	7047	100	1641	11435
P4-AZT-R1	4794	78	86	3327
P1-CFT-R1	9905	10682	5169	7113
P1-CFT-R4	7312	4891	2748	2778
P4-CFT-R1	2718	2897	1569	1014
P1-CF2-R3	-25	61	59	34
P1-CF2-R1	-240	-113	-125	-219
P1-CF2-R4	4359	-171	486	346
P4-CF2-R1	4042	1474	931	1225

* P1: Albumina de suero humano (HSA) y P4: Histona (H1)