

P. Quintero-Campos¹, A. Maquieira^{1,2}, S. Morais^{1,2}

Doctorado en Técnicas Experimentales en Química

¹ Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM)
Universitat Politècnica de València-Universitat de València. Camino de vera s/n, E46022 Valencia. E-mail: pedquica@upvnet.upv.es
² Departamento de Química, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, E46022 Valencia, Spain.

Introducción

Las **reacciones alérgicas** son unas de las enfermedades más comunes que afectan alrededor del **20% de la población**. En particular, la hipersensibilidad a antibióticos es una reacción adversa provocada en determinadas personas al tomar estos medicamentos, principalmente los β -lactámicos, que superan el **50% del consumo total de antibióticos**.

Actualmente, el diagnóstico correcto de alergias a antibióticos requiere la combinación de una historia clínica completa y el uso de ensayos *in vitro* e *in vivo* para la determinación de **IgE específica** en suero. A pesar de que lo deseable para la **cuantificación** de IgE específica es emplear métodos de interpolación homólogos, no es posible hacerlo por la ausencia de IgE específicas estandarizadas que permitan la construcción de una curva de calibrado, siendo esta falta una de las posibles causas de la baja sensibilidad y selectividad de los ensayos *in vitro* actuales.

Objetivos

Objetivo principal: Desarrollo de proteínas recombinantes de alta afinidad para la puesta a punto y validación de test de diagnóstico *in vitro* específicos de IgEs resultantes de alergias a antibióticos β -lactámicos.

Objetivos específicos:

1. Selección de aquellos determinantes antigénicos que permitan la unión específica de la IgE relacionada con el evento de alergia.
2. Expresión y caracterización de proteínas recombinantes que los reconozcan específicamente.
3. Puesto a punto de un test de biosensado para diagnóstico de alergia.

Etapas principales

Para alcanzar los objetivos anteriormente expuestos se proponen cuatro bloques:

1. Selección de determinantes antigénicos:

Considerando las estructuras de los determinantes actualmente en uso, los producidos *in vivo* por pacientes alérgicos y otros referidos en la bibliografía, se seleccionarán y modificarán químicamente un conjunto de haptenos nuevos, específicos de distintos antibióticos betalactámicos.

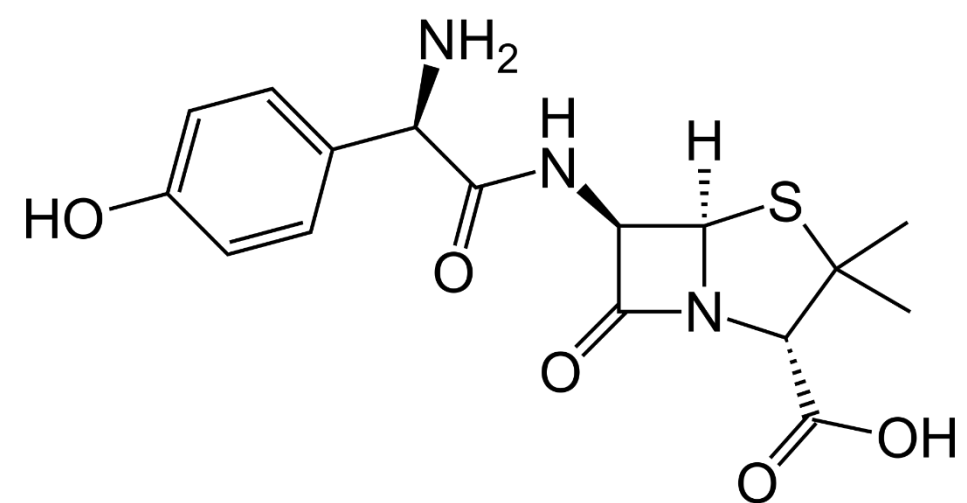


Figura 2: Estructura de la Amoxicilina

3. Pre-selección de las mejores proteínas recombinantes:

Se seleccionarán aquellas IgEs recombinantes que mejor se unan a los determinantes antigénicos anteriormente seleccionados. Con ello, se podrá resolver el problema que representa no tener patrones de IgEs.

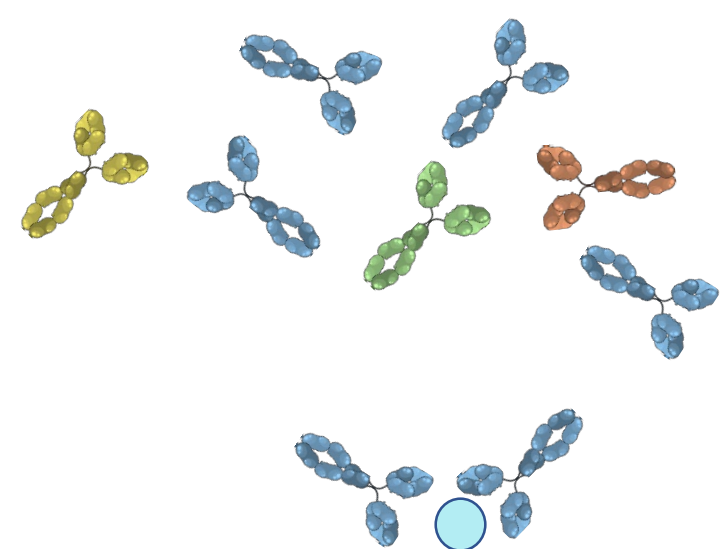


Figura 3: Selección de IgE recombinante por afinidad al determinante antigénico

2. Diseño y expresión de proteínas miméticas de IgEs mediante la tecnología Phage Display:

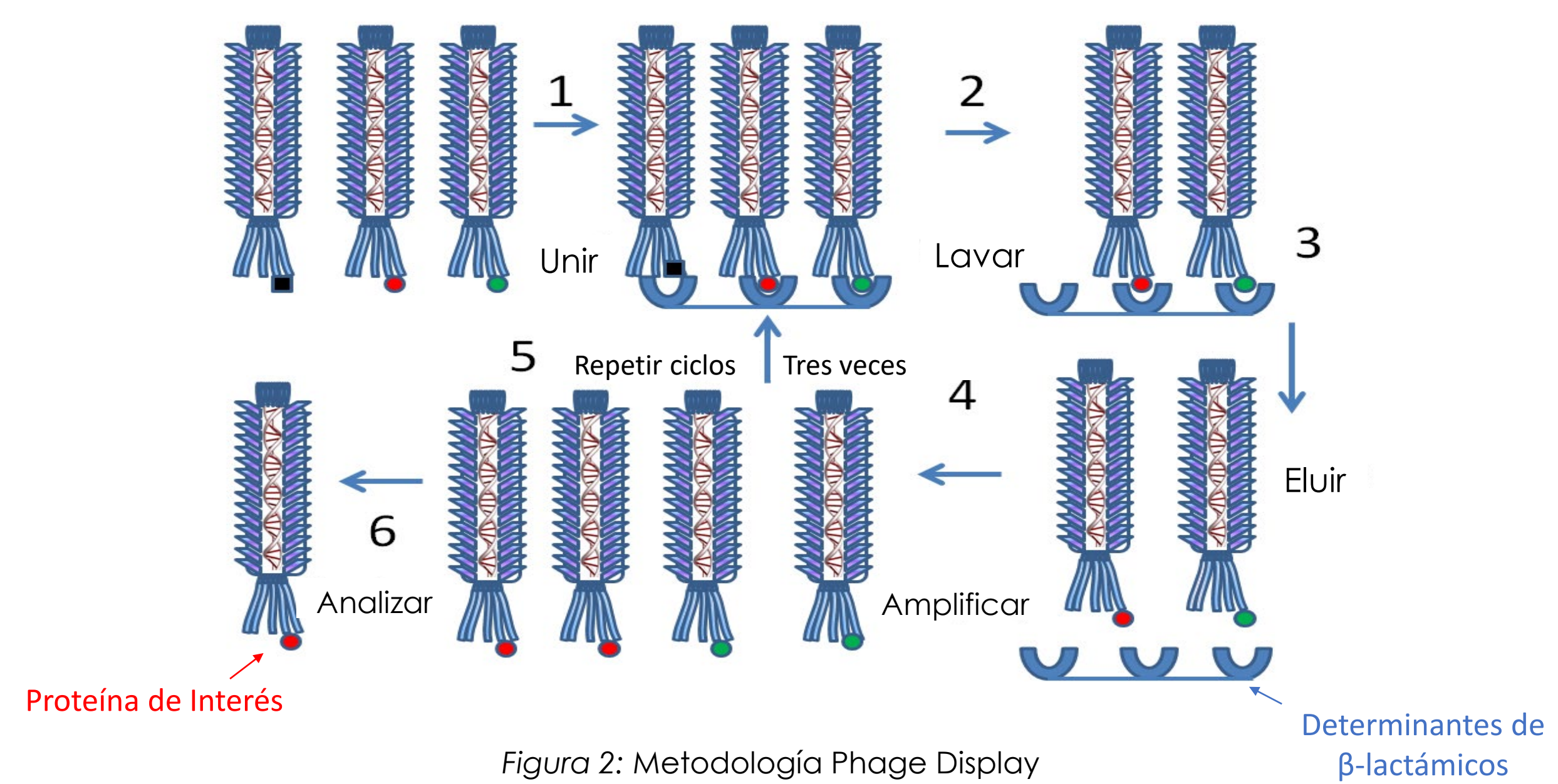


Figura 2: Metodología Phage Display

4. Puesta a punto de un demostrador para biosensado *in vitro* de alergias a β -lactámicos.

Los determinantes seleccionados y las IgEs obtenidas servirán para la puesta a punto de tests de biosensado para diagnóstico de alergia a los diferentes β -lactámicos administrados por el sistema de salud europeo, independientemente de si hay más o menos pacientes alérgicos a una u otra familia de estos antibióticos.



Figura 4: Esquemización del proceso de validación

Perspectivas de Futuro

Una vez se disponga de las proteínas más idóneas, se utilizarán como patrones para validar ensayos de detección de IgEs específicas a β -lactámicos. Esto permitirá el desarrollo de nuevos ensayos *in vitro* para un diagnóstico más completo de alergias a estos antibióticos y que podrían mejorar significativamente el diagnóstico *in vitro* de estas alergias.

Agradecimientos:

Este trabajo ha sido financiado por la Beca Doctoral GVA ACIF/2018/173 y el programa H2020 (proyecto COBIOPHAD, grant agreement No. 688448), una iniciativa de Photonics PPP (www.photonics21.org).