

Inmunoterapia alérgeno-específica y la importancia de elegir las pruebas serológicas adecuadas

El éxito de la Inmunoterapia depende de la fiabilidad de las pruebas serológicas

La dermatitis atópica canina (DAC) es una enfermedad inflamatoria y pruriginosa con predisposición genética, asociada a la presencia de anticuerpos IgE frente a alérgenos ambientales¹. Esto significa que la DA es una enfermedad crónica cuya condición genética hace prácticamente imposible que pueda curarse. Tampoco es posible evitar el contacto con los alérgenos ambientales, pero es posible controlar la enfermedad y proporcionar una buena calidad de vida al animal afectado.

La inmunoterapia alérgeno específica sería el único tratamiento curativo posible.

La Inmunoterapia alérgeno específica (sus siglas en inglés: ASIT) es el único tratamiento que puede cambiar el curso de la enfermedad y es la única opción curativa posible². La ASIT puede re-educar (instruir) al sistema inmunitario y transformarlo de hiper-reactivo a inerte frente a los alérgenos a los que el animal está sensibilizado. ASIT es un tratamiento seguro y efectivo para reducir los signos clínicos de la dermatitis atópica en perros, gatos y caballos, y hay evidencia suficiente para fundamentar el empleo de ASIT como tratamiento frente a la alergia ambiental en perros, gatos y caballos³. La desensibilización es efectiva en aproximadamente un 50–75% de los animales atópicos⁴.

El inicio de los efectos beneficiosos puede verse retrasado meses y mientras tanto es necesario administrar fármacos anti-inflamatorios/anti-pruriginosos que aseguren el control de la enfermedad hasta que la inmunoterapia pueda considerarse efectiva para controlar los signos clínicos de la enfermedad. La evaluación de la eficacia de la ASIT puede realizarse disminuyendo la dosis o suspendiendo la administración del tratamiento farmacológico.

Necesidad de identificar los alérgenos para formular la ASIT

Para formular una inmunoterapia alérgeno-específica, es necesario identificar los alérgenos a los que el animal es hiperreactivo. La medición serológica de IgE o las pruebas intradérmicas (IDT) se emplean para seleccionar los alérgenos a incluir en la ASIT³. Ambas pruebas son adecuadas para este propósito y no se ha observado diferencia en la eficacia de la Inmunoterapia, sea cual sea la prueba empleada^{5,6,7}.

Actualmente la serología para medición de IgE es la prueba preferida, ya que sólo es necesaria una pequeña muestra de sangre para poder realizarla.

Las desventajas de la IDT son varias: la necesidad de sedar al animal (lo que implica un riesgo mayor), la necesidad de rasurar el pelo de un costado del animal, la imposibilidad de realizar la prueba en presencia de lesiones, la corta caducidad de los extractos (incrementa el coste), la posible dificultad para leer e interpretar la prueba y finalmente, la falta de estandarización de los alérgenos y de la realización de la prueba, conlleva una importante variación en los resultados, incluso entre especialistas de la misma región geográfica.

La precisión/fiabilidad de las **pruebas serológicas de IgE** depende de dos factores principales:

- 1.- Sensibilidad y especificidad de la identificación de IgE evitando reacción cruzada con IgG
- 2.- identificación y bloqueo de los determinantes de carbohidratos de reacción cruzada (CCD).

La considerable variación entre laboratorios es básicamente consecuencia del elevado número resultados falsos positivos asociados a la reacción cruzada de los reactivos para detección de IgE con las IgG y a la detección de reacciones de IgE anti-CCD que que originan resultados multi-positivos frente a pólenes⁹.

Los resultados falsos positivos afectan la formulación del tratamiento de Inmunoterapia (ASIT) y consecuentemente su eficacia¹⁰.

Las pruebas serológicas de IgE que emplea Laboklin **evitan el problema de los resultados falsos positivos al:**

- 1.- utilizar un fragmento recombinante único de la porción extracelular de la subunidad alfa del receptor humano de alta afinidad por las IgE (FcεRIα) , el cual ha mostrado una gran afinidad por la IgE canina y ausencia de reactividad cruzada con IgG^{11,12,13}.
- 2.- detectar las IgE frente a CCDs (determinantes de reacción cruzada de los carbohidratos) y
- 3.- bloquear el sistema de IgE anti-CCD en las muestras positivas frente a IgE anti-CCD

Adicionalmente, un estudio independiente sobre variabilidad entre pruebas, mostró un nivel excepcional de reproducción de los resultados tanto de las pruebas como entre las mismas, y el mismo nivel de eficacia en la especie canina y felina¹⁴.

Especificidad absoluta en la detección de IgE: subunidad alfa del receptor de IgE (FcεR1α)

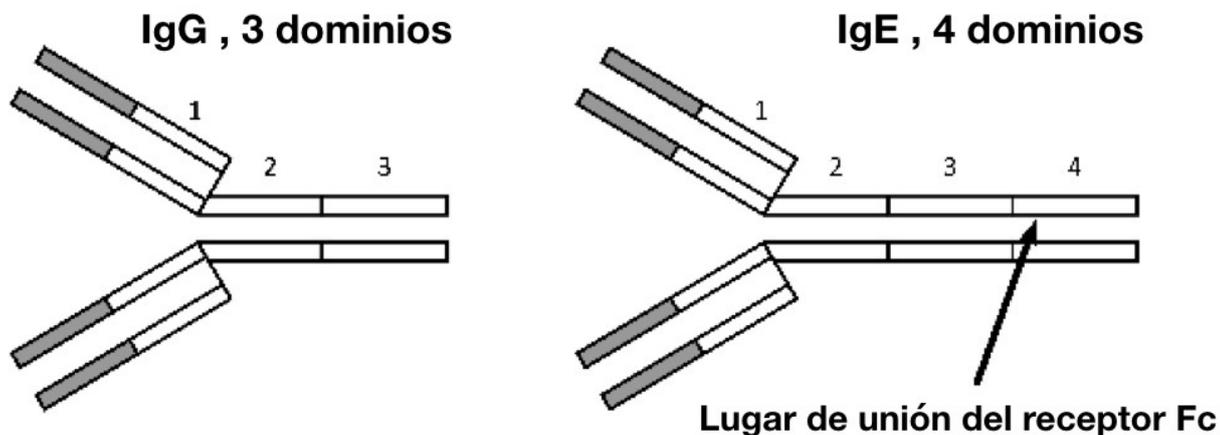
El empleo de la cadena alfa del receptor Fc-ε r(FcεR1α) solventa el problema potencial de reactividad cruzada con IgG, el cual es el principal y más frecuente problema cuando se emplean anticuerpos mono y policlonales¹⁵.

Las IgE son los anticuerpos específicos relacionados con hipersensibilidad y son los únicos relevantes para la evaluación de la respuesta alérgica. Sin embargo, se producen también IgG, las cuales se encuentran en el suero en concentraciones de 10.000 a 100.000 veces superiores a las de IgE. La capacidad para distinguir

entre IgE e IgG con estos niveles de concentración es muy difícil, y por ello la especificidad del reactivo para detectar IgE es crucial.

La fuerza de unión y avidéz del receptor Fc-ε por IgE es uno de los más potentes que existen en la naturaleza. Su constante de disociación (Kd) es 10x10⁻¹⁰M en la mayoría de las especies animales, lo que asegura la sensibilidad y especificidad de estas pruebas.

El receptor Fcε se une a los dominios constantes 3 y 4 de las IgE. El dominio 4 no existe en las moléculas de IgG, por lo que no es posible la unión del receptor Fcε a las IgG, y esto impide la obtención de resultados falsos positivos.



¿Qué son los determinantes de reacción cruzada de los carbohidratos?

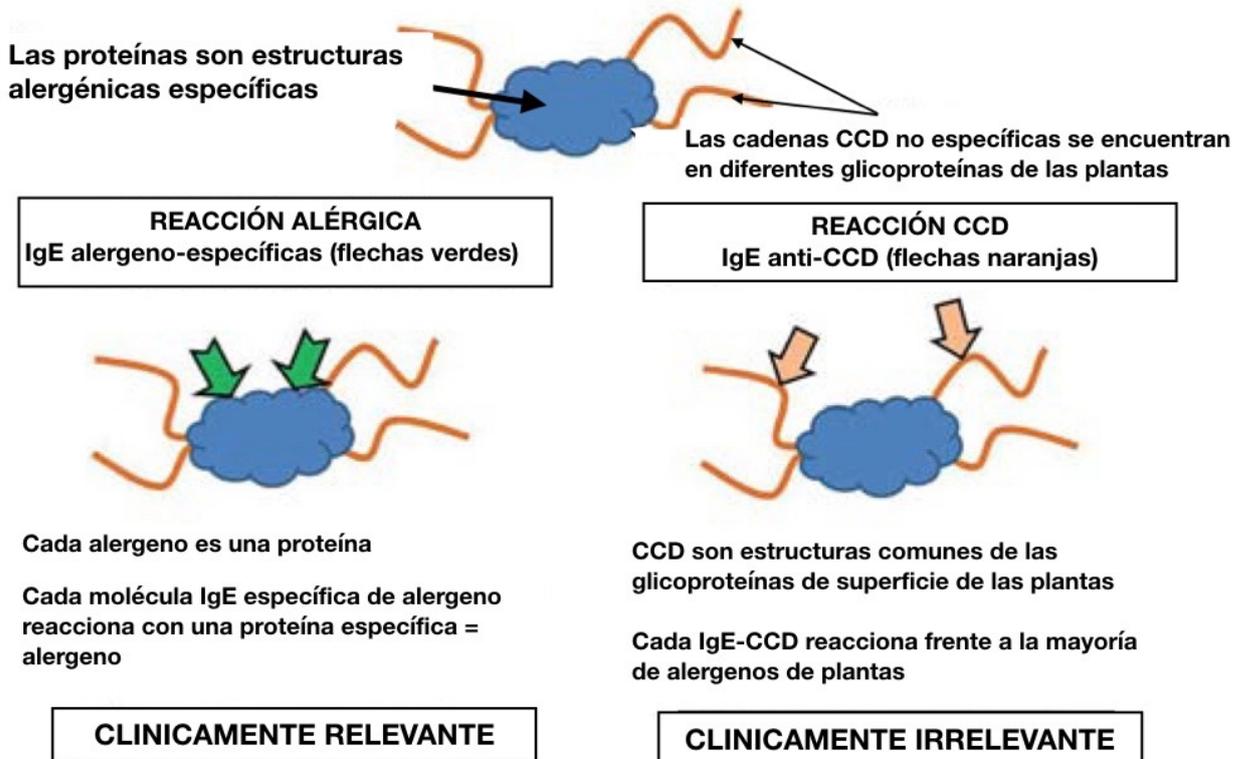
Los alérgenos de los pólenes están compuestos de proteínas específicas y de cadenas comunes de carbohidratos. Los determinantes de reacción cruzada de los carbohidratos se definen como moléculas de superficie de porciones de glicoproteínas comunes a muchas especies de plantas e insectos¹². Los mamíferos reconocen estos CCD como antígenos extraños y pueden montar respuestas inmunitarias humorales frente a ellos¹⁶.

Las IgE-Anti-CCD son clínicamente irrelevantes, pero entre el 20 y el 37% de las personas y de los animales

mamíferos alérgicos al césped y a los venenos de insectos desarrollan IgE anti-CCD^{17,18}.

Los venenos de los insectos son también potentes inductores de anticuerpos IgE específicos frente a CCD, y pueden encontrarse resultados positivos a pólenes en personas no atópicas con alergia al veneno de insectos^{19,20}.

Los pacientes alérgicos producen IgE específicas frente a proteínas específicas del alérgeno implicado, pero pueden producir también IgE frente a los CCD, las cuales no son relevantes en la enfermedad, pero conducen a resultados falsos positivos en las pruebas².



Importancia de identificar las IgE anti-CCD

Las reacciones de IgE anti-CCD no son alérgeno específicas y no están implicadas en la enfermedad clínica. Pero pueden producir **resultados falsos multi positivos**. Su presencia genera valores muy elevados de IgE frente a pólenes e insectos en las pruebas serológicas²².

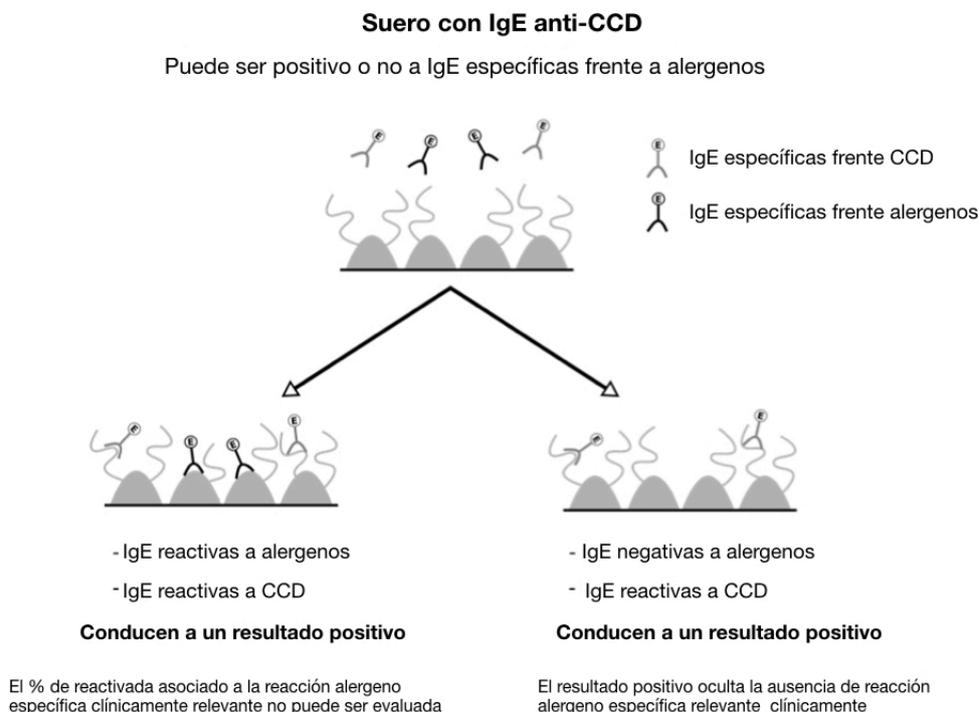
La presencia de estas IgE frente a CCD genera resultados falsos positivos y la inclusión de alérgenos irrelevantes en ASIT afecta la eficacia del tratamiento de hiposensibilización.

¿Cómo pueden evitarse los resultados falsos positivos asociados a los CCD?

LABOKLIN emplea la prueba específica del CHO, realizada con receptor Fc-epsilon, para identificar las IgE anti-CCD. Cuando la CHO detecta IgE anti-CCD en el suero del paciente, se realiza de nuevo la prueba con el bloqueo de los CCD. La prueba del CHO y el bloqueo de las reacciones de los CCD se emplean en muestras de suero de perros y gatos en todas las pruebas serológicas frente a alérgenos estacionales e Himenoptera. En un estudio realizado sobre 500 casos en toda Europa, las IgE anti-CCD se identificaron en el 30% de los casos. La sensibilidad de la prueba es mayor del 88% y la especificidad se encuentra por encima del 94%.

El bloqueo de las IgE de los CCD asegura que se detectan exclusivamente las IgE frente a las proteínas de los alérgenos. Un resultado falso fuertemente positivo previo, se transformará tras el bloqueo en un resultado positivo menos intenso o en un resultado negativo²¹.

Los resultados con o sin bloqueo se explican en los esquemas siguientes

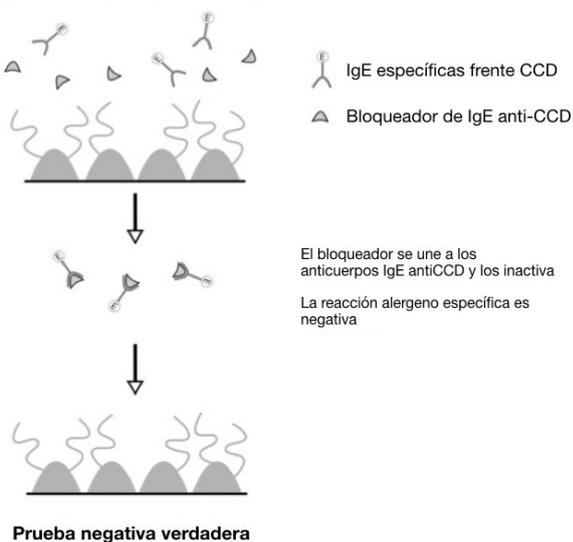


Estas situaciones pueden conducir a la identificación de reacciones de IgE que no son clínicamente relevantes y el resultado de estas pruebas de IgE puede dar lugar a interpretaciones clínicamente erróneas.

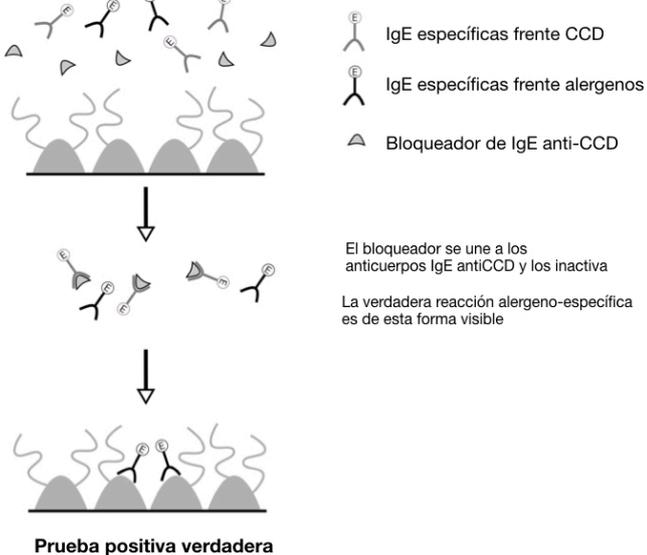
En caso de auténticas muestras negativas (caso-1):

En caso de muestras positivas reales (caso-2)

**Suero conteniendo IgE anti-CCD
Pero muestra negativa frente a alérgenos**



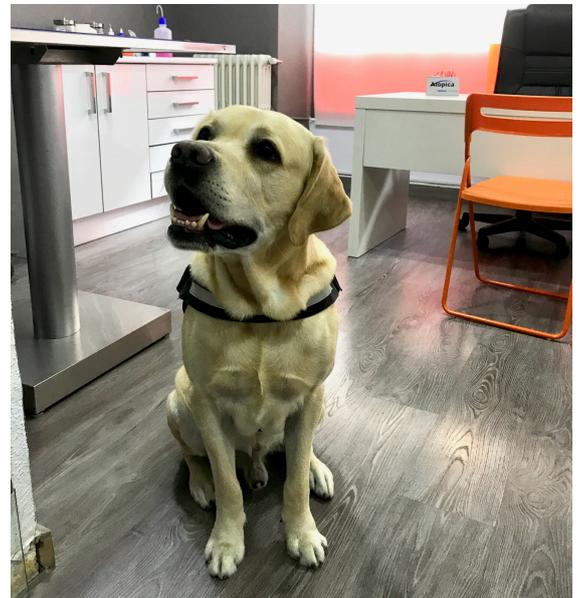
Suero conteniendo IgE anti-CCD y muestra positiva frente a alérgenos



Conclusiones

1. ASIT es un tratamiento efectivo y seguro para reducir los signos clínicos de las alergias ambientales en perros, gatos y caballos y la única opción terapéutica que podría ser curativa.
2. Para formular la ASIT, es necesario identificar los alérgenos frente a los cuales el animal es alérgico.
3. Las pruebas serológicas son fáciles de realizar y tan apropiadas como la IDT para seleccionar los ingredientes de la ASIT.
4. La selección de las pruebas de IgE tienen gran influencia en los resultados positivos/negativos y consecuentemente en el tratamiento de ellos derivado²⁴.
5. El empleo de la exclusiva cadena alfa del receptor Fc-ε r (FcεR1α) resuelve el potencial problema de reactividad cruzada con las IgG.
6. La identificación de IgE anti-CCD con la prueba CHO y el bloqueo de estas IgE evitan los resultados falsos positivos y hace de los resultados de nuestra prueba serológica los más fiables de mercado.
7. LABOKLIN hace el diagnóstico y tratamiento de las alergias más fácil para ti y tus pacientes.

No dudes en consultar a nuestros especialistas en dermatología y alergia.



La calidad de vida de los perros, gatos y caballos alérgicos mejora con la inmunoterapia alérgeno específica (ASIT). La ASIT ayuda a controlar los signos clínicos de la enfermedad alérgica.

Bibliografía

1. Olivry T, DeBoer DJ, Griffin CE, Halliwell RE, Hill PB, Hillier A, Marsella R, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:143-146. doi: 10.1016/S0165-2427(01)00343-9
2. Saridomichelakis MN, Olivry T. An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet J.* 2016;207:29-37. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.09.016
3. Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatol.* 2010;21:233-48. doi: 10.1111/j.1365-3164.2010.00889.x
4. Loewenstein C, Mueller RS. A review of allergen-specific immunotherapy in human and veterinary medicine. *Vet Dermatol.* 2009;20(2):84-98. doi: 10.1111/j.1365-3164.2008.00727.x
5. Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill P, Griffin C. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res.* 2015; 11: 196. Published online 2015 Aug 11. doi: 10.1186/s12917-015-0515-5
6. Olivry T, Paps J. Evaluation of the agreement between allergen-specific intradermal IgE serological tests and a point-of-care immunodot assay in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2011;22(3):284-285. doi: 10.1111/j.1365-3164.2010.00936.x
7. Plant JD, Neradelik MB, Polissar NL, Fadok VA, Scott BA. Agreement between allergen-specific IgE assays and ensuing immunotherapy recommendations from four commercial laboratories in the USA. *Vet Dermatol.* 2014;25(1):15-e16. doi: 10.1111/vde.12104
8. Park S, Ohya F, Yamashita K, Nishifujii K, Iwasaki T. Comparison of response to immunotherapy by intradermal skin test and antigen-specific IgE in canine atopy. *J Vet Med Sci.* 2000;62(9):983-988. doi: 10.1292/jvms.62.983
9. Hensel P. Differences in allergy skin testing among dermatologists within the same geographical region in the USA. *Vet Dermatol.* 2012;23(Suppl. 1):60.
10. Aberer W, Holzweber F, Hemmer W, Koch L, Bokanovic D, Fellner W, Altmann F. Inhibition of cross-reactive carbohydrate determinants (CCDs) enhances the accuracy of in vitro allergy diagnosis. *Allergol Select.* 2017; 1(2): 141-149. Published online 2017 Aug 4. doi: 10.5414/ALX01638E
11. Plant JD, Neradelik MB, Polissar NL, Fadok VA, Scott BA. Agreement between allergen-specific IgE assays and ensuing immunotherapy recommendations from four commercial laboratories in the USA. *Vet Dermatol.* 2014;25:15-e6. doi: 10.1111/vde.12104
12. Wassom DL, Grieve RB. In vitro measurement of canine and feline IgE: a review of FcεR1a-based assays for detection of allergen-reactive IgE. *Vet Dermatol.* 1998;9:173-178. doi: 10.1046/j.1365-3164.1998.00121.x
13. Stedman K, Lee K, Hunter S, Rivoire B, McCall C, Wassom D. Measurement of canine IgE using the alpha chain of the human high affinity IgE receptor. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;78(3-4):349-355. doi: 10.1016/S0165-2427(01)00242-2
14. Structure of the Fc fragment of human IgE bound to its high-affinity receptor FcεR1α. Scott C, Garman et al. *Nature* 406 (2000) 259-266.
15. Thom N, et al. Intra- and interlaboratory variability of allergen-specific IgE levels in atopic dogs in three different laboratories using the Fc-ε receptor testing. *Vet. Immunol. & Immunopathol.* 133 (2010) 183-189.
16. Stedman et al. Measurement of canine IgE using the alpha chain of the human highaffinity IgE receptor. *K. Veterinary Immunology and Immunopathology* 78 (2001) 349-355.
17. Pia Gatteringer, Irene Mittermann, Christian Lupinek, Gerhard Hofer, Walter Keller, Urska Bidovec Stojkovic, Peter Korosec, Christine Koessler, Natalija Novak, Rudolf Valenta. Recombinant glycoproteins resembling carbohydrate-specific IgE epitopes from plants, venoms and mites. *EBioMedicine.* 2019 Jan; 39: 33-43. Published online 2018 Dec 20. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.12.002 PMID: PMC6354707
18. Levy BJ, DeBoer DJ . A preliminary study of serum IgE against cross-reactive carbohydrate determinants (CCD) in client-owned atopic dogs. *Veterinary Dermatolog.* 2018. Volume 29, Issue 3.
19. Yokoi H, Yoshitake H, Matsumoto Y, Kawada M, Takato Y, Shinagawa K, Sakurai H, Saito K. Involvement of cross-reactive carbohydrate determinants-specific IgE in pollen allergy testing. *Asia Pac Allergy.* 2017 Jan; 7(1): 29-36. Published online 2017 Jan 26. doi: 10.5415/apallergy.2017.7.1.29.
20. Mahler V, Gutgesell C, Valenta R, Fuchs T. Natural rubber latex and hymenoptera venoms share ImmunoglobulinE-epitopes accounting for cross-reactive carbohydrate determinants. *Clin Exp Allergy.* 2006; 36: 1446-1456. CrossRef PubMed
21. Kochuyt AM, Van Hoeyveld EM, Stevens EA. Prevalence and clinical relevance of specific immunoglobulin E to pollen caused by sting-induced specific immunoglobulin E to cross-reacting carbohydrate determinants in Hymenoptera venoms. *Clin Exp Allergy.* 2005; 35: 441-447.
22. Friedrich Altmann. Coping with cross-reactive carbohydrate determinants in allergy diagnosis. *Allergo J Int.* 2016; 25(4): 98-105. Published online 2016 Jun 25. doi: 10.1007/s40629-016-0115-3
23. Holzweber F, Svehla E, Fellner W, Dalik T, Stubler S, Hemmer W & Altmann F. Inhibition of IgE binding to cross-reactive carbohydrate determinants enhances diagnostic selectivity. *Allergy.* 2013 Oct; 68(10): 1269-1277. Published online 2013 Sep 21. doi: 10.1111/all.12229
24. Plant JD, Neradelik MB, Polissar NL, Fadok VA, Scott BA. Agreement between allergen-specific IgE assays and ensuing immunotherapy recommendations from four commercial laboratories in the USA. *Vet Dermatol.* 2014 Feb; 25(1): 15-e6. Published online 2014 Jan 24. doi: 10.1111/vde.12104.