El diagnóstico en la alergia medicamentosa

A. Oehling*/ Mª L. Subirá**/ C. D. Crisci***/

Hasta hace algunos años, múltiples eran las dificultades con que nos tropezábamos en el diagnóstico de la alergia medicamentosa. En este sentido, ya hemos insistido repetidas veces[15, 17] sobre estos problemas que radican fundamentalmente en la diversidad de los mecanismos inmunológicos de la alergia medicamentosa. El avance de la moderna inmunología y paralelo desarrollo de las modernas técnicas de laboratorio han permitido completar con métodos mucho más fiables los viejos procedimientos de rutina para el diagnóstico de la alergia a drogas.

Ante todo, consideramos que un buen diagnóstico de una alergosis medicamentosa comienza, como en cualquier otra enfermedad alérgica, con una meticulosa y detallada anamnesis. Se trata la mayoría de las veces de hacer una verdadera labor policíaca, que en algunas ocasiones no excluye una investigación de la ingestión de alimentos que puedan contener drogas como medio de conservación, o colorantes (como por ejemplo, la tartracina, colorante amarillo muy utilizado en infinidad de alimentos y el acetil salicílico que a pesar de estar prohibida su utilización figura en muchísimos embutidos y conservas, tanto cárnicas como vegetales). Ya en la historia clínica puede plantearnos problemas la ingestión de diversos medicamentos de composición polivalente. En estos casos, lógicamente, habrá que estudiar por separado los componentes de la asociación medicamentosa en cuestión. Una detallada anamnesis, igualmente, nos marcará la pauta en cuanto a las técnicas diagnósticas a utilizar, tanto "in vitro" como "in vivo", así como nos ayudará a tomar las precauciones oportunas en las exploraciones cutáneas.

Creemos necesario, pues, insistir en que una minuciosa anamnesis y la eliminación de los presuntos medicamentos culpables son las armas más eficaces para evitar recidivas.

Métodos diagnósticos

Son los métodos diagnósticos, tanto a realizar en el individuo como los métodos inmunológicos de laboratorio, los que constituyen el complemento ideal para valorar la patogeneidad de tal o cual fármaco, recogida en la anamnesis.

Pruebas cutáneas

Las técnicas cutáneas, además de ser muy peligrosas, no aportan en la mayoría de los casos una ayuda eficaz, dada la inconstancia de sus resultados. Las más importantes por su facilidad de ejecución y su simplicidad son las *intradermorreacciones*, verdadero caballo de batalla diagnóstico para el alergólogo. Sin embargo, este tipo de pruebas diagnósticas que en otros terrenos de la Alergología han demostrado su indiscutible valía, se utilizan cada vez menos en el campo concreto de las alergopatías medicamentosas. Y ello por dos razones fundamentales: por un lado, por su poca fiabilidad, ya que en la mayoría de los casos sólo se obtienen reacciones positivas cuando existe una gran sensibilidad por parte del sujeto, presentándose incluso con frecuencia paralelamente graves reacciones anafilácticas; tenemos, por otro lado, el elevado porcentaje de reacciones positivas inespecíficas. El empleo de los medicamentos tal y como se presentan en el comercio, que es la forma en que son utilizados por el enfermo y desde luego la única forma de la que, las más de las veces, dispone el médico para efectuar el diagnóstico, da lugar a multitud de reacciones inespecíficas que pueden pasar por positivas. Se trata de reacciones que no son más que fenómenos tóxico-irritativos producidos en la piel por algunas de las sustancias no activas farmacológicamente que llevan los medicamentos como excipientes, tales como edulcorantes, anestésicos, etc. Igualmente sucede con las complejas combinaciones de varios fármacos, tan frecuentes en la farmacopea actual, con las que resulta extremadamente laborioso, cuando no imposible, el diagnóstico exacto de la fracción responsable de una determinada sensibilización.

En cuanto a los *tests epicutáneos*, si bien son más inofensivos, son asimismo poco fiables, salvo en casos de alergosis muy intensas y especialmente cuando predomina la sintomatología cutánea de tipo tardío. El resto de las pruebas de diagnóstico, de *transferencia pasiva* directas o indirectas, ofrecen igualmente muy poca probabilidad diagnóstica.

Pruebas inmunológicas "in vitro"

Como orientación para el médico en general, a continuación exponemos el fundamento, utilidad y experien-

* Jefe del Departamento de Alergología. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.
** Consultora de Inmunología. Departamento de Alergología. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.
*** Colaborador del Departamento de Alergología. Sección de Inmunología. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

cia que nos han aportado las diversas técnicas "in vitro".

Al igual que en cualquier tipo de reacción alérgica y, aun cuando la naturaleza antigénica de los medicamentos sea singular, una alergosis medicamentosa induce reacciones antígeno-anticuerpo las cuales pueden teóricamente ser reproducidas "in vitro". Estas reacciones implican, según los casos, a las inmunoglobulinas circulantes y/o a los linfocitos, por lo que las técnicas inmunológicas a emplear deberán abarcar tanto el aspecto humoral como el celular.

Han sido numerosos los investigadores que se han preocupado de este problema, habiéndose aplicado numerosas técnicas como ayuda diagnóstica; sin embargo, todavía no existe un método "in vitro" que permita determinar con absoluta seguridad la existencia de una alergia a medicamentos.

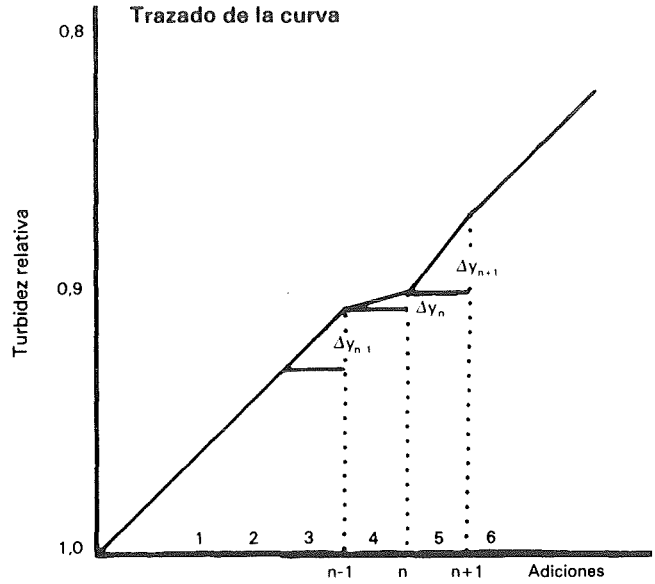
Técnica de hemaglutinación. El fundamento de esta técnica consiste, en esencia, en la utilización de hematíes como vehículo que permite visualizar la reacción antígeno-anticuerpo (en el caso de medicamentos, reacción hapteno-anticuerpo). El medicamento se "pega" a los hematíes, y al unirse con los anticuerpos específicos presentes en el suero, produce una aglutinación visible. Los anticuerpos que se detectan pertenecen a inmunoglobulinas IgG o IgM; así pues, para una correcta aplicación de esta técnica, es preciso conocer tanto la naturaleza química del antígeno como las características de la reacción alérgica.

En el momento actual, esta técnica no es de gran utilidad únicamente en los casos de sensibilización a penicilina y derivados, ya que —y precisamente debido a su composición química— es el único medicamento capaz de fijarse a los hematíes manteniendo íntegra su capacidad de unión a los anticuerpos específicos.

Técnica serológico-nefelométrica. Descrita por Hoigné[9] en 1958, esta técnica sirve para medir los complejos medicamento-anticuerpo, cuando éstos reaccionan mediante precipitación. Como soporte de la reacción se utilizan partículas de poliestiren sulfonato sódico, las cuales adicionadas al suero problema le confieren una turbidez valorable por nefelometría. A medida que se adiciona el antígeno, esta turbidez decrece progresivamente hasta que se llega al punto de relación óptima antígeno-anticuerpo. En este momento, y debido a la precipitación específica, se produce un aumento de turbidez de la muestra, lo cual nos indica que la reacción es positiva. Sucesivos aumentos del antígeno producirán al desaparecer esta relación óptima, una nueva disminución de la turbidez (fig. A).

Esta técnica puede aplicarse en el diagnóstico de las alergosis a muy variados fármacos, con resultados prometedores siempre que la reacción alérgica esté mediada por inmunoglobulinas IgG o IgM. No obstante, y dada la complejidad de la misma, ésta debe realizarse en centros especializados, ya que es precisa una dotación de personal y aparatos seleccionada[16, 18].

Test de liberación de histamina. La liberación de histamina de los leucocitos producida tras el contacto de éstos con el antígeno, fue puesta de manifiesto por Lichtenstein[11] en pacientes alérgicos a pólenes. Posteriormente, dicha técnica se ha aplicado a otros antígenos, y en la actualidad se está ensayando en los casos de alergosis medicamentosas. Sirve para cuantificar todas aquellas reacciones mediadas por inmunoglobulinas E, las cuales están unidas a la pared celular. La unión del antígeno con la inmunoglobulina produce liberación de diversas sustancias de los mastocitos, entre ellas la histamina, la cual se mide por métodos fluorimétricos.



$$\Delta y_n < {}^1/_3 \frac{\Delta y_{n-1} + \Delta y_{n+1}}{2} = + \text{ curva}$$

$$\Delta y_n < {}^2/_3 \frac{\Delta y_{n-1} + \Delta y_{n+1}}{2} = (+) \text{ curva}$$

Fig. A

Posteriormente Siraganian[23] ha desarrollado este método a partir no ya de leucocitos aislados, sino de sangre total, simplificando la técnica considerablemente y con resultados totalmente reproducibles.

En la actualidad esta técnica está reservada a los laboratorios especializados por su complejidad; no obstante, es altamente precisa, y puesto que mide la liberación de histamina según la cantidad de antígeno adicionado, nos determina el grado de sensibilización anafiláctica del paciente.

Test de degranulación basófila. Preconizado por Shelley[22], su fundamento inmunológico es el mismo que el test de liberación de histamina: la *IgE* fija en los basófilos, en contacto con el antígeno, condiciona una respuesta valorable según el grado de degranulación celular producida. Se utiliza para el diagnóstico de las reacciones de tipo inmediato mediadas por reaginas. Es una técnica altamente sensible pero de difícil estandarización, y cuya interpretación de los resultados puede resultar incorrecta debido a la escasa proporción de basófilos existentes en sangre circulante. Como en la técnica anteriormente citada, es preciso barajar cantidades variables de antígeno hasta encontrar aquella que produzca una mayor respuesta celular, por lo que su utilización en la práctica diaria se hace recomendable solamente para aquellos casos en los que exista una clara duda diagnóstica.

Test de transformación linfoblástica (TTL). Desde que Nowell en 1960[13] describe el fenómeno de transformación blástica que experimentan los linfocitos humanos al ser expuestos a la acción de un mitógeno, la fitohemaglutinina (PHA) sustancia que se extrae de la habichuela roja (Phaseolus vulgaris), numerosos autores [18, 12] han utilizado este principio, procurando obtener respuesta semejante empleando antígenos medicamentosos.

Sometiendo los linfocitos de un paciente sensibilizado a la acción del antígeno medicamentoso responsable, los mismos experimentan cambios que alteran su mor-

fología, presentando entonces un considerable aumento de tamaño, acentuándose la relación núcleo-citoplasmática con la aparición de vacuolas en el citoplasma, uno o más nucleolos y en algunas ocasiones un halo claro separando el núcleo del citoplasma (fig. 15, p. 18). Hacia el tercer o cuarto día de cultivo, comienzan a verse figuras mitóticas.

Desde el punto de vista bioquímico, la estimulación del linfocito se traduce en un aumento de la síntesis de ARN, proteínas y ADN, fenómeno este último que puede apreciarse por la captación aumentada de timidina, un precursor para la síntesis de ADN.

Tabla I. RESULTADOS DEL TEST DE TRANSFORMACION LINFOBLASTICA EN PACIENTES ALERGICOS A DIVERSOS MEDICAMENTOS

		TTL	
Medicamento	*Casos*	*Positivo*	*Negativo*
Penicilina	16	9	7
Pirazolonas	12	9	3
Aspirina	12	8	4
Sulfonamidas	10	9	1
Tetraciclina	8	5	3
Ampicilina	7	4	3
Estreptomicina	5	4	1
Barbitúricos	3	3	—
Butazolidina	3	2	1
Cloranfenicol	3	1	2
Kanamicina	2	2	—
Lidocaína	2	2	—
Nolotil	2	1	1
Rifampicina	1	1	—
Gentamicina	1	1	—
Furadantina	1	1	—
Cefradina	1	—	1
TOTAL	89	62 (69,6 %)	27 (30,3 %)

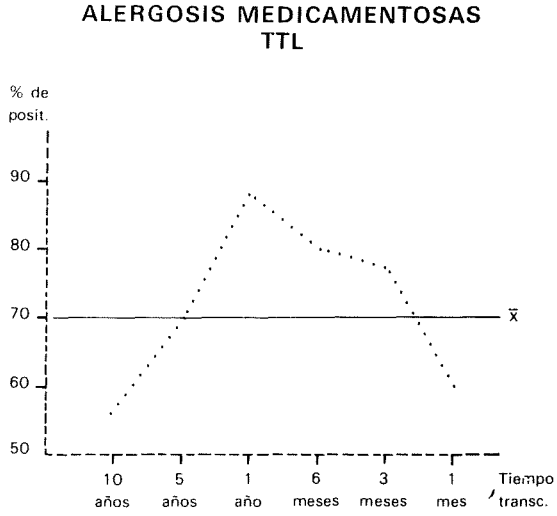


Fig. B

La valoración de la respuesta de los linfocitos frente al antígeno medicamentoso puede efectuarse por medio óptico, cuantificando el porcentaje de linfocitos que han experimentado transformación blástica en presencia del antígeno; o bien estudiando la incorporación de timidina tritiada al núcleo de las células en división, cuantificando las radiaciones beta emitidas por este isótopo radioactivo.

La experiencia acumulada hasta el presente[7, 10, 14] revela a este test como uno de los de mayor fiabilidad en la corroboración de una historia de alergia a medicamentos.

En un trabajo recientemente realizado por nosotros[15] hallamos una correlación del 70 % entre la anamnesis y el resultado del TTL en un grupo de pacientes alérgicos a un total de 17 fármacos diferentes (tabla I). Asimismo comprobábamos que el TTL es útil tanto en el diagnóstico de reacciones alérgicas mediadas por mecanismo celular como por mecanismo humoral, con casi total independencia del síntoma clínico, y que alcanza sus mayores índices de confianza cuando se efectúa después del mes y antes de los cinco años posteriores a la última reacción alérgica (fig. B).

Técnica de rosetas. La técnica de rosetas aplicada a la alergia medicamentosa fue descrita por Cruchaud y Frei[4] con la intención de detectar las células productoras de Ac contra los antígenos implicados. Emplea eritrocitos de carnero como soporte, recubiertos por el fármaco en cuestión, que se ponen en contacto con los linfocitos del paciente. Aquellas células que posean en su membrana anticuerpos contra el medicamento aglutinarán a su alrededor a los eritrocitos recubiertos por el mismo, dando lugar a la formación de rosetas (fig. 16, p. 18). Este test podría así detectar la presencia de células formadoras de Ac, específicos contra el medicamento, linfocitos que secundariamente han adherido estos anticuerpos a su membrana, o bien linfocitos T responsables de la hipersensibilidad retardada[6]. Para una mayor fiabilidad, la técnica ha debido modificarse empleando hematíes humanos del grupo o tanizados, manteniendo condiciones de estricta esterilidad y empleando medios proteicos libres de gammaglobulinas para evitar la formación de agregados de eritrocitos, disminuyendo la frecuencia de falsos positivos.

Su utilidad, sin embargo, depende de la diferente capacidad de los fármacos para unirse a los eritrocitos; se correlaciona mejor con los test que valoran las reacciones de hipersensibilidad celular[3, 6] especialmente si se han producido manifestaciones cutáneas y siempre y cuando se realice antes de los 30 días de la toma del fármaco[19].

Test de inhibición de la migración (MIF). Los linfocitos sensibilizados, al ser estimulados por el antígeno, liberan una serie de factores solubles (linfokinas) responsables de los cambios que tienen lugar en una reacción alérgica tardía. Se han descrito factores independientes que tienen la propiedad de inhibir la migración espontánea de macrófagos (M-MIF) y polimorfonucleares (PMN-MIF) que acontece normalmente cuando estas células son cultivadas en tubos capilares o en placas de agarosa[24].

Para la realización del MIF, en las técnicas indirectas, se cultivan los linfocitos del paciente junto con el medicamento problema. Los linfocitos liberan al medio de cultivo el MIF, que es posteriormente enfrentado con las células efectoras, sean éstas polimorfonucleares del propio paciente o macrófagos del peritoneo de cobayas, en tubos capilares o en los pocillos de una placa de agarosa[2, 23, 25].

En las técnicas directas, la droga en cuestión es puesta en contacto con una suspensión de leucocitos totales del paciente en la placa de agarosa. Los linfocitos presentes en esa suspensión producirán el MIF y los monocitos y polinucleares se verán inhibidos en su migración.

El porcentaje de inhibición de la migración se calcula comparando con pocillos controles en los que los leucocitos no han sido enfrentados con el medicamento y han podido migrar libremente.

Los resultados de este test han sido satisfactorios en el caso de la alergia a penicilina particularmente en pacientes que exhibían reacciones cutáneas tardías a este antibiótico. Otras drogas tales como estreptomicina, fenotiacina y sulfanilamidas producen frecuentemente inhibición inespecífica de la migración leucocitaria en pacientes que nunca han tomado tales drogas; en tanto que la colchicina, vinblastina y puromicina bloquean el efecto del MIF y el dextransulfato y la heparina aumentan la migración[20].

Como vemos a través de todo lo expuesto, la moderna inmunología nos aporta valiosísimas técnicas que contribuyen a un mejor y más preciso diagnóstico de la alergia medicamentosa.

La complejidad de todas estas técnicas, lógicamente trae consigo el que el médico especialista o general dirija a estos enfermos a centros especializados donde estas técnicas se prodiguen.

Teniendo en cuenta los complejos mecanismos inmunológicos que intervienen en la reacción hiperérgica medicamentosa, igualmente la identificación del fármaco responsable nunca se podrá conseguir por una sola técnica.

Sería una utopía, como dice Charpin, pretender realizar un diagnóstico de una alergia medicamentosa basándonos en el resultado de una sola técnica. Sólo la combinación y complemento de escogidas técnicas nos llevarán al objetivo final.

Bibliografía

1. Caron GR, Sarkany I. *Lymphoblast transformation in sulphonamide sensitivity*. Brit J Derm. 77, 556, 1965.
2. Clausen FE. *Migration inhibitory effect of cell-free supernatants from tuberculin stimulated cultures of human mononucleare leukocytes demonstrated by two-step MIT agarose assay*. J Immunol. 110, 546, 1973.
3. Crisci CD, Dieguez I, Neffen A, Sánchez-Palacios A, Subirá ML. *Diagnosis reliability of the hemagglutination technique in detecting penicillin allergy*. Allergol et Immunopathol. 5, 585, 1977.
4. Cruchaud S, Frei PC. *Demonstration of specific antibodies on human circulating lymphocytes by a new technique*. Int Arch Allergy 31, 455, 1967.
5. Girard JP. *Valeur du test d'inhibition de la migration des cellules lymphoides "in vitro" appliqué au diagnostic des allergies médicamenteuses*. Schweiz Med Wsch. 98, 1.655, 1968.
6. Girard JP. *Rosette formation by human lymphoid cells: mechanisms and clinical application*. En "Allergology". 45. Excerpta Medica. Amsterdam. 1972.
7. Girard JP, Vidmar B, Laugier P. *Diagnostic des allergies médicamenteuses: étude comparative du test d'hemagglutination, du test des rosettes et du test de transformation lymphoblastique*. Rev Franc Allergol. 11, 347, 1971.
8. Halpern B, Ky NT, Amache N. *Diagnosis of drug allergy "in vitro" with the lymphocyte transformation test*. J Allergy 40, 166, 1967.
9. Hoigné R. *Die Kombination von serologisch-nephelometrischer Methode und Polystyrol-Latex-Technik bei Arzneimittelallergien*. Helv Med Acta 25, 422, 1958.
10. Ky NT, Halpern B, Amache N, Barbier Y. *Le test de transformation lymphoblastique en allergologie*. Allergol et Immunopathol. Suppl. 1, 27, 1973.
11. Lichtenstein LM. *Leukocyte histamine release tests*. En "Immunopathology – clinical laboratory concepts and methods". 150. Little Brown and Co. Boston. 1974.
12. Mathews KP, Pan PM, Wells JH. *Experience with lymphocyte transformation tests in evaluating allergy to aminosalicylic acid, isoniazid and streptomycin*. Int Arch Allergy 42, 653, 1972.
13. Nowell PA. *Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in culture of normal human lymphocytes*. Cancer Research 20, 462, 1960.
14. Oehling A, Crisci CD. *El test de transformación linfoblástica en el diagnóstico de la alergia medicamentosa*. En "Alergia a medicamentos". 235. II Simposium nacional. Monografías médicas. Liade. Madrid. 1977.
15. Oehling A, Crisci CD. *The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug allergy*. Allergol et Immunopathol. 5, 205, 1977.
16. Oehling A, Sánchez-Cuenca JM. *Problemática en el diagnóstico de la alergia medicamentosa*. Archv Argent de Alerg. 6, 27, 1968.
17. Oehling A, Subirá ML. *Utility of the two-phase nephelometry in the diagnosis of drug-allergy*. Allergol et Immnunopathol. 1, 199, 1973.
18. Oehling A, Subirá ML. *Die Bedeutung der Zweistufen-Nephelometrie bei der Diagnostik der Arzneimittel-Allergie*. Arzneimittelallergie. Zschrft F Immunitätsforschung. Suppl Bd, 1, 262, 1974.
19. Panzani R, Le Viguelloux J. *The peripheral blood leucocyte migration inhibition test. New prospects in clinical immunology*. En "Allergy". Editado por Charpin J. 351. Excerpta Medica. Amsterdam. 1972.
20. Perrudet BA, Frei PC. *Detection of antibodies on blood lymphocytes in drug hipersensitivity using a rosette technique*. Int Arch Allergy 41, 149, 1971.
21. Pick E, Manheimer S. *The mechanism of action of macrophage migration inhibitory factor (MIF)*. Int Arch Allergy 45, 295, 1973.
22. Shelley WB, Juhlin L. *A new test for detecting anaphylactic sensitivity – the basophil reaction*. Nature 191, 1.056, 1961.
23. Siraganian RP. *An automated continous-flow system for the extraction and fluorometric analysis of histamine*. Annals of Biochem. 57, 383, 1974.
24. Soborg M. *The leucocyte migration technique for "in vitro" detection of cellular hypersensitivity in man*. En " 'In vitro' methods in cell-mediated immunity". Editado por Bloom BR, Glade PR. 289. Academic Press. Londres. 1971.
25. Weisbart RH. *Human lymphocyte mediators: PMN-MIF and migration enhancement factor*. En "Lymphocytes and their interactions". 89. Raven Press. New York. 1975.
26. Weisbart RH, Cunningham JE, Bluestone R, Goldberg LS. *A modified agarose method for detection of migration inhibitory factor and delineation of its antigen dependency*. Int Arch Allergy 45, 612, 1973.