

Juliette CHARPY<sup>1</sup>, Miranda LAUX<sup>2</sup>, Caroline KLINGEBIEL<sup>3</sup>, Pol André APOIL<sup>4</sup>, Julien GORET<sup>1</sup>

# Investigación biológica de alergias: introducción y cuantificación del sistema Noveos de Hyper Biomedical para ensayos del alérgeno IgE específica

## RESUMEN

La detección y cuantificación de anticuerpos IgE específica en suero son esenciales en el diagnóstico y seguimiento de pacientes alérgicos. En Francia, existen en la actualidad cuatro sistemas de inmunoensayo automatizados, para realizar este tipo de ensayo, utilizando extractos de alérgenos y alérgenos moleculares como sustrato diana. Desde 2000, la técnica ImmunoCAP llevada a cabo en los sistemas automatizados de Phadia es la más utilizada en todo el mundo y constituye la técnica de referencia en este campo. Otros sistemas automatizados de nueva generación también ofrecen ensayos IgE específicas, a través de diferentes técnicas. These systems use less serum and are less subject to analytical interference. While the study of allergies has been reserved up until now to specialist sectors, routine use of these automated systems is necessary due to the constant increase in the prevalence of this condition and the associated requests for laboratory analyses. Por tanto, el trabajador de laboratorio dominar estas técnicas. En este artículo, presentamos las características, un ejemplo del método de validación, así como la literatura actual del sistema Noveos (Hycor Biomedical, Garden Grove, EE. UU.), que utiliza la detección específica de IgE mediante quimioluminiscencia.

## PALABRAS CLAVE

Alergia, Alérgenos, IgE, IgE específica, Validación, Noveos

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología e Inmunogenética, Hospital Universitario de Burdeos, Francia

<sup>2</sup>Departamento de Alergias, Hospital Universitario Burdeos, Francia

<sup>3</sup>Synlab Provence, Marsella

<sup>4</sup>Laboratorio de Inmunología, Hospital Universitario de Toulouse, Francia

En correspondencia de: Dr Julien GORET, Laboratorio de Inmunología e Inmunogenética, Unidad de Biología y Patología, Grupo Hospitalario Pellegrin - Hospital Universitario de Burdeos - Place Amélie Raba Léon - 33076 Burdeos

Tel.: +33 (0)5 57 82 19 86 - Secr: +33 (0)5 56 79 56 45 - Fax +33 5 57 82 21 82

## I - INVESTIGACIÓN *IN VITRO* DE IgE ESPECÍFICA

El diagnóstico de la alergia combina una historia clínica y la sensibilización a uno o más alérgenos correspondientes. Esta sensibilidad implica la presencia de IgE específicas procedentes de extractos de alérgenos que pueden ponerse de manifiesto *in vivo* mediante pruebas de punción cutánea (sensibilidad cutánea, ST) y/o *in vitro* mediante técnicas inmunológicas (sensibilidad biológica). Los ensayos alérgenos de IgE específicas producen resultados cuantitativos y permiten la identificación precisa del alérgeno o alérgenos a los que la persona tiene sensibilidad, en particular a través de ensayos moleculares de IgE alérgeno-específicos. La determinación del perfil de sensibilidad permite evaluar la sensibilidad específica (alérgenos específicos), el riesgo de reactividad cruzada (panalérgenos presentes en múltiples especies) y/o la gravedad de la reacción de hipersensibilidad (alérgenos responsables de reacciones anafilácticas). La detección y cuantificación de IgE específicas en suero son esenciales en el diagnóstico y seguimiento de pacientes alérgicos (1).

## 1. EL MERCADO FRANCÉS DE LOS SISTEMAS AUTOMATIZADOS DE PRUEBAS DE ALERGIA

En Francia, existen en la actualidad cuatro sistemas de inmunoensayo automatizados, para realizar este tipo de análisis: el Immulite™ de Siemens® (Múnich, Alemania), el Phadia que utiliza la técnica ImmunoCAP™ de Thermo Fisher Scientific® (Waltham, EE. UU.), el iSYSTEM de Immunodiagnostic Systems® (Boldon, Reino Unido) y el Noveos™ de Hycor Biomedical® (Garden Grove, EE. UU.). Desde 2000, la técnica ImmunoCAP™ realizada en los sistemas automatizados de Phadia es la más utilizada en todo el mundo y constituye la técnica de referencia en este campo. La presencia histórica de este equipo en laboratorios ha permitido a este proveedor realizar numerosos estudios de rendimiento clínico y compararlos con ST (2). No obstante, otros sistemas automatizados de nueva generación también ofrecen ensayos IgE específicas, a través de diferentes técnicas. These systems use less serum and are less subject to analytical interference. While the study of allergies has been reserved up until now to specialist sectors, routine use of these automated systems is necessary due to the constant increase in the prevalence of this condition and the associated requests for laboratory analyses. Un aumento cada vez mayor de laboratorios de patología clínica están equipados con sistemas automatizados que proporcionan ensayos IgE específicas, por los que se requiere que el personal de laboratorio tenga un mayor conocimiento de los mismos. En este artículo presentamos las características y un ejemplo del método de validación del sistema automatizado Noveos, que utiliza la detección a través de quimioluminiscencia.

## II - UNA VISIÓN GENERAL DEL SISTEMA NOVEOS DE HYCOR

Noveos es un sistema automatizado multiparamétrico para realizar ensayos cuantitativos de IgE total, IgE alérgeno-específica y triptasa. El carrusel de muestras permite analizar de 52 a 60 muestras en un ciclo: se pueden cargar simultáneamente 150 alérgenos en el dispositivo. El almacenamiento a bordo de los reactivos líquidos es una ventaja con respecto a Phadia, que dispone de reactivos sólidos en forma de «bolígrafo» y un número limitado de posiciones de reactivos.

El sistema solo funciona cuando está cerrado, tras la verificación de los reactivos necesarios para la serie de muestras que se van a analizar, y no permite el *accesso aleatorio*. Puede realizar 100 pruebas cada hora. Actualmente, Hycor ofrece un panel de 225 alérgenos de referencia, incluidos 59 alérgenos moleculares. Existen mezclas de alérgenos fuente (extractos), así como una mezcla de 10 alérgenos recombinantes de aeroalérgenos para el cribado de alergias respiratorias y ORL (reactivo SX01). El desarrollo de nuevas referencias está en curso.

### 1. QUÉ IMPLICA UN ENSAYO

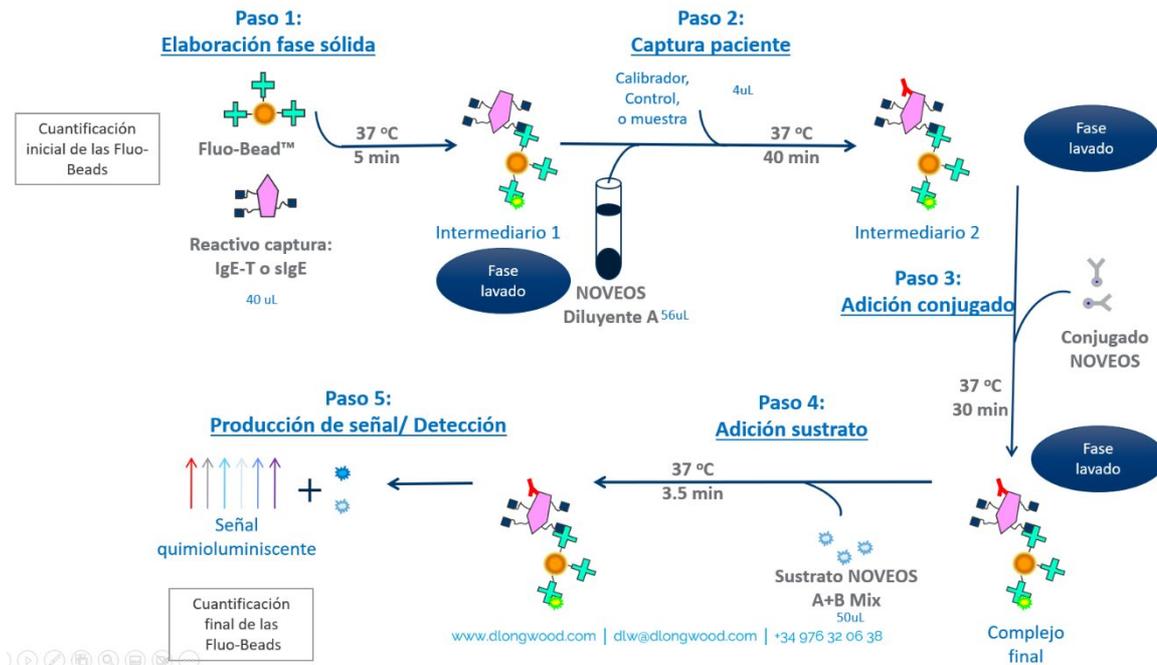
En la figura 1 se representa la naturaleza de un ensayo. Se realiza utilizando microesferas fluorescentes, magnéticas y recubiertas de estreptavidina que miden 1 µm de diámetro. La fluorescencia de estas microesferas permite contarlas al principio y al final del análisis. Su magnetismo

permite limpiarse varias veces y permanecer en las cubetas de reacción. Inicialmente, 10<sup>6</sup> microesferas se incuban con un reactivo de captura que contiene los alérgenos de interés, que se acopla a la biotina permitiendo su interacción con la estreptavidina. Una pequeña cantidad de suero (4 µL) se diluye previamente en el *diluyente de la muestra*, se añade a las microesferas recubiertas de alérgenos. La IgE se une a los alérgenos acoplados a las microesferas y forman un inmunocomplejo. Después de limpiar para eliminar el suero y cualquier IgE no unida, se añade una inmunoglobulina anti-IgE acoplada a una peroxidasa (HRP). Tras limpiar de nuevo para eliminar el exceso de conjugado, se añade un sustrato previamente preparado. La cuantificación de la luminiscencia se determina en una caja negra. También se lee la fluorescencia de las microesferas para confirmar su acoplamiento a la IgE y al anti-IgE, asegurando así el éxito de la manipulación y no la detección solo del conjugado. La lectura de la señal se expresa en Unidades Relativas De Luz (RLU) y es proporcional a la concentración de IgE específica en el suero analizado.

La ventaja de las microesferas es que ofrecen una gran capacidad de unión del alérgeno en su superficie, minimizando así las interferencias y la formación de uniones no específicas. Trabajar en un medio líquido con una suspensión de esfera también aumenta su área de contacto con el suero y la IgE específica, lo que garantiza una buena sensibilidad de la técnica. No se ha demostrado ninguna interferencia concomitante por la toma de medicamentos a base de biotina (3).

Figura 1

El proceso de ensayo de IgE específica por quimioluminiscencia utilizando el sistema NOVEOS™ (de Hycor®)



Esto era imposible *a priori*, ya que la fase de unión del alérgeno biotinilado a las esferas se completa antes de añadir el suero. Los múltiples pasos de limpieza reducen el posible ruido de fondo vinculado a las moléculas luminiscentes presentes en el suero. Al utilizar microtubos adaptados, el volumen inerte es 100  $\mu\text{L}$  o 80  $\mu\text{L}$ . Los resultados IgE específica se expresan en kUA/L y el rango de medida está entre 0,1 y 100 kUA/L. La curva de calibración no se extrapola para valores bajos y comprende puntos a 0,07, 0,35 y 0,7 kUA/L. Esta curva es válida durante las cuatro semanas siguientes a su elaboración. Se suministra un control externo positivo y negativo que permite evaluar las proteínas de cacahuete (f13), caspa de gato (e1), polen de abedul (t3) y ácaros del polvo doméstico (d1). Estos controles se analizan por duplicado al principio y al final de la serie. Es posible configurar el sistema para realizar investigaciones «reflejas» adicionales, como la investigación de los componentes moleculares de IgE específica de un extracto positivo. En caso de resultados positivos, los detalles de la IgE específica están directamente disponibles, evitando así la necesidad de muestras adicionales.

### III - REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE NOVEOS

Al tratarse de una tecnología tan nueva, actualmente hay muy pocos artículos disponibles sobre Noveos. Actualmente se están realizando evaluaciones en Francia en los primeros centros usuarios y en el Groupe de Travail de la Biologie d' Allergie de la Société Française d'Allergologie (Grupo de Trabajo de Pruebas de Alergia de la Sociedad Francesa de Alergología) y en el sitio web AllergoBioNet. Estas evaluaciones tienen como objetivo comprar y determinar correlaciones técnicas ya disponibles en el mercado, y establecer umbrales de significación clínica para IgE específica de diversos alérgenos.

#### 1. IgE ESPECÍFICA DE FUENTES ALERGÉNICAS INDIVIDUALES Y DE COMPUESTOS

Actualmente, el trabajo de un equipo alemán (4) ha demostrado el beneficio de la técnica en el diagnóstico de la rinitis alérgica. Los autores analizaron 368 muestras de suero de pacientes con rinitis alérgica frente a un panel de 15 extractos de alérgenos y 6 alérgenos moleculares utilizando la técnica ImmunoCAP, que se considera la «referencia», así como el sistema Noveos. El equipo evaluó el rendimiento cualitativo (positivo/negativo a partir de un umbral de 0,35 kUA/L) y cuantificativo para cada alérgeno probado. En comparación con el ImmunoCAP tomado como referencia en este estudio, la sensibilidad diagnóstica fue del 90,8% (IC del 95% = 88,6 - 92,7%) y la especificidad del 96,2% (IC del 95% = 93,9 - 97,8%) para Noveos. Estos valores fueron mejores cuando los autores solo tuvieron en cuenta los alérgenos moleculares: la sensibilidad fue del 98,7% (IC del 95% = 96,4 - 99,7%) y la especificidad del 94,2% (IC del 95% = 88,4 - 97,6%). El coeficiente de correlación entre los dos sistemas fue de 0,84 (Spearman).

#### 2. EL REACTIVO DE CRIBADO SX01 COMPUESTO POR UNA MEZCLA DE ALÉRGENOS

Estos autores, así como el grupo de trabajo de pruebas de alergia de la Sociedad Francesa de Alergología (5), también han evaluado la primera versión del reactivo de cribado de alergias respiratorias y ORL, SX01 (6). Este reactivo está compuesto por alérgenos moleculares, lo que permite su amplia estandarización, a diferencia de los reactivos compuestos por extractos de alérgenos como Phadiatop (Thermo Fisher Scientific) que se utiliza ampliamente en las pruebas de rutina. El reactivo SX01 incluye Der p 1-2 de ácaros del polvo, Can f 1-2-3-5 de perros, Fel d 1 de gatos, Bet v 1 de abedul, Phl p 1 de gramíneas y Art v 1 de plantas herbáceas. El reactivo se evaluó en 188 sueros de pacientes participantes en el *Estudio Multicéntrico Alemán de Alergia* (MAS) que presentaban sensibilidades únicas o múltiples evaluadas en el ImmunoCAP por PhadiaTop, mediante la investigación de IgE específica de extractos de alérgenos y alérgenos recombinantes. La IgE se reveló positivamente (análisis cuantitativo) en el 96,4% para el Phadiatop, en el 87,7% para la IgE específica de extractos y en el 87,7% para los alérgenos moleculares. Según los autores, la sensibilidad del SX01 fue del 82,4% para el Phadiatop, del 89,0% para la IgE específica de extractos y del 93,5% para los alérgenos moleculares; la especificidad fue del 96,1% para el Phadiatop, del 97,6% para la IgE específica de extractos y del 100% para los alérgenos moleculares. Los coeficientes de correlación, considerados de buenos a excelentes, fueron de 0,84, 0,87 y 0,90 (Spearman). Los conflictos se explicaron por valores muy próximos al umbral de 0,35 kUA/L y la sensibilidad solo representada por IgE específica para Phl p 5 y Alt a 1. Por lo tanto, este estudio validó el prototipo de reactivo de cribado basado únicamente en alérgenos moleculares. Desde entonces, el reactivo ha sido mejorado mediante la adición de Phl p 5 y Alt a 1 por Hycor Biomedical.

#### 3. INTERFERENCIA DE LA IgE DERIVADA CON LAS FRACCIONES GLICOSILADAS

El sistema Noveos utiliza un método de ensayo de quimioluminiscencia, que es diferente del ImmunoCAP, que utiliza una fase sólida a base de celulosa, que es potencialmente la fuente de reacciones de reactividad cruzada debido a IgE anti-CCD (*Determinantes de Carbohidratos de Reacción Cruzada*). Un artículo de 2020 (7) también sugiere que la técnica empleada en el sistema Noveos no muestra ninguna interferencia de IgE anti-CCD. Los autores de este artículo evaluaron la detección de IgE específica de cacahuets, polen de abedul y polen de phleum, antes y después de tratar los sueros con un inhibidor de CCD, mediante la técnica ImmunoCAP en el sistema Phadia y por quimioluminiscencia en Noveos. Demostraron que el 17 % de los sueros ofrecían un resultado falso de la técnica ImmunoCAP debido al IgE anti-CCD. Estos sueros eran negativos o tenían valores sin cambios en Noveos. Los autores sugirieron que el sustrato Sepharose era la causa de esta sobreestimación. Este estudio debe confirmarse.

## Composición del reactivo SX01 (Seguimiento en caso de una muestra positiva)

Caja 1

• <b>Ácaros domésticos</b>	d202 / d203 nDer p 1 / rDer p 2
• <b>Gato</b>	e094 rFel d1
• <b>Perro</b>	e232 rCan f 1, nCan f 3, rCan f 5
• <b>Plantas herbáceas</b>	g205 / g215 rPhl p 1 / rPhl p 5b (g213 (rPhl p 1 + rPhl p 5 b)) w231 rArt v 1, Artemisa
• <b>Árboles</b>	t215 rBet v 1, PR-10, Betula
• <b>Hongos</b>	m229 rAlt a 1, Alternaria alternata

Los artículos iniciales de la técnica desarrollada utilizando el sistema Noveos son interesantes y remarcan la importancia de la precisión clínica y tienen en cuenta la interferencia en la interpretación de los resultados IgE específica. Por tanto, se necesitan otros estudios para determinar con precisión el rendimiento del sistema Noveos basándose en las alergias de cohortes de pacientes. Actualmente, grupos de trabajo nacionales trabajan activamente.

## IV - PUESTA EN FUNCIONAMIENTO Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS

En su evaluación, investigación e innovación, el Laboratorio de Inmunología del Hospital Universitario de Burdeos evaluó de forma rutinaria el sistema Noveos entre junio y agosto de 2022. La instalación fue gestionada íntegramente por Hycor Biomedical y la verificación de los ajustes iniciales fue efectuada por el ingeniero de aplicaciones del proveedor. El suministro de agua del sistema estaba conectado a una unidad de ósmosis. Al no poder conectar el sistema de evacuación de residuos, el efluente se recogió en bidones.

La cualificación del sistema se realizó de acuerdo con el método del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) y las directrices SH-FORM-44. A continuación, presentamos brevemente los resultados obtenidos.

### 1. REPETIBILIDAD

Comenzamos evaluando la repetibilidad. Se determinó mediante 30 mediciones de tres niveles de sueros positivos (>5, entre 5 y 10, >10 kUA/L) para ácaros del polvo (d1), gato (e1) y polen de abedul (t3). Estos sueros se almacenaron a -20°C en el biobanco del laboratorio. Todos las pruebas fueron realizadas por un único operador. Se analizaron la medida y la desviación estándar de cada serie de mediciones y se compararon con los valores descritos en la bibliografía (8). Las desviaciones estándar fueron inferiores al 5,9 %, con un valor medio del 4,64 % para los tres niveles de cada alérgeno, lo que se ajusta a los requisitos de la bibliografía (<10 %).

### 2. REPRODUCTIVIDAD

La reproductividad o precisión intermedia fue evaluada después de crear reservas de sueros positivos para los tres niveles de d1, e1 y t3 (>5, entre 5 y 10, >10 kUA/L). Los sueros también se almacenaron en el biobanco del laboratorio. Se almacenaron alícuotas de 120 µL de las reservas a -20 °C y se descongelaron justo antes de ser analizadas para cada prueba. Se recogieron quince valores durante el periodo de prueba: se evaluaron la media y la desviación estándar y se compararon con los valores de referencia definidos (8). Las desviaciones estándar fueron inferiores al 8,56 % para cada alérgeno probado, con un valor medio del 6,57 %. Estos valores cumplían los requisitos de la bibliografía, que exige un CV inferior al 15%. También se tuvo en cuenta el resultado del control positivo en el cálculo del CV para f13, e1, t3 y d1. Los CV obtenidos fueron del 14,8 %, 13,78 %, 4,32 % y 9,56 %, respectivamente, por lo que se ajustaron a los requisitos de la bibliografía.

### 3. COMPARACIÓN DE FUNCIONAMIENTO

Se realizó una comparación de series con el sistema ImmunoCAP Phadia250 (Thermo Fisher Scientific) utilizado de forma rutinaria en el laboratorio: los sueros analizados en este sistema se almacenaron a +4°C para ser analizados al día siguiente en Noveos. En total, se compararon 115 sueros correspondientes a sensibilidades al ácaro del polvo doméstico (d1), gato (e1), huevo (f1), proteína de leche de vaca (f2), cacahuete (f13), polen de petróleo (g6), *Aspergillus fumigatus* (m3), *Alternaria alternata* (m6), látex (k82), veneno de abeja y avispa (i1 et i3), nueces (f256) y avellanas (f17). Habíamos definido la correlación positiva/negativa en el umbral acordado de 0,35 kUA/L y la correlación analítica estricta. El análisis cualitativo mostró una gran correlación con un coeficiente kappa de Cohen de 83,5 %. Se observaron diecinueve resultados contradictorios, positivos en ImmunoCAP y negativos en Noveos, principalmente en los hongos. El análisis cuantitativo de los 115 valores mostró un coeficiente de correlación de 0,963 ( $R^2 = 0,928$ ) para una pendiente de 0,99, lo que significa que la correlación analítica era adecuada. La intersección y fue de -1,37, lo que sugiere valores más bajos para Noveos. En efecto, el sesgo medio fue de -20,49 %.

Por tanto, el análisis de las medias de todos los valores demostró una diferencia entre los sistemas Phadia y Noveos ( $p = 0,067$ , prueba de Student), lo que confirma los valores más bajos en nuestro ensayo, debiendo investigarse aún tanto las causas como la interferencia de la IgE anti-CCD.

No se observó contaminación del control negativo ni de los sueros intercalados negativos con los sueros positivos.

La técnica de evaluación, el manejo y la gestión de la estación de trabajo fueron muy satisfactorios por los técnicos y los trabajadores de laboratorio que utilizaban el sistema, con ventajas relacionadas con el breve tiempo de preparación para los ensayos y el mantenimiento diario, la facilidad de gestión e los ajustes internos, la gestión de los reactivos y la ergonomía.

Todos estos elementos probaron que el sistema estaba instalado correctamente según la bibliografía y los requisitos de laboratorio. La correlación de los valores totales se consideró adecuada. El sistema Noveos fue validado para la investigación de sensibilidad biológica en un alérgeno determinado y permite al clínico sugerir un diagnóstico de alergia medida por IgE, además del historial clínico pertinente del paciente.

## V - EXPOSICIÓN

### 1. ENSAYOS DE IgE ESPECÍFICA

La singularidad de los ensayos de IgE específica en comparación con la mayoría de los demás parámetros que se analizan de forma rutinaria en los laboratorios de patología clínica está relacionada con el hecho de que existe un gran número de alérgenos frente a los que se pueden realizar. Los distintos proveedores de reactivos pueden proponer un panel de 80 a 600 alérgenos de referencia. Por lo tanto, no es posible analizar todos los alérgenos propuestos. A pesar de su diversidad, los alérgenos se comportan de la misma forma cuando se unen al mismo sustrato de reacción. El sitio web AllergoBioNet demostró que, para los ensayos de IgE específica, el analito se puede definir como IgE independientemente de su especificidad (9). La curva de calibración multipunto, común para todos los alérgenos, se calibra con respecto a una preparación de referencia internacional de la OMS para la IgE total (norma 11/234 de la OMS), que proporciona una concentración de IgE específica para un alérgenos en kUA/L. Se puede considerar que, independientemente de sus especificidades, todas las IgE específicas equivalen a un único analito: la IgE específica. Los criterios de rendimiento obtenidos para los alérgenos representativos de la actividad del laboratorio y los niveles de concentración cuidadosamente seleccionados, en un número definido de muestras, se extrapolan a todos los alérgenos. La validación del método se puede lograr a partir de un único alérgeno de referencia o de una gama muy reducida de alérgenos. Este punto ha sido analizado y tenido en consideración por Cofrac (el organismo de acreditación francés). Por ello, hemos realizado la cualificación a partir de tres alérgenos comunes, d1, e1 y t3 en tres niveles de valor. Teniendo en cuenta estas consideraciones, el método de validación es adecuado.

### 2. RENDIMIENTO ANALÍTICO

Los resultados de cualificación son consistentes con la bibliografía actual y las expectativas del laboratorio. La nueva generación del sistema de ensayo inmunológico automatizado de Noveos ofrece rendimientos analíticos adecuados en términos de repetibilidad, reproductividad y linealidad según los criterios de rendimiento descritos. Se han publicado criterios de rendimiento para el método de inmunoensayo enzimático por fluorescencia (FEIA) (ImmunoCAP); estos criterios necesitan, sin duda, una redefinición precisa para la quimioluminiscencia debido a la ausencia de un artículo dedicado a este método de detección.

Existe una buena correlación para todos los valores entre ImmunoCAP y el sistema Noveos. La media de los valores obtenidos y la intersección y de la curva de correlación muestran resultados inferiores para Noveos. Aunque la forma de realizar el ensayo es la misma que con ELISA, es importante recordar que los valores cuantitativos obtenidos pueden variar entre los distintos sistemas debido a sus características técnicas (unidades para expresar los resultados antes de convertirlos a kUA/L, sensibilidad, especificidad, interferencias, conjugación, amplificación de la señal y método de enfoque, etc.). En particular, el sistema Noveos no utiliza una fase sólida de celulosa, lo que limitaría los falsos positivos comunicados por Phadia al unir la IgE específica a la CCD (6). Además, actualmente no existe una norma internacional para los ensayos de IgE específica, pero sí para la IgE total, como se ha descrito anteriormente. Por tanto, los niveles de IgE específica para un alérgeno de referencia determinado difieren entre los diferentes proveedores (10). Además, cada proveedor tiene su propio método de fabricación para el alérgeno origen. Esta falta de normalización de los reactivos puede explicar en parte el conflicto observado entre los valores cuantitativos. El uso de alérgenos recombinados puede, de alguna manera, reducir esta disparidad considerable entre los reactivos, tal y como se ha demostrado con SX01 (6). No obstante, existen diferentes isoformas y presentaciones epitópicas para los alérgenos moleculares (11, 12). Por lo tanto, la validación del método no responde a la cuestión de los resultados contradictorios, y es necesario realizar estudios adicionales. Para superar este problema, el cambio de una prueba de inmunoensayo a otra se realiza con un periodo de superposición de resultados para garantizar el seguimiento del paciente. Entonces, este seguimiento se necesita realizar con la misma técnica. Lo mismo sucede con otros análisis fuera de la alergología, y el trabajador del laboratorio debe indicar en el informe del paciente qué técnica se ha utilizado.

Por último, la interpretación de los resultados es compleja en el caso de la IgE específica, y se debe realizar con cuidado.

Aunque hemos observado conflictos en la comparación de resultados positivos/negativos entre los sistemas ImmunoCAP y Noveos, esto se define sobre un umbral de 0,35 kUA/L determinado únicamente por ImmunoCAP. No puede aplicarse en sentido estricto a la quimioluminiscencia. Aunque los resultados cuantitativos no pueden compararse estrictamente por estas razones, debe entenderse que el rendimiento del diagnóstico sólo puede basarse en análisis de cohortes de pacientes alérgicos bien definidos y en la determinación de umbrales específicos para el complejo alérgeno/técnica/alergia. Todo esto debe dominarlo un trabajador de laboratorio responsable de las actividades de pruebas de alergia.

## VI - CONCLUSIÓN

El sistema Noveos, que utiliza quimioluminiscencia, posee un buen rendimiento analítico capaz de ser utilizado de

forma rutinaria en el laboratorio y no está sujeto a interferencias relacionadas con IgE anti-CCD. El sistema tiene diversas ventajas, como el pequeño volumen de ensayo que se realiza, lo que resulta beneficioso en el tratamiento de niños o en casos en los que se dispone de poco volumen de suero. El reactivo SX01 ha demostrado la ventaja clínica de utilizar alérgenos moleculares para el cribado de sensibilidad de aeroalérgenos. Este sistema resulta prometedor por las nuevas oportunidades que puede ofrecer para el futuro: la composición alérgica de los reactivos de cribado podría adaptarse en función de las necesidades (estación de polen, zona geográfica, exposición alimentaria o respiratoria, edad, ecología de hongos en el aire, "prueba de cribado a la carta", etc.). Al igual que con las demás técnicas disponibles, se necesitan estudios para validar los umbrales específicos de IgE en función de las manifestaciones clínicas y de estos nuevos usos.

## DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Los autores confirman que no existen conflictos de intereses.

## REFERENCIAS

- (1) MACCHIA D et al., Guidelines for the use and interpretation of diagnostic methods in adult food allergy, *Clin mol Allergy*, 2015; 13:27, doi:10.1186/s12948-015-0033-9
- (2) VAN HAGE M, HAMSTEN C, VALENTA R, ImmunoCAP assays: Pros and cons in allergology, *JAllergy Clin Immunol*, 2017; 140(4):974-977, doi:10.1016/j.jaci.2017.05.008
- (3) BAUERSACHS D, POTAPOVA E, RENZ H, BENES SH, MATRICARDI PM, SKEVAKI C, Validation of the analytical performance of the NOVEOS™ System, a system which improves upon the third-generation in vitro allergy testing technology, *Clin Chem Lab Med*, 2020; 58(11):1865-1874, doi:10.1515/cclm-2020-0535. PMID: 32549134
- (4) POTAPOVA E, BAUERSACHS D, VILLELLA V, MENEGUZZI G, SCALA E, SFIKA I, TRIPODI S, PANETTA V, DRAMBURG S, SKEVAKI C, MATRICARDI PM, Validation study of a new chemiluminescent singleplex IgE assay in a set of Italian allergic rhinitis patients, *Clin Exp Allergy*, 2021; 51(4):604-613, doi:10.1111/cea.13785. Epub 2020 Dec 20, PMID: 33174280
- (5) PHILIPPE R, DAHAN J, VITTE J, KLINGEBIEL C, Tests multi-allergéniques de dépistage respiratoire: comparaison des performances techniques, *Revue Française dAllergologie*, 2022; 62(3):314, doi:10.1016/j.reval.2022.02.060
- (6) POTAPOVA E, PANETTA V, GRABENHENRICH L, ICKE K, GRÜBL A, MÜLLER C, ZEPP F, SCHUSTER A, WAHN U, LAU S, KEIL T, MATRICARDI PM, A singleplex IgE test to a mixture of molecules from multiple airborne allergen sources: Innovating in vitro screening of respiratory allergies, *Pediatr Allergy Immunol*, 2022; 33(11):e13867, doi:10.1111/pai.13867, PMID:36433848
- (7) SINSON E, OCAMPO C, LIAO C et al., Cross-reactive carbohydrate determinant interference in cellulose-based IgE allergy tests utilizing recombinant allergen components, *PLoS One*, 2020; 15(4):e0231344, Published Apr 23, 2020, doi:10.1371/journal.pone.0231344
- (8) GORET J, COUDERC R, GARNIER L, GRENIER A, VITTE J, SARRAT A, et pour AllergoBioNet, Recommandations d'AllergoBioNet pour les critères de performance des dosages d'IgE et de la tryptase, *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020; 63-65, doi:10.1016/S1773-035X(20)30129-5
- (9) C LAMBERT, A SARRAT, F BIENVENU, S BRABANT, P NICAISE-RO-LAND, M-A ALYANAKIAN, P-A APOIL, C CAPRON, R COUDERC, B EVRARD, D JABY, C HÉMONT, C LAINÉ, M LELONG, D MARIOTTE, J MARTINET, G RÉNIER, J SAINTE-LAUDY, T TABARY, E TREINER, B URING-LAMBERT, C VIGNERON, M VIVINUS, F WITTHUHN, J VITTE, AllergoBioNet sIgE accreditation interest group, The importance of EN ISO 15189 accreditation of allergen-specific IgE determination for reliable in vitro allergy diagnosis, *Allergy*, 2015; 70(2):180-6
- (10) HAMILTON RG, HEMMER W, NOPP A, KLEINE-TEBBE J, Advances in IgE testing for diagnosis of allergic disease, *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2020; 8(8):2495-2504, doi:10.1016/j.jaci.2020.07.021
- (11) GOIKOETXEA MJ, SANZ ML, GARCIA BE, MAYORGA C, LONGO N, GAMBOA PM and the members of the Immunology Committee of SEALC, Recommendations for the Use of In Vitro Methods to Detect Specific Immunoglobulin E: Are They Comparable?, *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2013; 23(7):448-454
- (12) KLEINE-TEBBE J, POULSEN LK, HAMILTON RG, Quality management in IgE-based allergy diagnostics, *J Lab Med*, 2016; 40(2):81-96, doi:10.1515/labmed-2016-0013