EVALUACIÓN DE UN EQUIPO AUTOMÁTICO PARA EL ESTUDIO GENÉTICO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA

Roigé Buixadé Jordi,Ramos Ocaña Àngels,Vidal Martinez, Judith.
Catlab, Viladecavalls. Barcelona

INTRODUCCIÓN:

El principal factor genético descrito y que afecta a más del 95% de los celíacos ,se localiza en el complejo de histocompatibilidad y se debe a la combinación alélica de los heterodímeros HLA-DQ2 (*HLA-DQA1*05 y HLADQB1*02) y HLA-DQ8 (HLA-DQA1*03 y HLA-DQB1*0302).*
El procedimiento que utilizamos en nuestro laboratorio para las muestras de rutina hasta el momento (AID), identifica los alelos de susceptibilidad pero no informa si están en estado homocigótico o heterocigótico. Cuando el clínico lo solicita, realizamos el estudio completo de celiaquía mediante el kit comercial de Innogenetics. Para ambos procedimientos utilizamos el equipo Autolipa (Innogenetics).
El equipo que vamos a estudiar, de la casa comercial Bag Healthcare , se llama Mr. Spot y nos da la información del estado de homocigosis o heterocigosis de todos los alelos que forman parte de los heterodímeros DQ2 / DQ8.Utiliza una tecnología de hibridación reversa en microarrays.

OBJETIVOS:

Evaluar los resultados del estudio genético obtenidos mediante el equipo Mr. Spot y compararlos con los equipos de AID e Innogenetics. Estudiar la eficiencia y la practicabilidad del equipo Mr. Spot. Ampliar y mejorar el informe genético para la enfermedad celíaca con la incorporación de nuevos alelos del sistema HLA.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se procesan 40 muestras procedentes de los Servicios de Gastroenterología del Hospital Universitario Mútua de Terrassa y del Consorci Sanitari de Terrassa y 8 controles externos (GECLID).
La extracción de los ácidos nucléicos se obtiene con el extractor automático Qiacube (Qiagen). La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) se realiza mediante el termociclador Flexicycler (Analytikn Jena) y para la posterior hibridación reversa se utiliza el sistema automático Mr. Spot (Bag Healthcare).
Las 40 muestras se procesan en paralelo con ambos kits (Mr. Spot y AID) y los 8 controles con Mr. Spot e Innogenetics.

QIACUBE. EXTRACCION ADN

TERMOCICLADOR FLEXICYCLER. PCR

MR SPOT. DETECCIÓN

RESULTADOS:

Los resultados de los 40 pacientes (fig.3) son similares en los dos equipos (Mr. Spot- AID). Las diferencias que encontramos son debidas a que el equipo Mr. Spot nos da una mayor información a nivel de alelos que permite obtener un estudio genético más exhaustivo.
Los resultados de los 8 controles externos (fig.2) no presentan ninguna diferencia entre ambos equipos (Mr. Spot- Innogenetics).
En la figura 1 podemos ver la pantalla de resultados que nos ofrece el equipo Mr. Spot.

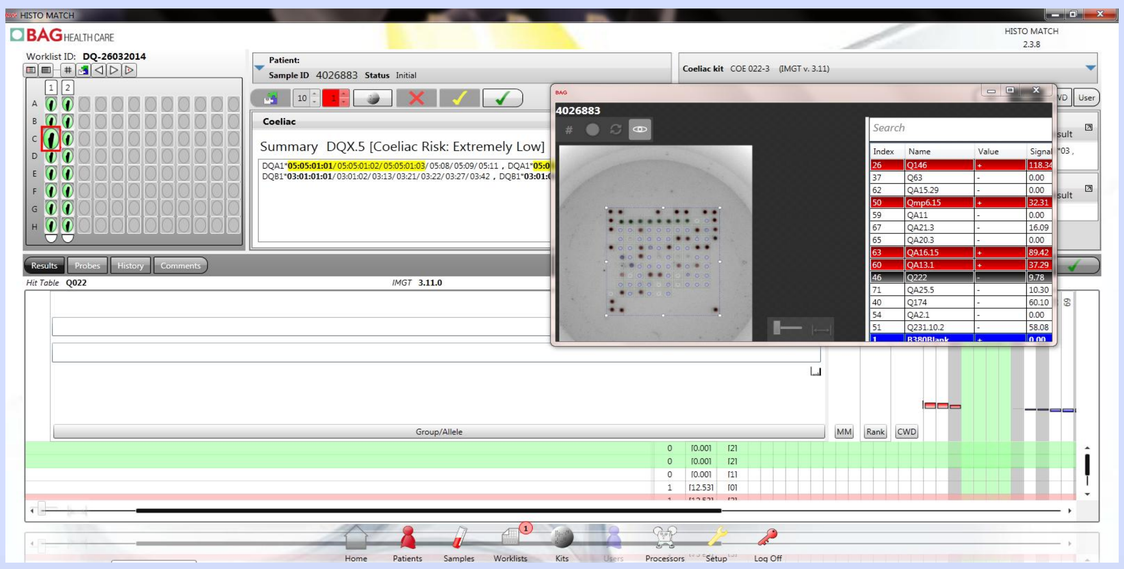

Figura 1. Visualización resultados equipo Mr. Spot

Nº Control	Equipo Innogenetics	Equipo Mr. Spot
CC-Geclid-05-2013	DQ2.5+A1*0201	DQ2.5+A1*0201
CC-Geclid-06-2013	DQ8+A1*0505	DQ8+A1*0505
CC-Geclid-07-2013	A1*0301	A1*0301
CC-Geclid-08-2013	Otros alelos HLA-DQ	Otros alelos HLA-DQ
CC-Geclid-01-2014	DQ8	DQ8
CC-Geclid-02-2014	DQ2.5	DQ2.5
CC-Geclid-03-2014	DQ2.2	DQ2.2
CC-Geclid-04-2014	DQ2.5	DQ2.5

Figura 2. Resultados obtenidos de los 8 controles externos mediante los dos equipos comparados.

Nº muestra	Equipo AID	Equipo Mr. Spot
2227904	A1*0505	A1*0505
4892570	Otros alelos HLA-DQ	Otros alelos HLA-DQ
5654948	A1*0505	A1*0505
1808045	-	A1*0201
5653316	DQ2.5+A*10301	DQ2.5+A*10301
5652623	DQ2.5+A1*0505	DQ2.5+A*10505
4267425	B1*0202	A1*0201+B1*0202
5651952	B1*0202	A1*0201+B1*0202
1736044	A1*0505	A1*0505
1845281	DQ2.5	DQ2.5
4023432	A1*0505	A1*0505
4424758	A1*0501	A1*0501
5644924	Otros alelos HLA-DQ	Otros alelos HLA-DQ
4732259	DQ8	DQ8 + A1*0201
5644355	DQ8	DQ8
1804574	DQ2.5	DQ2.5 +A1*0201
1892317	B1*0202	A1*0201+B1*0202
2659273	DQ8	DQ8
4259700	DQ8	DQ8
4384085	Otros alelos HLA-DQ	Otros alelos HLA-DQ
0929497	B1*0202	A1*0201+B1*0202
1802215	DQ2.5	DQ2.5
2082301	DQ2.5	DQ2.5
2404064	DQ2.5	DQ2.5
4384097	DQ2.5	DQ2.5
4422525	DQ2.5+A1*0301	DQ2.5+A1*0301
4597112	A1*0505	A1*0505
1625330	A1*0505	A1*0505
2211518	DQ2.5+A1*0301	DQ2.5+A1*0301
4480326	DQ8	DQ8
5634519	B1*0202	A1*0201+B1*0202
5634638	B1*0202	A1*0201+B1*0202
4742954	Otros alelos HLA-DQ	Otros alelos HLA-DQ
1657066	DQ2.5	DQ2.5
1498431	DQ2.5	DQ2.5
2712182	DQ2.5+A1*0301	DQ2.5+A1*0301
1847967	A1*0505	A1*0505
1720506	DQ8 +B1*0202	DQ8 +A1*0201+B1*0202
5481337	Otros alelos HLA-DQ	Otros alelos HLA-DQ
4766586	-	A1*0201

Figura 3. Resultados obtenidos de los 40 pacientes estudiados mediante los dos procedimientos.

CONCLUSIONES:

La comodidad y utilidad del equipo Mr. Spot es muy superior a la de los dos equipos utilizados en Catlab (AID e Innogenetics).
A nivel de resultados, el equipo Mr. Spot es equiparable con el equipo Innogenetics ya que los dos nos dan una información completa de todos los alelos HLA-DQA y HLA-DQB, así como el estado de homocigosis de los mismos. Sin embargo, los resultados del equipo AID son más limitados. No permite saber si los alelos están en homocigosis o no, y sólo informa de determinados alelos relacionados con la enfermedad celíaca. La suma de estos hechos, una mayor practicabilidad y unos resultados más completos, nos han motivado a introducir el equipo Mr. Spot y prescindir de los otros en nuestra rutina diaria asistencial.