

HITACHI

 Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

PROSPECTO INTERNACIONAL PRUEBA DE DILUCIÓN ALTERNATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE IgE ALERGENO ESPECÍFICA CLA® AP 1800

Para diagnóstico *in vitro*. Producto de un solo uso

Doc.No 0716
DCO 9680 Rev.: 03
Rev. Date: 4/20/09

1 Indicaciones de uso

El método para la detección de la IgE alérgeno específica CLA® AP 1800, es una prueba *in vitro* para la determinación semicuantitativa de la concentración de IgE contra alérgenos específicos presentes en una muestra de suero humano, mediante el uso del instrumento automático AP 1800. Se ha desarrollado un método de dilución que se emplea cuando el volumen de la muestra del paciente no es suficiente para efectuar la prueba sin dilución. En método incorpora un cambio en los valores de corte, tal como se describe más abajo. Una vez que se implementa el cambio en los valores de corte sólo pueden analizarse en el instrumento muestras diluidas. Los métodos de dilución tendrán menor sensibilidad y/o especificidad, según se define en la sección 13.

2 Principio de la prueba

La prueba para la determinación de la IgE alérgeno específica CLA® AP 1800 se realiza en un pequeño dispositivo plástico denominado cámara de prueba (*pette*), en la cual la muestra de suero del paciente es expuesto simultáneamente a varios alérgenos o mezclas de alérgenos. La cámara de prueba contiene filamentos de celulosa dispuestos individualmente, donde cada uno de ellos tiene un determinado alérgeno o una mezcla de alérgenos unidos por uniones covalentes. Cada cámara de prueba también contiene un control positivo que comprueba el rendimiento de los reactivos durante el procedimiento, un control negativo (blanco) y un control indicador de detección de muestra de suero.

La prueba para la determinación de la IgE alérgeno específica CLA® se efectúa en el instrumento AP 1800 y que requiere la previa dispensación de la suficiente muestra de suero del paciente en la copa de muestra. La muestra de suero debe utilizarse sin diluir, como se explica en el prospecto para la prueba doc 0665. Alternativamente, se puede utilizar un procedimiento donde la muestra de suero del paciente puede ser diluida 1:2, es decir, pueden mezclarse cantidades iguales de la muestra del paciente y del diluyente de muestras AP1800. Este procedimiento deberá utilizarse únicamente cuando el volumen de la muestra del paciente es insuficiente para efectuar la prueba sin dilución.

La IgE presente en el suero se une, durante la incubación, a los filamentos de celulosa que contienen el alérgeno. A continuación, la cámara de prueba es lavada automáticamente con solución tamponada para eliminar los componentes de suero no unidos. Posteriormente, se agrega a la cámara de prueba el anticuerpo anti-IgE marcado con enzima, el cual se unirá a la IgE sérica que previamente unida a los filamentos de celulosa. Después de un segundo lavado, se llena la cámara de reacción con una mezcla de reactivos fotoreactiva que reacciona con el anticuerpo marcado y produce la emisión de

quimioluminiscencia. La cantidad de luz emitida por cada filamento es directamente proporcional a la cantidad de IgE específica frente al alérgeno presente en la muestra de suero del paciente.

3 Reactivos/componentes

Equipo de diluyente de muestras AP 1800,
Consérvese a una temperatura de 2 a 8°C hasta la fecha de caducidad. No congelar.

Materiales requeridos:

Equipo de diluyente de muestras AP1800: 3 frascos, 100 ml

Contenido de la solución:

Salina tamponada con fosfato 0,01 M,
Polietilenglicol al 3%, suero de caballo al 10%,
Surfactante, conservante y colorante amarillo.

4 Precauciones

- La prueba para la determinación de la IgE alérgeno específica CLA® AP 1800 es para diagnóstico *in vitro*.
- No use los componentes del equipo después de la fecha de caducidad. La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes.
- El equipo de reactivos de la prueba para la determinación de la IgE alérgeno específica CLA® AP 1800 es universal y puede emplearse con otras cámaras de prueba de otros equipos.
- Mezcle el contenido del frasco de diluyente de muestras invirtiéndolo suavemente varias veces.

5 Instrucciones para la conservación

- Conserve los componentes del equipo a 2-8°C. Si se conservan como se indica, los componentes pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa en las etiquetas de los componentes individuales.
- No congele los componentes del equipo.
- No use componentes del equipo que presenten signos de deterioro. Los signos de deterioro comprenden olores fuera de lo normal, y otras indicaciones de contaminación.

6 Preparación de las muestras y de las cámaras de prueba

Manipule todas las muestras del paciente y los componentes del equipo según las recomendaciones para el manejo de cualquier muestra de suero o sangre humanos potencialmente infecciosos. Cumpla con las precauciones universales o con las normativas de su centro para la manipulación de muestras de pacientes.¹⁻³

Dispensar la muestra de suero del paciente en la copa de muestra mediante una punta desechable.

El volumen mínimo de muestra de suero humano que se requiere para **cada una** de las cámaras de prueba son las siguientes:

Una cámara de prueba de 33 alérgenos requiere 1,5 ml de suero
Una cámara de prueba de 28 alérgenos requiere 1,4 ml de suero
Una cámara de prueba de 18 alérgenos requiere 1,1 ml de suero

Debe seguirse el siguiente protocolo para la obtención, preparación y conservación de la muestra de suero para uso en las pruebas de alergia AP 1800 CLA:

1. Recoja una muestra de sangre venosa en un tubo de separación de suero o tubo con tapa roja de 10 ml. No es necesario que el paciente esté en ayunas. No se requiere ningún preparativo en especial.

NOTA: el suero hemolizado o lipémico puede afectar negativamente al rendimiento de la prueba AP 1800 CLA® para determinación de IgE alérgeno-específica.

2. Permita que la sangre se coagule en el tubo de extracción durante **1 hora** a temperatura ambiente.

- Centrifugue el tubo con la sangre coagulada durante 10 a 20 minutos a 2.000-3.000 x g o 2.500-3.600 rpm.

NOTA: el uso del sistema de freno de la centrífuga puede hacer que el sedimento (pellet) se suelte y esto puede producir niveles altos de señal de fondo y resultados erróneos. Desactive el freno de la centrífuga antes de centrifugar las muestras de suero.

- Transfiera el suero a un tubo de plástico limpio para su almacenamiento y etiquetado adecuado.
- Las muestras de suero pueden conservarse a 2-8°C hasta un máximo de una semana después de la extracción. Para conservar durante períodos más largos, congele las muestras a -20°C.

NOTA: debe evitarse congelar y descongelar las los tubos de muestras repetidamente. Después de descongelar una muestra congelada, debe mezclarse muy antes de su centrifugación.

- Extraiga de la bolsa de plástico las cámaras de prueba que necesite. Cierre bien la bolsa de plástico y guarde las que no necesite en la nevera.
- Seque la humedad del exterior de cada cámara de prueba. Golpee suavemente el extremo de la cámara de prueba sobre una toalla de papel absorbente para eliminar todo líquido residual contenido en el interior de la cámara de prueba.

7 Dilución de las muestras de suero

Este procedimiento debe utilizarse únicamente cuando el volumen de la muestra del paciente no es suficiente para realizar el protocolo estándar. Con este método se obtendrá una sensibilidad más baja, según se describe en la sección 13.

- Determine el volumen de suero necesario como se describe en la sección 6.
- Prepare una dilución de 1:2 del suero, poniendo en un recipiente limpio cantidades iguales de la muestra de suero del paciente y del diluyente de muestras AP1800.
- Mezcle y añada los sueros diluidos al vaso desechable para muestras
- Siga el procedimiento estándar
- También puede ponerse en contacto con su distribuidor para implementar los cambios en los valores de corte de clase en el software AP 1800 DMS

NOTA: una vez implementados los cambios de los valores de corte, deben utilizarse exclusivamente muestras diluidas.

8 Procedimiento del ensayo

Consulte la *Guía del Usuario del AP 1800* para obtener instrucciones detalladas sobre la prueba para la determinación de la IgE alérgeno específica CLA® AP 1800 y el uso del instrumento AP 1800.

9 Control de calidad

A. Filamentos de control interno

Cada cámara de prueba contiene un control positivo que comprueba el rendimiento de los reactivos durante el procedimiento, un control negativo (blanco), y un control indicador de suero. Estos filamentos sirven como indicadores internos en cada cámara de prueba.

Control positivo para el procedimiento: El control positivo sirve para comprobar el rendimiento de los reactivos del equipo durante el procedimiento. Los controles positivos para el procedimiento deben producir lecturas iguales o superiores a 243 UL en el AP 1800.

Control negativo (blanco): El control negativo (blanco) compensa por cualquier unión no específica de IgE que pueda ocurrir. El control negativo (blanco) debe producir una lectura igual o inferior a 9 UL en el AP 1800.

Control indicador de suero: El control indicador de suero sirve para asegurar que el suero del paciente fue aspirado hasta el extremo parte superior de la cámara de prueba. Como medida de precaución, si el suero no alcanza la parte superior, el AP 1800 no generará el informe de los resultados de la prueba.

B. Sueros control IgE positivo e IgE negativo

Hitachi Chemical Diagnostics recomienda que cada nuevo lote de reactivos y cámaras de prueba para la prueba para la determinación de la IgE alérgeno específica CLA® AP 1800 sean sometidos a una prueba con dos controles: reactivo para control positivo AP 1800 y reactivo para control negativo AP 1800. Las instrucciones sobre su uso y aceptabilidad de los resultados, consulte el prospecto de los reactivos para controles positivo y negativo AP 1800. Las agencias reguladoras pueden requerir un uso más frecuente de los controles positivo y negativo, Consulte con la agencia reguladora correspondiente para obtener información detallada.

10 Resultados

El instrumento AP 1800 mide la cantidad de luz emitida por los filamentos de las cámaras de prueba. Este instrumento mide la emisión de luz en unidades de luminiscencia (UL). Para calcular la respuesta de IgE del paciente, el instrumento descuenta automáticamente el nivel de emisión de luz del filamento control negativo (blanco) del nivel de emisión de cada filamento para cada IgE específico. Los valores CLA se clasifican de 0 a 6, según la cantidad de luz emitida por los filamentos individuales de la cámara de prueba. A partir de estos valores, se obtiene el sistema de puntuación de alergia en valores CLA de la prueba para la IgE alérgeno específica CLA AP 1800. Se ha desarrollado y validado un sistema de puntuación alternativo para el método de dilución. La correspondencia entre las cantidades de IgE, los valores CLA y las lecturas del instrumento se muestran en las tablas siguientes.

Sistema de puntuación de alergia en la clase CLA con método de dilución para el AP1800, con cambios en los valores de corte:

Clase CLA	UL netas	Concentración de la IgE alérgeno específica
0	0-49	No detectable
1	50-70	Baja
2	71-300	Moderada
3	301-1000	Alta
4	1001-1400	Muy alta
5	1401-1650	Muy alta
6	>1650	Muy alta

Los valores iguales o superiores a 1 en la clasificación CLA indican concentraciones progresivamente crecientes de anticuerpos contra alérgenos específicos. La clase CLA 0 indica ausencia o niveles no detectables de anticuerpos contra alérgenos específicos.

11 Limitaciones de la prueba

- El suero hemolizado o lipémico puede afectar negativamente al rendimiento de la prueba para IgE alérgeno específica CLA® AP 1800.
- El diagnóstico clínico definitivo y los regímenes de administración de inmunoterapia no deben basarse únicamente en los resultados de ninguna prueba diagnóstica aislada, sino que deben ser formulados por el médico después de la valoración de todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.
- La prueba para IgE alérgeno específica CLA® AP 1800 proporciona resultados semicuantitativos. El método no tiene un estándar absoluto y sus niveles de clasificación se definieron arbitrariamente.
- Puesto que la capacidad de unión del anticuerpo IgE específico puede variar de alérgeno a alérgeno, el hecho que alérgenos

diferentes sean clasificados de manera similar no implica necesariamente una equivalencia clínica.

- En las pruebas de alergia a alimentos, podría no ser posible detectar los anticuerpos IgE circulantes si éstos están dirigidos contra formas alteradas de los alérgenos (p. ej., cocidos, procesados o digeridos) y estas formas alteradas poseen características diferentes a las de los alérgenos utilizados en la prueba. Los resultados falsos positivos en pruebas efectuadas en personas con alergia a alimentos pueden llevar a restricciones inapropiadas en la dieta, mientras que los resultados falsos negativos en personas con sensibilidad a los alimentos pueden dar lugar a reacciones anafilácticas de distinto grado de gravedad.
- En las pruebas de alergia a alérgenos inhalados, los resultados falso positivos pueden conducir a la prescripción de medicación inadecuada en esas personas. Los resultados falsos negativos pueden llevar a la falta de tratamiento médico adecuado.
- El control indicador de suero garantiza que el suero del paciente fue aspirado hasta el extremo superior de la cámara de prueba. No garantiza que la cámara de prueba haya sido completamente llenada con el suero del paciente.
- Una respuesta de IgE alérgeno específica de nivel bajo debe interpretarse con cuidado si los valores totales de IgE son superiores a 1.000 UI/ml.
- La obtención de resultados fiables y reproducibles requiere que los procedimientos de la prueba se efectúen estrictamente según las instrucciones de uso del producto y en total conformidad con buenos procedimientos de control de calidad.
- Se observó que la contaminación con hipoclorito de sodio (lejía) puede alterar la prueba.
El material de laboratorio que ha sido descontaminado con hipoclorito de sodio debe ser aclarado profusamente con agua destilada o desionizada.

United States of America
Tel. (650) 961-5501
Fax (650) 969-2745

Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire SL6 8YA
Reino Unido
Tel. 44 (0) 1628 585 590
Fax 44 (0) 1628 585 594

©2008, Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
CLA es una marca registrada de Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

Fabricado bajo uno o más de los siguientes números de patente de Estados Unidos: 3,941,876, 4,031,197, 4,459,360 (y patentes correspondientes extendidas en Canadá, Australia, Japón, España, Francia, Alemania, Italia, Suecia y Gran Bretaña), 4,510,393, 4,558,013, 5,567,149 (y patentes correspondientes extendidas en Canadá, Australia, Japón, España, Francia, Alemania, Italia, Suecia, Suiza, Austria, Bélgica, Países Bajos, Luxemburgo y Gran Bretaña), 4,568,184, 285,485, 4,743,541 (y patentes correspondientes extendidas en Canadá, Australia, Japón, Francia, Alemania, Suecia, Suiza y Gran Bretaña) y 5,082,768 (y patente correspondiente extendida en Japón).

12 Valores esperados

La puntuación CLA para el instrumento AP 1800 se determinó originalmente en estudios científicos que establecieron curvas de calibración mediante el uso de suero que contenía anticuerpos IgE específicos contra múltiples alérgenos.

13 Características de rendimiento del procedimiento estándar

Comparación de métodos in vitro para la alergia y el método con dilución con cambio en los valores de corte:

El rendimiento esperado es: sensibilidad de aproximadamente el 80%, especificidad de aproximadamente el 98%, en comparación con el método sin dilución. Sensibilidad de aproximadamente el 85%, especificidad de aproximadamente el 95% en comparación con otra prueba de alergias.⁴

Nota: No existen alérgenos de referencia estándar para la comparación de métodos ni para la mayoría de los alérgenos clínicamente importantes.

14 Bibliografía

1. U.S. Dept. of Health and Human Services. Centers for Disease Control. Guidelines For Prevention of Transmission of Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis B Virus to Health-Care and Public-Safety Workers. February 1989.
2. Richardson SH, Barkley WE, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. 2nd ed. Washington, DC: US Dept of Health and Human Services, 1988.
3. Federal OSHA Standard 1910.1030. *Bloodborne pathogens*. 29 CFR 1910.1030.
4. Pueden proporcionarse los datos si son solicitados.

Para asistencia técnica, póngase en contacto con Hitachi Chemical Diagnostics. Fuera de los Estados Unidos, póngase en contacto con el representante local de Hitachi Chemical Diagnostics.

Oficinas en Estados Unidos
Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
630 Clyde Court
Mountain View, California 94043

Oficinas europeas
Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
Hitachi Europe Ltd.
Whitebrook Park