

HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

PROSPECTO INTERNACIONAL PRUEBA PARA DETERMINACIÓN DE IgE ALERGENO-ESPECÍFICA CLA®



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

Doc.No. 0625-05
Rev.: 05
Rev. Date 0209

1 Indicaciones de uso

La prueba para determinación de IgE alérgeno-específica CLA® (CLA® Allergen-Specific IgE Assay) es un ensayo *in vitro* para la determinación semicuantitativa de la concentración de IgE sérica humana circulante contra alérgenos específicos.

2 Resumen y explicación de la prueba

La alergia atópica es un trastorno inmunitario de hipersensibilidad mediado por una clase específica de anticuerpos séricos denominados reagentes, identificados como inmunoglobulinas E (IgE) a mediados de la década de los sesenta.^{1,2} Cuando son estimulados por un alérgeno específico, los linfocitos B inmunocompetentes producen anticuerpos de clase IgE contra ese alérgeno. El anticuerpo IgE se une por medio de su fragmento Fc a los receptores presentes en la superficie de mastocitos y leucocitos basófilos.³ La unión subsiguiente de alérgeno a la IgE específica unida a dichas células induce la liberación de gránulos celulares y la liberación de aminas vasoactivas, fenómenos que causan contracción del músculo liso, prurito, tumefacción y pérdida de líquido extracelular a través de mucosas. Las manifestaciones clínicas más comunes de estos procesos biológicos son fiebre del heno, asma, dermatitis, urticaria y *shock* anafiláctico. La valoración en un paciente del nivel de IgE contra varios alérgenos es útil para el diagnóstico y tratamiento de la alergia atópica.^{4,5}

La prueba para determinación de IgE alérgeno-específica CLA se basa en una modificación no isotópica del método original de radioalergoabsorbencia (RAST, sigla en inglés de *radioallergosorbent test*), y permite la determinación simultánea en un paciente de los niveles de IgE contra varios alérgenos específicos.⁶ Se obtienen resultados semicuantitativos usando un sistema de clasificación similar al utilizado en las pruebas RAST. Todos los paneles de alérgenos de las pruebas CLA incorporan controles internos que evalúan el rendimiento del ensayo y compensan la unión no específica en la muestra de suero del paciente. La prueba para determinación de IgE alérgeno-específica CLA combina la especificidad y sensibilidad de los métodos RAST con la comodidad y simplicidad de las pruebas no isotópicas para determinación simultánea de varios alérgenos.⁷

3 Principio de la prueba

La prueba para determinación de IgE alérgeno-específica CLA se realiza en un pequeño dispositivo de plástico, denominado cámara de prueba, en el cual el suero del paciente se pone en contacto simultáneamente con varios alérgenos o mezclas de alérgenos. La cámara de prueba contiene una serie de filamentos individuales de celulosa, cada uno de los cuales tiene unido de forma covalente un alérgeno o una mezcla de alérgenos. Cada cámara de prueba contiene también un control negativo (blanco) y un control positivo para el procedimiento.

La prueba para determinación de IgE alérgeno-específica CLA se efectúa llenando la cámara de prueba con el suero del paciente. La IgE del suero se une, durante la incubación, a los filamentos de celulosa

recubiertos de alérgeno. A continuación, se lava la cámara de prueba con una solución tamponada para eliminar los componentes de suero no unidos. Posteriormente, se agrega a la cámara de prueba un anticuerpo contra IgE marcado con enzima, el cual se unirá a la IgE sérica previamente unida a los filamentos de celulosa. Después de un segundo lavado, se llena la cámara de prueba con una mezcla fotorreactiva que reacciona con el anticuerpo marcado y produce quimioluminiscencia. La cantidad de luz emitida por cada filamento es directamente proporcional a la cantidad de IgE específica para los alérgenos presentes en el suero del paciente.

4 Reactivos / componentes

Prueba para determinación de IgE alérgeno-específica CLA® *

Conservar a una temperatura de 2 a 8°C hasta la fecha de caducidad. No congelar.

Descripción de los componentes

Cada kit para 20 pruebas

contiene

Cámaras de prueba

20 cámaras de prueba

Alérgenos o mezclas de alérgenos específicos unidos covalentemente a los filamentos de celulosa

Concentrado de solución de lavado tamponada Dos frascos de 50 ml cada uno

Al diluirla, esta solución contiene tampón fosfato salino 0,01 M, Tween 20 al 0,1% y azida sódica al 0,001% como agente conservante

Anticuerpo IgE

Un frasco de 32 ml

La solución contiene:

Solución de color azul con anticuerpo de cabra contra IgE humana marcado con enzima, tampón fosfato salino 0,01 M, pH 7,2, estabilizadores proteicos, Proclin® al 0,1% como agente conservante.

Agente fotorreactivo A

Un frasco de 8 ml

La solución contiene:

Luminol (5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinediona) 14-30 mM

Agente fotorreactivo B

Un frasco de 8 ml

La solución contiene:

Tampón borato 0,05 M, pH 9,4

Agente fotorreactivo C

Un frasco de 8 ml

Solución de color rojo con:

Etil naranja 0,0025 M

Agente fotorreactivo D

Un frasco de 8 ml

La solución contiene:

Peróxido de hidrógeno 0,004 M

Tapones de goma para la cámara de prueba (color negro) 22 Tapones
Para la parte superior de las cámaras de prueba

Tapones de goma para la cámara de prueba (color blanco) 22 Tapones
Para la base de las cámaras de prueba

* El kit puede adquirirse en varias configuraciones. Póngase en contacto con el representante local de Hitachi Chemical Diagnostics para obtener más información.

5 Precauciones

- La prueba para determinación de IgE alérgeno-específica es únicamente para diagnóstico *in vitro*.
- El concentrado de solución de lavado tamponada contiene azida sódica como agente conservante. Se ha informado que la azida sódica reacciona con el plomo o el cobre de las cañerías y forma azidas metálicas potencialmente explosivas. Por lo tanto, tome las precauciones adecuadas cuando deseche este reactivo, y siempre haga correr suficiente cantidad de agua para prevenir la acumulación de azidas metálicas en los sistemas de cañerías.⁸

- No use los componentes del kit después de la fecha de caducidad. La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes.
- Los reactivos provistos en los kits de la prueba para determinación de IgE alérgeno-específica pertenecen a lotes compatibles. No los mezcle con los lotes de reactivos de otros kits.
- Se ha observado que la contaminación con hipoclorito de sodio (lejía) puede alterar la prueba.
- No use componentes del kit que presenten signos de deterioro. Los signos de deterioro comprenden olores fuera de lo normal, aspecto turbio y otras indicaciones de contaminación.

6 Preparación de los reactivos

Solución de lavado tamponada:

- Deje que el concentrado de solución de lavado tamponada alcance la temperatura ambiente. Compruebe que todos los cristales salinos se hayan disueltos. Si quedan cristales sin disolver, coloque el frasco de concentrado de solución de lavado con su tapa bien ajustada dentro de una cubeta con agua tibia hasta que se hayan disueltos todos los cristales.
- Enjuague con agua destilada el dosificador de solución de lavado y las tuberías.
- Mezcle el contenido del frasco de concentrado de solución de lavado invirtiéndolo suavemente varias veces.
- Vierta el contenido del frasco de concentrado de solución de lavado (50 ml) en una probeta graduada o un matraz aforado de 1 litro de capacidad que contenga 950 ml de agua destilada o desionizada. Mezcle muy bien.
- Transfiera la solución al dosificador de solución de lavado.
- Una vez preparada, la solución de lavado tamponada puede utilizarse durante un máximo de 1 mes siempre que se conserve a temperatura ambiente (20-25°C) o refrigerada (2-8°C).

Reactivo con anticuerpo:

- Permita que el reactivo con anticuerpo alcance la temperatura ambiente antes de su uso.
- Invierta con suavidad el frasco de reactivo con anticuerpo antes de su uso.
- El reactivo con anticuerpo puede usarse hasta la fecha de caducidad si se conserva refrigerado (2-8°C) cuando no está siendo utilizado.

NOTA: un frasco de reactivo con anticuerpo es suficiente para veinte (20) cámaras de prueba con 36 alérgenos.

Mezcla fotorreactiva:

Prepare la mezcla fotorreactiva inmediatamente antes de su uso.

- Permita que los agentes fotorreactivos A, B, C y D alcancen la temperatura ambiente.
- Utilice una micropipeta con punta desechable para combinar en un recipiente **partes iguales** de los agentes fotorreactivos A, B, C y D. Se requiere un mínimo de **350 µl** de cada agente fotorreactivo por cámara de prueba en cada ensayo (es decir, **1,4 ml** de mezcla de agentes fotorreactivos por cámara de prueba).

NOTA: para evitar la contaminación de los reactivos, use una punta desechable nueva en la pipeta para cada agente fotorreactivo.

- Para mezclar, efectúe una rotación suave del recipiente.

NOTA: la mezcla fotorreactiva debe ser utilizada en un plazo máximo de 60 minutos tras la mezcla de los reactivos.

7 Instrucciones para la conservación

- Conserve los componentes del kit a 2-8°C. Si se conservan como se indica, los componentes pueden utilizarse hasta las fechas de caducidad impresas en las etiquetas de cada componente.
- No congele los componentes del kit.
- El embalaje de las cámaras de prueba consiste en una bolsa de plástico que contiene una esponja humidificadora. Asegúrese de que dicha bolsa esté bien cerrada antes y después del uso. Si la esponja se seca, humedézcala con la solución de lavado tamponada y vuelva a cerrarla adecuadamente. Si se conservan en las bolsas bien cerradas a 2-8°C, las cámaras de prueba pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa.

8 Obtención y preparación de muestras

Manipule las muestras del paciente y los componentes usados del kit 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.⁹⁻¹¹

El volumen mínimo de suero humano que se requiere **por cada** cámara de prueba es:

- Cámara de prueba de 36 alérgenos: 1,4 ml de suero
- Cámara de prueba de 16 o menos alérgenos: 0,8 ml de suero

Debe seguirse el siguiente protocolo para la obtención, preparación y conservación de suero para uso en pruebas de alergia 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 especial.

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

2. Permita que la sangre se coagule en el tubo durante **1 hora** a temperatura ambiente.
3. Centrifugue la sangre coagulada durante 10 a 20 minutos a 2.000-3.000 x g ó 2.500 rpm.
4. Transfiera el suero a un tubo de plástico para almacenamiento limpio y etiquetado adecuadamente.
5. Las muestras de suero pueden conservarse a 2-8°C hasta un máximo de una semana. Para conservar durante periodos más largos, congele las muestras a -20°C.

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

9 Procedimiento del ensayo

Consulte la *Guía del usuario y manual de procedimiento* para obtener instrucciones detalladas sobre cómo efectuar la prueba.

Materiales provistos

- Prueba para determinación de IgE alérgeno-específica CLA (consulte la sección 4, "Reactivos / componentes")

Materiales necesarios pero no suministrados

- Equipo para la prueba CLA, que comprende:
 - Soporte para cámaras de prueba, capaz de contener hasta 40 cámaras de prueba
 - Recipiente para drenaje de muestras
 - Frasco dosificador de solución de lavado tamponada, de 2 litros
 - Micropipeta y puntas
 - Recipientes desechables de 50 ml para reactivos
 - Jeringa de 3 ml
- Probeta graduada o matraz aforado, de 1 litro, para preparar la solución de lavado tamponada
- Agua desionizada o destilada
- Tubos para separación de suero o con tapón rojo, de 10 ml, para la recogida de muestras.
- Centrifuga capaz de alcanzar 2.000-3.000 x g ó 2.500-3.600 rpm
- Tubos de plástico para almacenamiento limpios para la preparación de muestras
- Toallas de papel absorbente
- Paños limpios, que no suelten pelusa
- Luminómetro CLA-1

Preparación de las cámaras de prueba y de las muestras del paciente

1. Antes de usarlas, **centrifugue nuevamente las muestras de suero** durante 10 a 20 minutos a 2.000-3.000 x g ó 2.500-3.600 rpm.

NOTA: el uso del sistema de freno de la centrifuga 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.

2. Extraiga de la bolsa de plástico las cámaras de prueba que necesite (una por cada muestra de suero). Cierre bien la bolsa de plástico y guarde en la nevera las cámaras de prueba que no haya usado.
3. Seque la humedad del exterior de cada cámara de prueba.
4. Con la rejilla de colores mirando hacia abajo, rotule cada cámara de prueba con la identificación correcta del paciente.
5. Anote los números de lote del kit y del panel, y los datos de identificación del paciente.
6. Golpee suavemente el extremo de la cámara de prueba sobre una toalla de papel absorbente para eliminar todo líquido residual del interior de la cámara de prueba.

Procedimiento estándar

A. Llene la cámara de prueba con suero:

1. Acople la jeringa de 3 ml a la parte superior de la cámara de prueba.
2. Inserte la base de la cámara de prueba en el tubo que contiene el suero del paciente. **Evite el contacto con precipitados o películas lipídicas.**
3. Aspire lentamente traccionando del émbolo de la jeringa de forma que el suero del paciente se introduzca en la cámara de prueba hasta cubrir el filamento más alto. **Asegúrese de que el suero cubra completamente el filamento más alto. Esto reducirá la formación de burbujas de aire que podrían alterar los resultados de la prueba.**

B. Tapone e incube las cámaras de prueba:

1. Sin desconectar la jeringa de la parte superior de la cámara de prueba, inserte un tapón blanco en la base de la cámara de registro.
2. Retire la jeringa e inserte un tapón negro en la parte superior de la cámara de prueba.

NOTA: los tapones deben introducirse completamente para evitar pérdidas.

3. Coloque las cámaras de pruebas llenas de suero en el soporte para cámaras de prueba.
4. Incube a temperatura ambiente durante **16 a 24 horas** y anote la hora de comienzo de la incubación.

C. Prepare la solución de lavado tal como se indica en la sección 6, "Preparación de reactivos".

D. Deseche el suero:

1. Extraiga el tapón inferior de la base de cada cámara de prueba y coloque nuevamente la cámara de prueba en el soporte para cámaras de prueba.
2. Extraiga el tapón superior de cada cámara de prueba y deje que el suero escurra y caiga dentro del recipiente para el drenaje de muestras. Anote la hora de finalización de la incubación.

E. Lave las cámaras de prueba.

1. Purgue el dosificador de solución de lavado hasta eliminar todas las burbujas de aire.
2. Conecte el extremo del tubo abierto del dosificador a la parte superior de la primera cámara de prueba.
3. Lave sucesivamente cada una de las cámaras de prueba con 10 ml de solución de lavado apretando una vez, con fuerza moderada, la bomba del dosificador.

NOTA: espere a que todo el líquido se haya escurrido de la cámara de prueba antes de continuar con el paso siguiente.

4. Repita el paso 3 dos veces más para realizar un total de tres lavados.

NOTA: las cámaras de prueba deben llenarse con el reactivo con anticuerpo inmediatamente después del lavado para evitar que los filamentos se sequen.

F. Llene la cámara de prueba con el reactivo con anticuerpo:

1. Golpee suavemente la base de la cámara de prueba sobre una toalla de papel absorbente para eliminar todo resto de solución de lavado.
2. Acople la jeringa de 3 ml a la parte superior de la cámara de prueba.

3. Coloque la base de la cámara de prueba dentro del recipiente que contiene el reactivo con anticuerpo. Utilice un recipiente desechable para poner el reactivo con anticuerpo.
4. Aspire lentamente con el émbolo de la jeringa de forma que introduzca el reactivo con anticuerpo en la cámara de prueba hasta cubrir el filamento más alto.

NOTA: asegúrese de que el reactivo con anticuerpo cubra completamente el filamento más alto. Esto reducirá la formación de burbujas de aire que podrían alterar los resultados de la prueba.

G. Tapone e incube las cámaras de prueba:

1. Inserte el tapón blanco en la base de la cámara de prueba sin desconectar la jeringa de la parte superior de la cámara de prueba.
2. Retire la jeringa e inserte el tapón negro que va en la parte superior de la cámara.
3. Coloque las cámaras de prueba llenas de reactivo en el soporte para cámaras de prueba. Incube a temperatura ambiente durante **4 horas ± 15 minutos** y anote la hora de comienzo de la incubación.

H. Deseche el reactivo con anticuerpo:

1. Extraiga el tapón inferior de la base de cada cámara de prueba y coloque cada cámara de prueba nuevamente en el soporte para cámaras de prueba.
2. Extraiga el tapón superior de cada cámara de prueba y deje que el líquido escurra y caiga dentro del recipiente para el drenaje de muestras. Anote la hora de finalización de la incubación.

I. Lave las cámaras de prueba tres (3) veces tal como se describió en los pasos E1 a E4.

J. Prepare la mezcla fotorreactiva tal como se indica en la sección 6, "Preparación de los reactivos".

NOTA: las cámaras de prueba deben llenarse con la mezcla reactiva inmediatamente después del último lavado para evitar que los filamentos se sequen.

K. Llene las cámaras de prueba con la mezcla fotorreactiva:

1. Golpee suavemente la base del extremo de la cámara de prueba sobre una toalla de papel absorbente para eliminar los restos de la solución de lavado.
2. Acople una jeringa a la parte superior de la cámara de prueba.
3. Coloque la base de la cámara de prueba en un recipiente desechable con la mezcla fotorreactiva.
4. Aspire lentamente con el émbolo de la jeringa de forma que introduzca la mezcla fotorreactiva en la cámara de prueba hasta cubrir el filamento más alto. Esto reducirá la formación de burbujas de aire que podrían alterar los resultados de la prueba.

L. Tapone las cámaras de prueba:

1. Inserte el tapón blanco en la base de la cámara de prueba sin desconectar la jeringa de la parte superior de la cámara de prueba.
2. Retire la jeringa e inserte el tapón negro que va en la parte superior de la cámara.
3. Examine las cámaras de prueba taponadas para ver si hay pérdidas de líquido.
4. Elimine todo resto de mezcla fotorreactiva de la parte externa de las cámaras de prueba utilizando un paño limpio húmedo que no suelte pelusa.

M. Incube las cámaras durante 10 minutos antes de leer los valores en el luminómetro. Deben leerse los resultados de todas las cámaras de prueba en un plazo máximo de 60 minutos tras la introducción del agente fotorreactivo.

N. Para la lectura de los resultados, consulte la *Guía del usuario y manual de procedimiento*.

Procedimiento alternativo (en el mismo día)

NOTA: los estudios propios del fabricante han mostrado una importante reducción de la sensibilidad cuando el procedimiento se completa en el mismo día. Cada laboratorio debe determinar si el procedimiento alternativo es apropiado para sus aplicaciones específicas.¹²

Se requiere un kit agitador rotativo CLA, que comprende:

- Equipo principal, con su cable de alimentación
- Soporte para cámaras de prueba

- Instrucciones de uso
- Pipeta Statpet, de 750 µL

A. Llène la cámara de prueba con suero:

1. Inserte la pipeta Statpet (incluida en el kit agitador rotativo) en la parte superior de la cámara de prueba.
2. Inserte la base de la cámara de prueba en el tubo que contiene el suero del paciente. **Evite el contacto con precipitados o películas lipídicas.**
3. Empuje y luego suelte suavemente el émbolo de la pipeta Statpet para transferir suero a la cámara de prueba. La cámara de prueba debe llenarse con suero sólo hasta la mitad.

NOTA: empuje el émbolo de la pipeta Statpet antes de poner en contacto la base de la cámara de prueba con las muestras de suero. La inyección de aire dentro de la muestra de suero puede disgregar el precipitado presente en el fondo del tubo de muestra.

B. Tapone las cámaras de prueba, móntelas en el agitador rotativo y hágalas rotar:

1. Sin desconectar la pipeta Statpet de la parte superior de la cámara de prueba, inserte un tapón blanco en la base de la cámara de prueba.
2. Retire la pipeta Statpet e inserte el tapón negro en la parte superior de la cámara de prueba.

NOTA: los tapones deben introducirse completamente para evitar pérdidas.

3. Para cubrir todos los filamentos con suero, incline 45° la cámara de prueba ya conectada y golpee suavemente un extremo de la cámara hasta que el suero fluya hacia el extremo que se encuentra en la posición más baja. A continuación invierta la posición de la cámara y golpee suavemente de nuevo hasta que el suero fluya hacia el otro extremo.
4. Monte las cámaras de prueba en el soporte del agitador rotativo CLA.
5. Rote las cámaras de prueba como se indica a continuación:
 - a. Programe el reloj del agitador rotativo para **3 horas** de rotación y dé comienzo a la rotación. Anote la hora de comienzo y de detención de la rotación para la incubación del suero.
 - b. Examine cada una de las cámaras de prueba para inspeccionar el movimiento del suero mientras el agitador rotativo está en marcha.
 - c. Si el suero no fluye suavemente de un extremo al otro de la cámara de prueba:
 - i. Detenga el agitador rotativo, retire la cámara de prueba y golpéela suavemente contra alguna superficie.
 - ii. Vuelva a colocar la cámara en el agitador rotativo.
 - iii. Reanude la rotación e inspeccione el movimiento del suero.
 - iv. Repita estos pasos si fuera necesario.

C - G. Siga el procedimiento descrito anteriormente en "Procedimiento estándar".

H. Tapone e incube las cámaras de prueba:

1. Inserte el tapón blanco que va en la base de la cámara de prueba sin desconectar la jeringa acoplada a su parte superior.
2. Retire la jeringa e inserte el tapón negro en la parte superior de la cámara.
3. Coloque las cámaras de pruebas llenas de reactivo en el soporte para cámaras de prueba. Incube a temperatura ambiente durante **3 horas ±15 minutos** y anote la hora de comienzo de la incubación.

Nota: no haga rotar las cámaras de prueba durante la fase de incubación con el reactivo con anticuerpo.

I - N. Siga el procedimiento descrito anteriormente en "Procedimiento estándar".

10 Control de calidad

A. Filamentos de control interno

Cada cámara de prueba contiene filamentos de control positivo para el procedimiento y filamentos de control negativo (blanco). Estos filamentos sirven como indicadores internos en cada cámara de prueba.

Control positivo para el procedimiento: el control positivo para el procedimiento comprueba el rendimiento de los reactivos del kit. Los controles positivos para el procedimiento deben producir lecturas superiores o iguales a 243 UL en el luminómetro CLA-1.

Control negativo (blanco): el control negativo (blanco) compensa cualquier unión no específica de IgE que se pueda producir. El control negativo (blanco) debe dar lugar a una lectura inferior o iguales a 33 UL en el luminómetro CLA-1.

Resultados inaceptables de los controles internos: si el resultado de cualquiera de los controles internos no estuviera dentro de los límites aceptables definidos anteriormente, debe realizarse lo siguiente:

- Coloque nuevamente la cámara de prueba en el chasis de alojamiento de la cámara de prueba (asegurándose de insertarla completamente) y efectúe una nueva lectura.
- Si los resultados siguen siendo inaceptables, consulte las secciones 6 y 7 de la *Guía del usuario y manual de procedimiento*.

B. Sueros de control IgE positivo e IgE negativo

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

11 Resultados

El luminómetro CLA-1 mide la cantidad de luz emitida por los filamentos de las cámaras de prueba. El luminómetro mide la emisión de luz en unidades de luminiscencia (UL o Lux). Para calcular la respuesta de IgE del paciente, el instrumento resta 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 4 según la cantidad de luz emitida por cada uno de los filamentos de la cámara de prueba. A partir de estos valores se obtiene el sistema de puntuación de alergia en clases CLA para la prueba para determinación de IgE alérgeno-específica CLA. La correspondencia entre las cantidades de IgE, los valores de la clasificación CLA y las lecturas del instrumento se muestran en la tabla siguiente.

Clase CLA	UL netas	Concentración de IgE específica para el alérgeno por clases
4	>242	Se detectan niveles muy altos de anticuerpos
3	143-242	Se detectan niveles altos de anticuerpos
2	66-142	Se detectan niveles moderados de anticuerpos
1	27-65	Se detectan niveles bajos de anticuerpos
0/1	12-26	Se detectan niveles muy bajos de anticuerpos
0	0-11	No se detectan anticuerpos

Los valores de 1/0 o superiores 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.

12 Limitaciones de la prueba

- El suero hemolizado o lipémico puede afectar negativamente al rendimiento de la prueba para determinación de IgE alérgeno-específica CLA.
- 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 determinación de IgE alérgeno-específica CLA 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 de clase IgE específico puede variar de alérgeno a alérgeno, el hecho de 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 de clase IgE circulantes si éstos están dirigidos contra formas alteradas de los alérgenos (p. ej., cocinados, procesados o digeridos) y estas formas alteradas poseen características diferentes a las de los alérgenos alimentarios 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 falsos positivos pueden conducir a la prescripción de medicación inadecuada para esas personas. Los resultados falsos negativos pueden llevar a omitir un tratamiento médico adecuado.
- Una respuesta de IgE alérgeno-específica de nivel bajo debe interpretarse con cuidado si los valores totales de IgE son superiores o iguales a 500 UI/ml.
- La obtención de resultados fiables y reproducibles requiere que los procedimientos de la prueba se efectúen cumpliendo estrictamente las instrucciones de uso del producto y buenos procedimientos de control de calidad.
- Se ha observado que la contaminación con hipoclorito de sodio puede alterar la prueba. El material de laboratorio que haya sido descontaminado con hipoclorito de sodio debe ser aclarado profusamente con agua destilada o desionizada.

NOTA: el uso de soluciones que contengan alcohol para la desinfección del soporte para cámaras de prueba llevará a la formación de grietas en el plástico del soporte y a fallos prematuros en su funcionamiento.

13 Valores esperados

La distribución en clases CLA se determinó originalmente mediante estudios científicos que establecieron curvas de calibración utilizando suero que contenía anticuerpos de clase IgE específicos contra componentes del abedul blanco. El umbral de corte entre resultados positivos y negativos se definió estadísticamente como dos desviaciones estándar por encima del valor promedio de la población normal.⁶

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia esperados para la población de interés.

14 Características de rendimiento del procedimiento estándar

A. Precisión¹²

Intraensayo: se procesaron 5 replicados de cuatro muestras de suero en una sola serie. El promedio del coeficiente de variación medio de las respuestas de todos los alérgenos analizados fue del 11,7%, estimados en forma de UL netas.

Entre ensayos: se procesaron 5 replicados de cuatro muestras de suero en cuatro días distintos. El promedio del coeficiente de variación de las respuestas de todos los alérgenos analizados fue del 11,6%, estimados en forma de UL netas.

B. Sensibilidad¹²

El límite de detección de la prueba es 10 UL.

C. Especificidad¹²

No se detectó reacción cruzada con las inmunoglobulinas séricas humanas IgA, IgM, IgG o IgD cuando las concentraciones eran las fisiológicas y normales.

D. Comparación de métodos *in vitro* para la alergia¹²

Como promedio, la concordancia (calculada como eficiencia) entre cada prueba *in vitro* para alérgenos CLA y las pruebas *in vitro* alternativas es de aproximadamente el 95%; el intervalo de concordancia va del 86% al 100%.

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

15 Bibliografía

1. Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook MM. *J Immunol* 1966;97:75.
2. Johansson SGO, Bennich H. *Immunol* 1967;13:381.
3. Kulczycki A. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:5.
4. Johansson SGO, Bennich HH, Berg T. *Prog Clin Immunol* 1972;1:157.
5. Homburger HA. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 1986;23:279.
6. Miller SP, Marinkovich VA, Riege DH, Sell WJ, et al. *Clin Chem* 1984;30:1467.
7. Agata H, et al. *Ann Allergy* 1993;70:153.
8. Safety Management No. CDC-22, *Decontamination of laboratory sink drains to remove azide salts*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control, April 30, 1976.
9. 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.
10. Richardson SH, Barkley WE, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. 2nd ed. Washington, DC: US Dept of Health and Human Services, 1988.
11. Federal OSHA Standard 1910.1030. *Bloodborne pathogens*. 29 CFR 1910.1030.
12. Data available upon request.

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 de Estados Unidos

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
630 Clyde Court
Mountain View, California 94043
Tel. (650) 961-5501
Fax (650) 969-2745

Oficinas europeas y Representante Autorizado

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
Hitachi Europe Ltd.
Whitebrook Park
Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire SL6 8YA
Reino Unido
44 (0) 1628 585 590

©2000, 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 patentes correspondientes extendidas en Japón).