



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Total IgE

Para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgE totales

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cuantitativa de anticuerpos de clase IgE en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

Las inmunoglobulinas de clase E (IgE) contienen 2 tipos de cadenas polipeptídicas, tienen un peso molecular de aproximadamente 200.000 Da y se unen a la superficie de los mastocitos y de los granulocitos basófilos. La unión de los alérgenos a las IgE unidas a las células provoca la liberación de histamina y otras sustancias vasoactivas, lo que provoca una serie de eventos conocida como reacción alérgica.

Se ha demostrado que la mayor parte de los pacientes con patologías alérgicas atópicas, como asma atópico, dermatitis atópica y fiebre del heno, muestran un aumento de los niveles de IgE en la sangre. Los individuos no alérgicos tienen concentraciones muy variables; estas aumentan normalmente durante la infancia, alcanzando en la segunda década de vida los niveles típicos de los adultos.

La medición de las concentraciones de IgE totales es importante en el primer examen de las alergias infantiles y como instrumento de diagnóstico para prever futuras manifestaciones atópicas. Puede encontrarse un aumento significativo no solo en pacientes alérgicos, sino también en casos de mieloma de IgE, aspergilosis pulmonar y durante la fase activa de infecciones parasitarias. Se encuentran niveles aumentados de IgE en caso de hipergammaglobulinemia, enfermedades autoinmunes, colitis ulcerosa, hepatitis, cáncer y malaria.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Total IgE está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgE totales en los equipos Chorus TRIO.

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). El anticuerpo monoclonal anti-IgE humanas se une a la fase sólida. Las inmunoglobulinas específicas se unen al anticuerpo tras la incubación con suero humano diluido. Después de los lavados para eliminar las proteínas que no han reaccionado, se realiza la incubación con el anticuerpo secundario, formado por anticuerpos anti-inmunoglobulinas IgE humanas biotiniladas. Se elimina el anticuerpo secundario biotinilado que no se ha unido y se añade

el conjugado estreptavidina-peroxidasa. Se elimina el conjugado que no se ha unido y se añade el sustrato para la peroxidasa.

A continuación se bloquea la reacción enzimática añadiendo la solución de bloqueo que hace que la solución cambie a color amarillo.

El color que se desarrolla es proporcional a la concentración de IgE presentes en el suero examinado.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba en los instrumentos Chorus TRIO.

Los resultados se indican en Unidades Internacionales (KIU/L) calculadas tomando como referencia la norma internacional WHO 2nd IRP 75/502.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en métodos aprobados por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

El calibrador y el control positivo contienen suero equino, obtenido de animales sanos. Puesto que ningún método puede proporcionar una garantía completa de ausencia de agentes infecciosos, se recomienda manipular con cuidado los productos con base de suero.

Desecho de los residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras utilizadas se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos, de acuerdo con las disposiciones normativas vigentes.

Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular las muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
6. El derrame de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en derrames que contengan ácido antes de que se limpie la zona. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos

potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

Poner los dispositivos a utilizar a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso; utilizar en 60 minutos.

1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.

El uso del kit sólo es posible con una versión actualizada del software. Asegúrese de que el software instalado en el equipo coincida o tenga un release (Rel.) superior a lo que está indicado en la tabla publicada en el [sitio \(http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/\)](http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/)

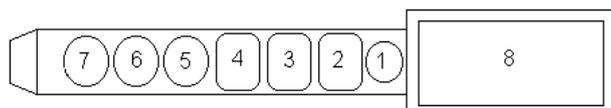
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictéricas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: ANTI IgE-BIOTINA

Contenido: Anti-IgE humanas conjugadas con biotina en tampón TRIS pH 8.1 que contiene Proclin 300 y Bronidox 0.02%.

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con anticuerpos monoclonales anti-IgE.

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL y H₂O₂ 0.01% estabilizados en tampón citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posición 3: SOLUCIÓN DE BLOQUEO

Contenido: Solución de ácido sulfúrico 0.3 M

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: Estreptavidina-peroxidasa en solución tampón de color rojo (pH 5.5) que contiene Proclin 300

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde se dispensa el suero sin diluir.

Uso: equilibrar un envase a temperatura ambiente, abrir el envase y retirar los dispositivos necesarios; colocar los dispositivos no utilizados en la bolsa de plástico con el gel de sílice, extraer el aire y **cerrar** presionando el cierre. Conservar a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.400 ml

Contenido: Suero equino que contiene anticuerpos IgE humanos y conservante. Líquido, listo para el uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.850 ml

Contenido: Suero equino que contiene anticuerpos IgE humanos y conservante. Líquido, listo para el uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Equipo Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben ser conservados a 2/8°C. En caso de una errónea temperatura de conservación, la calibración debe ser repetida y la validez del resultado debe ser verificada por medio del suero de control (ver capítulo 9, "Validación de la prueba").

La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes y en la etiqueta exterior de la caja.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la apertura y/o preparación.

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8°C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8°C
CONTROL POSITIVO	8 semanas a 2/8°C

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio.

No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos.

El suero fresco se puede conservar a 2/8°C durante 2 días; para conservaciones más largas congelar a -20°C.

No deben ser utilizados congeladores autodescongelantes para la conservación de la muestra. Después de descongelar, agitar con cuidado antes de su uso.

La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana que conduce a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar 75-100 µl de suero no diluido en el pocillo n°1 de cada dispositivo. Por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el suero de control para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el suero de control tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario realizar de nuevo la calibración. Los resultados previos se corregirán automáticamente.

Si el resultado del suero de control continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus TRIO proporciona un resultado en Unidades Internacionales (KIU/ml), tomando como referencia la norma internacional WHO 2nd IRP 75/502, calculado según un gráfico lote-dependiente grabado en el equipo.

La literatura disponible proporciona la siguiente información para las concentraciones de IgE totales en suero humano:

Media: 30 KIU/L

Edad (años)	KIU/L
0 – 3	<10
3 – 4	<25
4 – 7	<50
7 – 14	<100
≥ 15	<150

11. LIMITACIONES

Todos los valores obtenidos precisan una atenta interpretación que no prescindan de otros indicadores relativos al mismo paciente.

Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 10-1000 KIU/L.

Para muestras > 1000 KIU/L repetir la prueba y prediluir la muestra en Negative Control/ Sample Diluent (PF83607 – no suministrado con el kit).

Para obtener mayor precisión se recomienda una dilución 1:10 también para las muestras comprendidas entre 500 KIU/L y 1000 KIU/L.

13. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 58 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

Resultados de la prueba:

Correlación	r	95%CI
Pearson	0.95	0.92-0.97
Spearman	0.97	0.95-.098

El grado de correlación entre los dos métodos resulta muy alto.

14. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media (KIU/L)	CV%	Media (KIU/L)	CV%
1	36.8	7.8	33.0	14.5
2	518.7	5.1	486.8	12.4
3	213.8	6.4	239.4	10.4
4	173.5	5.9	170.0	3.2
5	453.0	4.5	437.6	5.8

Muestra	ENTRE EQUIPOS	
	Media (KIU/L)	CV%
1	33.6	13.1
2	466.0	10.5
3	231.8	9.5
4	167.9	4.4
5	443.1	4.4

15. BIBLIOGRAFÍA

1. Geha RS Human IgE. J. Allergy Clin. Immunol. 1994; 74:109-120.
2. Gordon RR et al. Immunoglobulin E and eczema- asthma syndrome in early childhood. Lancet 1982; 72-74
3. Norman PS. The clinical significance of IgE. Hospital Practice 1975 Aug; 10(8): 41-49
4. Johansson SGO, Lancet 1967; 2:951
5. Zefferson and Johansson SGO, Allergy 198; 36:537
6. Wathrich B. Clin. Allergy 1978; 8:214
7. Barbee RA et al. Distribution of IgE in a community population sample: correlation with age, sex and allergen skin test reactivity. J. Allergy Clin. Immunology 1981; 68: 106-111
8. Kjellman IM, Anderson SGO, Roth A. Serum IgE levels in healthy children. Clin. Allergy 1976; 65:51-59

9. Halpern G.M. Markers of human allergic disease. *J. Clin. Immunoassay* 1983 Jun; 6 (2): 131-139
10. Hamilton RG, Adkinson NF. Quantitation of allergen-specific IgE in serum using the radioallergosorbent test. *J. Clin. Immunoassay* 1983 Jun; 6 (12): 147-154
11. Homberger HA, Yunginger JW. Laboratory testing in the diagnosis and management of allergic diseases. *Clin. Lab. Annual* 1983; 2:351-388
12. Bukley RH. Immunopharmacology of Allergic Disease, 1975; 253: 474
13. Capmon A, Dessaint JP, Capron M at al. *Nature* 1975; 253:474
14. Jahonsson SGO, Bennick H, Berg T. *Clin. Immunol.* 1972; p1