

TOTAL IgE

Prueba ELISA para la determinación cuantitativa de IgE total en suero humano

Presentación del estuche

REF⁵ 51015 96 determinaciones Estuche completo
IVD

Uso previsto

Las reacciones alérgicas, por ejemplo el asma, la dermatitis y alergia al polen son usualmente diagnosticadas en base a la historia medica y a los síntomas clínicos.

La medición de la inmunoglobulina E (IgE) es muy importante para comprobar las suposiciones clínicas.

Altas concentraciones de IgE pueden ocasionar hipersensibilidad contra si misma, lo que puede ser causa de diferentes reacciones alérgicas. Además algunas infecciones parasitarias también pueden incrementar los niveles de IgE.

Los estándares de IgE incluidos son comparados con Unidades Internacionales de Referencia (2^{do} Estándar Internacional 75/502). Los resultados pueden ser reportados en UI/ml.

Principio - EIA Sandwich -

La prueba HUMAN TOTAL IgE ELISA está basada en la técnica ELISA de sandwich. Los micropocillos ELISA son recubiertos con anticuerpos monoclonales contra IgE humano.

En la primera etapa de incubación, las muestras respectivamente los calibradores listos para el uso así como el conjugado listo para el uso se pipetea en los micropocillos. Se forma un complejo sandwich entre los anticuerpos IgE del suero y los anticuerpos inmovilizados resp. el conjugado anti-IgE. Al final de la incubación, los componentes excesivos son eliminados por lavado.

Después de añadir TMB/Substrato, se forma un color azul que se transforma a amarillo después de detener la reacción. La intensidad de este color es directamente proporcional a la concentración de IgE en la muestra.

La extinción de los controles y muestras se determina haciendo uso de un lector de micropocillos ELISA (HUMAREADER). La concentración en la muestra se evalúa por medio de una curva de calibración la cual se obtiene haciendo uso de calibradores de suero con concentraciones de IgE conocidas.

Reactivos y contenidos

MIC	12	Micropocillos en portatiras Tiras (desprendibles) de 8 micropocillos cada uno, recubiertas con anti-IgE monoclonal
CAL	A-F 6x 0,4 ml	Calibradores IgE , listos para el uso, humano Concentración de IgE: 0 (A), 5 (B), 25 (C), 100 (D), 250 (E), y 1000 (F) UI/ml
CON	22 ml	Conjugado Anti IgE listo para el uso, color rojo Anticuerpos anti-IgE-humano, marcados con peroxidasa (cabra)
WS	2x60ml	Solución de lavado (tapa blanca) Concentrado para aprox. 1200 ml pH 6,5 – 7,0 PBS Buffer con Tween 20 pH 6,5 – 7,0
SUB	13 ml	Reactivo Substrato (envase café) 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB)
STOP	13 ml	Solución de detención (tapa roja) Acido sulfúrico, listo para el uso 0,5 mol/l
	2	Cintas adhesivas

Preservativos: Concentración total < 0,1%

Notas de seguridad

No ingerir los reactivos. Evitar el contacto con los ojos, piel y membranas mucosas. Todas las muestras de pacientes y **CAL** deberían ser manipulados como posibles agentes infecciosos. Los **CAL** han sido encontrado negativos para HBsAg y anticuerpos contra VHC y VIH 1 + 2 en los donantes. Usar ropa protectora y guantes desechables según las buenas prácticas de laboratorio (GLP). Todos los materiales contaminados con muestras o **CAL** deben inactivarse por métodos aprobados (autoclavado o tratamiento químico) según las regulaciones aplicables.

STOP irrita los ojos, la piel y membranas mucosas. En caso de contacto, lavar inmediatamente con abundante agua y consultar un médico.

Estabilidad

Los reactivos son estables hasta las fechas de expiración señaladas en las etiquetas individuales cuando se almacenan a 2...8°C.

MIC

- están envasadas en bolsas de aluminio selladas con un desecante
- deben estar a **temperatura ambiente** antes de abrir
- no utilizados: devolver junto con el desecante en las bolsas de aluminio y almacenar de 2...8°C.

No tocar el anillo superior o el fondo de los micropocillos con los dedos.

Preparación de reactivos

Todos los reactivos deben estar a **temperatura ambiente** (15...25°C) antes del uso. Los reactivos que no están en uso deben siempre estar almacenados a 2...8°C.

Solución de lavado de trabajo **WASH**

- Diluir 1 porción de **WS** con 9 porciones de agua desionizada fresca, por ejemplo: 30 ml **WS** + 270 ml = 300 ml.
- Estabilidad: **4 semanas entre 2...8 °C**.

Muestra

Suero

No usar muestras altamente lipémicas o hemolíticas.

Muestras pueden almacenarse hasta por 7 días de 2...8 °C o por más largo tiempo a -20 °C. **Congelar y descongelar solamente una vez**. Al descongelar una muestra debe ser homogeneizada. Eliminar el material particulado por centrifugación o filtración.

Procedimiento

Seguir el procedimiento exactamente como se describe.

Notas de uso

U1: No mezclar tapas de envases (riesgo de contaminación). No usar reactivos después de sus fechas de expiración.

U2: No usar reactivos que pueden ser contaminados (turbidez u olor).
U3: Notar el reparto de las muestras y de los controles cuidadosamente en la hoja provista en el estuche.

U4: **MIC** – colocar el número requerido firmemente en el portatiras.

U5: **Analizar** los **CAL** y las muestras **en duplicado**. **Pipetear** los **CAL** y las muestras **en el fondo** de los micropocillos.

U6: **Siempre deben agregarse los reactivos en el mismo orden para minimizar diferencias en los tiempos de reacción entre los micropocillos y obtener resultados reproducibles**. El pipeteo de las muestras no debería exceder de 5 minutos para evitar diferencias en los tiempos. De lo contrario pipetear los **CAL** en las posiciones indicadas en la mitad del intervalo de la serie. Si se emplea más de una placa, repetir los controles.

U7: Remover burbujas de aire antes de las incubaciones y lecturas de absorbancia.

U8: Incubar **SUB** en la **oscuridad**. **SUB** inicia y **STOP** termina la reacción enzimática.

Procedimiento de lavado

El procedimiento de lavado es crítico. Un lavado insuficiente producirá una mala precisión o absorbancias falsamente elevadas.

L1: Remover las cintas adhesivas. Aspirar el contenido (en un envase con solución de Hipoclorito de Sodio al 5%), agregar [WASH], aspirar después de aproximadamente 30 sec. y repetir el lavado.

L2: Si disponible, cebar lavadores automáticos. Lavar las tiras 3 veces con [WASH]. Asegurarse que los pocillos son llenados completamente y aspirados después de 30 sec. (líquido remanente: < 15 µl).

L3: Después del lavado, remover el líquido remanente invirtiendo los micropocillos sobre papel absorbente.

Esquema de pipeteo

Los reactivos y las muestras deberían estar a temperatura ambiente antes del uso.			
Etapa 1	Pocillo [µl]		
	A1 Blanco	B1...E2 [CAL]	F2... Muestra
[CAL] A-F, en duplicado	--	10	--
Muestra sin diluir, en duplicado	--	--	10
[CON]	--	200	200
Cubrir [MIC] con cintas adhesivas			
Incubar por 30 min. a 17...25°C			
Lavar 3 veces como se describe (ver L1 – L3)			
[WASH]	300	300	300
Etapa 2			
[SUB]	100	100	100
Incubar por 15 min. a 17...25°C (ver U8)			
[STOP]	100	100	100
Mezclar cuidadosamente			
Llevar a cero de absorbancia el instrumento lector ELISA (HUMAREADER) con el blanco de sustrato con el pocillo A1.			
Medir la absorbancia a 450 nm lo más pronto posible o dentro de 30 min. después de terminar la reacción usando una longitud de onda de referencia de 630-690 nm (si está disponible).			

Cálculo de los resultados:

El valor medio para las absorbancias medidas es calculado después de la sustracción del valor del blanco de sustrato (pozo A1)

El ensayo puede ser considerado válido si se reúnen los siguientes criterios provistos:

Estándar [UI/ml]	Rango aceptado [DO]
0	≤ 0,050
5	≥ 0,015
25	≥ 0,050
100	≥ 0,150
250	≥ 0,400
1000	≥ 1,000

Las diferencias entre los duplicados no debe exceder el 10%.

La curva dosis respuesta se usa para interpolar la concentración de IgE total en muestras desconocidas.

- [CAL] - Graficar la absorbancia de los duplicados contra la correspondiente concentración de IgE en UI/ml sobre papel milimetrado lineal (no promediar los duplicados de los calibradores antes de graficar).
- Trazar la mejor curva a través de los puntos del gráfico.
- Para determinar la concentración de IgE de una muestra desconocida, localizar el promedio de absorbancia de los duplicados sobre el eje vertical del gráfico, encontrar el punto de intersección sobre la curva y leer la concentración (en UI/ml) desde el eje horizontal del gráfico.

Interpretación de los resultados de IgE total para adultos

UI/ml	Interpretación
< 25	No hay indicación de reacción alérgica
25 – 100	Posible confirmación de alergia, Diagnóstico recomendado (IgE específica)
100	Alergia muy probable

Rangos de referencia para IgE total de niños sanos

	Edad		UI/ml
Bebes	0 – 10	Días	< 0,5
Infantes	0,5 – 2	Años	0,6 – 9,6
	2 – 5	Años	1,6 – 33
	5 – 8	Años	0,8 – 52
	8 – 12	Años	0,7 – 86
	12 – 16	Años	1,3 – 70

Características de la ejecución

Los datos de rendimiento típicos se encuentran en el Verification Report que está disponible en

www.human.de/data/gb/vr/el-ige.pdf o

www.human-de.com/data/gb/vr/el-ige.pdf

Referencias

- Liappis N., D. Berdel, Referenzbereiche für die IgE-Konzentration im Serum von Kindern ;Extracta Diagnostica **30** (1989)
- Clinical Laboratory Diagnostics, Total IgE, German Edition, 953-956 (1992)
- Van Arsdell P.P., Larson E.B., Diagnostic tests for patients with suspected allergic disease, Ann. Intern. Med. **110**, 304-312 (1989)
- Smith T., Allergy testing in clinical practice. Annals of Allergy **68**, 293-300 (1992)
- ISO 15223 Medical devices – Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied.

EL-IGE
INF 5101501 E
02-2003-1



Human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 --eMail: human@human.de