

### INDICACIONES DE USO

Para la determinación cuantitativa de concentraciones de inmunoglobulina IgE en suero humano.

Agente de diagnóstico in vitro para uso exclusivo de laboratorio clínico o de gabinete.

### RESUMEN Y APLICACIÓN

IgE constituye una fracción del total de anticuerpo en suero 50-300 ng/ml, comparado con los 10mg/ml de IgG y, junto con su receptor Fc, resulta importante en las reacciones primarias del sistema inmunológico. Los mecanismos inmunogénicos subyacentes a la capacidad de respuesta de IgE observados en enfermedades atópicas, pueden ser divididos entre respuestas antígeno-específicas y en antígeno-no específicas. Los anticuerpos IgE contra antígenos comunes, se reportan en el suero de un 13% de los donantes de sangre normales. Auto anticuerpos para el IgE FC-*epsilon*-R II (receptores de alta afinidad) reportados en suero de pacientes con urticaria crónica, pueden inducir a la liberación de histamina por parte de mastocitos. Pacientes con enfermedades alérgicas atópicas, tales como asma atópica, dermatitis atópica y fiebre de heno, han presentado niveles muy elevados de inmunoglobulina E (IgE) en sangre. IgE es también conocido como el anticuerpo reactivo. En general, niveles elevados de IgE indican una alta probabilidad de hipersensibilidad al IgE-mediado, responsable de las reacciones alérgicas. Infecciones parasitarias tales como la del gusano gancho y ciertos desordenes clínicos incluyendo aspergilosis, han demostrado ser los causantes de altos niveles de IgE. Niveles bajos de IgE se encuentran en casos tales como hipogamaglobulemia, enfermedades autoinmunes, colitis ulcerativa, hepatitis, cáncer y malaria. Los niveles de IgE en el cordón umbilical o suero pueden servir de ayuda valiosa para pronosticar futuras condiciones alérgicas en niños. Ciertos grupos de células blancas, incluyendo basófilos y células de tejido, cuentan con membranas receptoras para la molécula de IgE.

### DESCRIPCIÓN

La prueba cuantitativa de IgE esta basada en un ensayo inmunoabsorbente vinculado a las enzimas de fase solida (ELISA). El sistema de ensayo utiliza un anticuerpo anti-IgE para la inmovilización de la fase solida (pozos de micro valoración) y otro anticuerpo anti IgE monoclonal de ratón en la solución de conjugado (peroxidasa de rábano picante) de enzima-anticuerpo. La muestra de prueba es permitida reaccionar simultáneamente con los anticuerpos, causando que las moléculas de inmunoglobulina se encuentran en fase solida y los anticuerpos etiquetados no adheridos. El conjugado se va a adherir inmunológicamente al IgE que se hayan impregnado en la reacción sándwich entre la fase solida y los anticuerpos enzimáticos unidos. Después de una incubación a temperatura ambiente, las cubetas son lavadas para remover los anticuerpos no unidos. Se agrega solución TMB y se incuba por 20 min. Provocando el desarrollo de un color azul. El desarrollo del color es frenado con la adición de 2N, HCLy el color es cambiado a amarillo y medido espectrofotométricamente a 450 nm. La concentración de IgE es directamente proporcional a la intensidad del color de la muestra de prueba.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Placa de 96 pozos.	1
2. Estándares 6 viales.	0.5ml
3. Anti IgE biotin 1 vial	12 ml
4. Reactivo de enzima conjugada 1 vial.	12ml
5. Sustrato TMB: 1 vial.	12ml
6. Solución de Frenado: 1 vial.	12ml
7. Solución de Lavado Concentrado 20X: 1 vial.	25ml

### MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450 nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadriculado.

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a una temperatura de entre 2°C a 8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en la bolsa de aluminio.
3. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Potencial de los materiales de riesgo biológico: Los calibradores contienen componentes de origen humano, que se han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B y anticuerpos contra el VIH Aprobado por la FDA. Sin embargo, no hay método de prueba que puede ofrecer completa seguridad de que el virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén presentes. Estos reactivos deben ser manejados según el Nivel de Bioseguridad 2, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud manuales. "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984.
2. No pipetee con la boca. No fume, coma, o beba en el área donde maneje este equipo.
3. Los componentes en este equipo son para uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no se deben mezclar.
4. Es recomendable que los estándares, controles y muestras de suero se corran por duplicado.
5. Para obtener óptimos resultados, debe apegarse estrictamente al protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de la hora exacta y requerimientos de temperatura prescritos son esenciales. Cualquier desviación de éste pueden dar datos no válidos.

### RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Recolecte sangre por venopunción y separe el suero de inmediato.
2. En caso de no llevar a cabo el examen inmediatamente, refrigere la muestra a (2-8°C) por cinco días. En caso de exceder dicho plazo, congele a -20°C hasta un mes.
3. Evite múltiples ciclos de congelamiento-descongelamientos de la muestra.
4. Previo al ensayo, la muestra deberá ser debidamente descongelada y mezclada.
5. Evite utilizar muestras con exceso de lípidos.

### PREPARACIÓN DEL EQUIPO

1. Todos los reactivos deberán ser traídos a la temperatura ambiente (18°-25°C) antes de su uso.
2. Preparar solución de lavado a 1x adicionando 475 ml de agua destilada o desionizada al frasco de (25ml a 20x).

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Previo al ensayo, permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18°- 26°C). Mezcle suavemente los reactivos antes de su uso.

1. Corte el número de pozos a utilizar. Cierre y selle el resto de los micros pocillos no utilizados y refrigérelos a 2-8° C.
2. Vierta 25 µl de estándares de IgE, especímenes y controles en los pozos apropiados.
3. Vierta 100 µl de conjugado de Biotina en todos los pocillos. Agite el platillo por 10-30 segundos.
4. Cubra e incube a temperatura ambiente por 30 minutos (18-26°C). Retire el líquido de los pocillos. Enjuague y lave los pocillos tres veces con 300 µl de solución de lavado de 1X. Golpee la placa de los micros pocillos sobre el papel absorbente para remover las gotas de agua residuales.
6. Vierta 100 µl de reactivo enzimático en todos los pocillos.
7. Cubra e incube a temperatura ambiente por 30 minutos.
8. Retire el líquido de los pocillos. Enjuague y lave los pocillos tres veces con 300 µl de solución de lavado de 1X. Golpee la placa de los micros pocillos sobre el papel absorbente para remover las gotas de agua residuales.
9. Vierta 100 µl de reactivo enzimático en todos los pocillos.
10. Incube a temperatura ambiente por 15 minutos.
11. Frene la reacción agregando 50 µl de solución de frenado a cada pozo. Sacuda gentilmente para facilitar el mezclado de la solución.
12. Lea la densidad óptica a 450 nm con un lector de placa de micro valoración en un plazo de 15 minutos después de haber agregado la solución de frenado.

## CÁLCULO DE RESULTADOS

La curva estándar se construye de la siguiente manera:

1. Compruebe el valor estándar de IgE en cada vial estándar. Este valor puede variar de lote a lote. Asegúrese de verificar el valor de cada kit. Véase el ejemplo de la norma adjunta.
2. Para construir la curva estándar, trazar la absorbancia para el estándar de IgE (eje vertical) frente a las concentraciones estándar de IgE en IU/ml (eje horizontal) en un papel gráfico lineal. Dibuje la mejor curva a través de los puntos.
3. Utilice el valor de absorbancia de los controles y de cada muestra desconocida para determinar la concentración correspondiente de IgE desde la curva estándar.

## VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales sobre la base de una muestra representativa de la población local. Los siguientes valores de IgE pueden usar rangos utilizados solo como guía:

Clasificación	Rango Normal (IU/ml)
Hombre	Menos de 250
Mujer	Menos de 175

## LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Los resultados obtenidos mediante la utilización de este kit sirven solo como ayuda en el diagnóstico y deben ser interpretados en relación a la historia clínica del paciente, síntomas y otros procedimientos de diagnóstico.
2. No utilice ácido de sodio como preservante ya que inhibe la actividad de la enzima HRP.

## PERFORMANCE

### 1. Correlación con un kit ELISA de referencia:

Un total de 60 muestras de suero fueron analizadas utilizando el presente kit ELISA y otro kit de referencia. Fueron obtenidos los siguientes resultados:

Correlación	Pendiente	Intercepción
0.99	1.02	0.49

### 2. Precisión:

Estudio Intra Ensayo

Suero	No. de Réplicas	Media mIU/ml	Desvío Estandar	Coficiente de Variación (%)
1	16	6.99	0.22	3.15
2	16	122.2	5.99	4.91
3	16	335.9	13.67	4.07

Estudio Inter Ensayo

Suero	No. de Réplicas	Media mIU/ml	Desvío Estandar	Coficiente de Variación (%)
1	16	7.70	0.69	8.9
2	16	123.4	4.8	3.9
3	16	337.1	11.2	3.3

### 3. Sensibilidad:

La sensibilidad de esta prueba fue al calcular la media más dos desvíos estándar del punto de estándar cero, veinte veces en la misma prueba.

Suero	No. de Réplicas	Media mIU/ml	Desvío Estandar	Media + 2SD (Sens.)
Zero Standard	20	0.0172	0.028	0.0452

## REFERENCIAS

1. Marsh DG, Neely JD, Breazeale DR, et al. Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. Science 1994; 264:1152-6.
2. Vercelli D. Molecular regulation of the IgE immune response. Clin Exp Allergy 1995; 25:S2:43-5.
3. Stern A, van Hage-Hamsten M, Sondell K, Johansson SGO. Is allergy screening of blood donors necessary? Vox Sang 1995; 69:114-9.
4. Hide M, Francis DM, Grattan CEH, Hakimi J, Kochan JP, Greaves MW. Autoantibodies against the high-affinity IgE receptor as a cause of histamine release in chronic urticaria. N Engl J Med 1993; 328:1599-1604.