


HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

PROSPECTO INTERNACIONAL DEL ENSAYO OPTIGEN®

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

Doc.No. 0649-SPA
Rev.: 04
Fecha de revisión: 10/13

1 Indicaciones de uso

El ensayo OPTIGEN es un ensayo *in vitro* para la determinación semicuantitativa de las concentraciones circulantes de IgE contra alérgenos específicos en suero humano. Se ha creado para ayudar en el diagnóstico clínico de trastornos alérgicos mediados por IgE junto con otros hallazgos clínicos. El dispositivo está diseñado para su uso en laboratorios clínicos.

2 Resumen y explicación de la prueba

La inmunoglobulina E es una clase definida de anticuerpos séricos, que actúa como mediadora de las reacciones de hipersensibilidad de tipo I, también denominadas alergia atópica. Cuando tiene lugar una estimulación de los linfocitos B inmunocompetentes debida a la exposición a un antígeno (alérgeno), dichas células pueden producir anticuerpos IgE específicos contra el alérgeno, que se unen a los receptores de los mastocitos y de los leucocitos basófilos.

Si el mismo alérgeno vuelve a entrar en el organismo mediante inhalación, ingesta o contacto cutáneo, se producirá su unión con los anticuerpos IgE ligados a las células. Esto desencadena la degranulación de éstas y la liberación de aminas vasoactivas hacia los tejidos circundantes. Las aminas vasoactivas, como la histamina, son las causantes de la contracción del músculo liso bronquial, el prurito cutáneo, la tumefacción localizada y la filtración de líquidos extracelulares a través de las barreras mucosas que caracterizan a las reacciones de hipersensibilidad de tipo I.

Las manifestaciones clínicas más comunes de las reacciones de hipersensibilidad de tipo I son sinusitis, asma, dermatitis, urticaria y, en raras ocasiones, *shock* anafiláctico.

La evaluación de las concentraciones de IgE específica para un determinado alérgeno en el suero del paciente, junto con la evaluación clínica basada en la historia del paciente y en las pruebas realizadas en consecuencia, puede ayudar al médico a confirmar el diagnóstico de alergia atópica y a tomar decisiones terapéuticas.

3 Principio de la prueba

El ensayo OPTIGEN se realiza en un pequeño dispositivo de plástico, denominado cámara de prueba, en el cual el suero del paciente se expone simultáneamente a varios alérgenos o mezclas de alérgenos. La cámara de prueba contiene una fase sólida de poliestireno en la que se encuentran integradas diminutas lentes, así como un control negativo (blanco) y un control positivo para el procedimiento.

El ensayo OPTIGEN se puede efectuar de manera manual o con el procesador semiautomático AP 720S™.

El ensayo OPTIGEN se realiza llenando una cámara de prueba con suero del paciente tras un paso de prelavado. Durante la incubación del suero, la IgE presente en él se une a los pocillos recubiertos de alérgeno. Tras un periodo de incubación, la cámara de prueba se lava con solución tamponada para eliminar aquellos componentes del suero que no se hayan unido.

A continuación, se agrega a la cámara de prueba un anticuerpo contra IgE marcado con enzima, el cual se une a la IgE previamente unida a los pocillos.

Tras un segundo lavado, la cámara de prueba se llena con una mezcla fotorreactiva que, cuando se combina con el anticuerpo contra IgE marcado con enzima, emite una luz generada por un proceso químico (es decir, quimioluminiscencia). La cantidad de luz emitida por cada pocillo es directamente proporcional a la cantidad de IgE específica para el alérgeno presente en el suero del paciente.

4 Reactivos / componentes

Ensayo OPTIGEN

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

La cámara de prueba contiene una fase sólida de poliestireno y lentes de pequeño tamaño integradas en cada una de las cuales hay un alérgeno o una mezcla de alérgenos

20 cámaras de prueba

Concentrado de solución de lavado tamponada

Solución que, cuando se diluye, contiene suero salino tamponado con fosfato 0,01 M, Tween 20 al 0,1% y azida sódica al 0,001% como agente conservante

Un frasco de 50 ml

Reactivo con anticuerpo

Solución que contiene: Solución de color azul con anticuerpos de cabra contra IgE humana marcados con enzima, suero salino tamponado con fosfato 0,01 M, pH 7,2, estabilizadores de proteínas, Proclin® al 0,1% como agente conservante.

Un frasco de 16 ml

Agente fotorreactivo AB

Solución que contiene: Luminol (3-aminofthalhidrazida) 7-15 mM, potenciador 5-25 µM y tampón borato 0,025 M, pH 9,4

Un frasco de 8 ml

Agente fotorreactivo CD

Solución que contiene: Etil naranja 0,00125 M, peróxido de hidrógeno 0,002 M

Un frasco de 8 ml

Tapones de goma para las cámaras de prueba (parte superior)

Tapones negros para la parte superior de las cámaras de prueba

22 tapones

Tapones de goma para las cámaras de prueba (base)

Tapones blancos para la base de las cámaras de prueba

22 tapones

5 Precauciones

- El ensayo OPTIGEN es 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.¹
- 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 del ensayo OPTIGEN pertenecen a lotes compatibles (de reactivos y cámaras de prueba). No los

mezcle con otras líneas de productos, ya que no serían compatibles.

- Se ha observado que la contaminación con hipoclorito de sodio (lejía) puede alterar la prueba.

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 que se puedan haber formado durante la refrigeración se hayan disuelto. 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 disuelto todos los cristales.
- Enjuague con agua destilada el dispensador 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 un frasco dosificador de solución de lavado de 2 l.
- Llene el frasco dosificador de solución de lavado hasta la marca correspondiente a 1000 ml con agua destilada o desionizada.
- Mezcle muy bien.
- Una vez preparada, la solución de lavado tamponada puede utilizarse durante un máximo de un 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 siempre que se conserve refrigerado (2-8°C) cuando no esté siendo utilizado.
- Un frasco de reactivo con anticuerpo es suficiente para veinte (20) cámaras de prueba OPTIGEN.

Mezcla fotorreactiva:

Prepare la mezcla fotorreactiva inmediatamente antes de su uso.

- Permita que los agentes fotorreactivos AB y CD alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.
 - Utilice una micropipeta con punta desechable para combinar partes iguales de los agentes fotorreactivos AB y CD. Para cada cámara de prueba, extraiga 250 µl de cada frasco de agentes fotorreactivo AB y CD. Dispénselos en un recipiente desechable.
- 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.
 - La mezcla de fotorreactivo debe usarse en el plazo de 60 minutos después de la mezcla

NOTA: para obtener resultados óptimos, la mezcla fotorreactiva debe utilizarse inmediatamente después de su preparación.

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 contiene un absorbente de humedad y debe cerrarse adecuadamente después de cada uso. Si se conservan en las bolsas bien cerradas a 2-8°C, las cámaras de prueba permanecerán estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas o cajas del kit.
- 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.

8 Obtención y preparación de muestras

Manipule todas 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.²⁻⁴

En el método manual, el volumen mínimo de suero humano que se requiere por cada cámara de prueba es:

Cámara de prueba > 20 alérgenos: 500 µl
Cámara de prueba ≤ 20 alérgenos: 300 µl

En el método semiautomático (usando el AP 720S), el volumen mínimo de suero humano que se requiere por cada cámara de prueba es:

Cámara de prueba > 20 alérgenos: 600 µl
Cámara de prueba ≤ 20 alérgenos: 490 µl

Debe seguirse el siguiente protocolo para la obtención, preparación y conservación de suero para uso en la prueba OPTIGEN para evaluación de alergias:

1. Recoja una muestra de sangre venosa en un tubo de separación de suero o un tubo con tapón rojo de 5 ml. No es necesario que el paciente esté en ayunas. No se requiere ningún preparativo en especial.
NOTA: los tubos separadores de suero (SST, serum separator tubes) contienen un material inerte que separa el suero de las células cuando se someten a centrifugación. La presencia de hemólisis puede afectar negativamente al rendimiento del ensayo OPTIGEN para evaluación de alergias.
2. Invierta suavemente el tubo de recogida del suero 3-5 veces.
3. Etiquete el tubo que contiene la muestra con el nombre del paciente y la fecha de extracción.
4. Permita que la sangre se coagule en el recipiente original tapado durante un máximo de 2 horas a temperatura ambiente o hasta que tenga lugar la coagulación.
5. Centrifugue la sangre coagulada durante 10 a 20 minutos a 2.000-3.000 x g o 2.500-3.600 rpm en el recipiente original tapado.
6. Transfiera el suero del tubo utilizado para la centrifugación a un tubo de plástico para almacenamiento limpio y adecuadamente etiquetado.
7. Las muestras de suero pueden conservarse a 2-8°C durante un máximo de una semana. Para conservarlas durante períodos más prolongados, congele las muestras a -20°C.

NOTA: debe evitarse congelar y descongelar repetidamente las muestras de suero. Después de descongelar una muestra congelada, debe mezclarse muy bien la muestra antes de su centrifugación. Una vez retiradas del lugar de conservación e inmediatamente antes de realizar el ensayo, las muestras de suero deben centrifugarse de nuevo durante 10-20 minutos a 2.000-3.000 x g o 2.500-3.600 rpm.

9 Procedimiento del ensayo

Consulte la *Guía del usuario de OPTIGEN* (ref. 60501) y el *Manual del usuario del luminómetro CLA-1* (Doc. n.º 0277) para obtener instrucciones detalladas sobre cómo efectuar la prueba. Si utiliza el aparato semiautomático AP 720S, consulte el Manual de instrucciones (Doc. n.º 0780) y la Guía del panel LCD del AP 720S (Doc. n.º 0781).

Materiales provistos

- Ensayo OPTIGEN (consulte la sección 4, "Reactivos / componentes")

Materiales necesarios pero no suministrados

- Equipo para la prueba OPTIGEN, que comprende:
 - Soporte para cámaras de prueba, capaz de contener hasta 40 cámaras de prueba
 - Recipiente para drenaje de muestras
 - Frasco dosificador graduado de solución de lavado tamponada, de 2 litros
 - Recipientes desechables de 10 ml:
 - Jeringa de 3 ml con dispositivo luer lock
 - Pipeta de volumen fijo electrónica o manual (opcional)
- 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 ó 5 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. Centrifugue las muestras de suero inmediatamente antes de su uso, si la muestra no se ha centrifugado el día de la prueba(consulte la sección 8, "Obtención y preparación de muestras").
 2. Extraiga las cámaras de prueba de la bolsa (una por paciente).
 3. Cierre bien la bolsa de plástico y guarde de nuevo el kit en la nevera.
 4. Con las ventanas orientadas hacia abajo, rotule cada cámara de prueba con la identificación correcta del paciente.
- NOTA: conserve el kit a 2-8°C mientras no se esté utilizando.**

Procedimiento

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

B. Rehidrate la cámara de prueba

1. Purgue el dosificador de la solución de lavado tamponada en el fregadero o recipiente de drenaje hasta que hayan desaparecido todas las burbujas.
 2. Acople el extremo de la llave de paso a la parte superior de la primera cámara de prueba.
 3. Lave cada cámara de prueba una sola vez con 10 ml de solución de lavado tamponada 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.**

C. Introduzca el suero en la cámara de prueba

1. Golpee suavemente la cámara de prueba sobre papel absorbente para eliminar todo el líquido residual.
 2. Acople la jeringa de 3 ml a la parte superior de la cámara de prueba.
 3. Inserte la base de la cámara de prueba en el vial que contiene el suero del paciente.
- NOTA: evite contactar con precipitados y capas lipídicas que pudieran estar presentes.**
4. Aspire **LENTAMENTE** con el émbolo de la jeringa de forma que introduzca el suero en la cámara de prueba hasta cubrir la ventana superior. **Controle que no se formen burbujas.**
- NOTA: asegúrese de que la ventana del control positivo quede completamente cubierta por el suero.**

D. 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 prueba.
 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 prueba llenas de suero en posición vertical en el soporte para cámaras de prueba.
 4. Incube a temperatura ambiente durante **2 horas +/- 10 minutos.**

E. Deseche el suero:

1. Retire 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. Retire el tapón superior de cada cámara de prueba y deje que el suero se escurra y caiga dentro del recipiente para el drenaje de muestras.
3. Seque los tapones y guárdelos para utilizarlos en pasos posteriores.

F. Lave las cámaras de prueba

1. Purgue el dosificador de solución de lavado hasta que desaparezcan todas las burbujas de aire.
 2. Conecte el extremo de la llave de paso a la parte superior de la primera cámara de prueba.
 3. Lave cada cámara de prueba con 10 ml de solución de lavado tamponada apretando una vez, con fuerza moderada, la bomba del dosificador.
- NOTA: espere a que todo el líquido se haya escurrido de cada una de las cámaras de prueba antes de continuar con el paso siguiente.**

G. Llene las cámaras de prueba con el reactivo con anticuerpo

1. Permita que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.
 2. Mezcle suavemente el contenido del frasco que contiene los anticuerpos antes de su uso.
 3. Para evitar la contaminación del reactivo de anticuerpo, transfiera la cantidad necesaria a un recipiente desechable u otro recipiente adecuado.
 4. Golpee suavemente la base del extremo de la cámara de prueba sobre papel absorbente para eliminar todo resto de solución de lavado tamponada.
 5. Acople la jeringa de 3 ml a la parte superior de la cámara de prueba.
 6. Coloque la base de la cámara de prueba dentro del recipiente desechable que contiene el reactivo con anticuerpo.
 7. Aspire **LENTAMENTE** con el émbolo de la jeringa de forma que introduzca el reactivo con anticuerpo en la cámara de prueba hasta cubrir la ventana superior.
- NOTA: asegúrese de que la ventana superior quede completamente cubierta por el reactivo con anticuerpo. Esto reducirá la formación de burbujas de aire que podrían alterar los resultados de la prueba.**

H. 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 correspondiente a la parte superior de la cámara.
 3. Coloque las cámaras de prueba llenas de reactivo en posición vertical en el soporte para cámaras de prueba. Incube a temperatura ambiente durante **2 horas +/- 10 minutos** y anote la hora de comienzo de la incubación en la hoja de programación.
- NOTA: conserve los kits a 2-8°C mientras no se estén utilizando.**

I. Deseche el reactivo con anticuerpo

1. Retire 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. Retire el tapón superior de cada cámara de prueba y deje que el líquido se escurra y caiga dentro del recipiente para el drenaje de muestras. Anote la hora de finalización de la incubación en la hoja de programación.
3. Seque los tapones y guárdelos para utilizarlos en pasos posteriores.

J. Lave las cámaras de prueba

1. Purgue el dosificador en el fregadero o en el recipiente de drenaje hasta que desaparezcan todas las burbujas de aire.
 2. Acople el extremo de la llave de paso a la parte superior de la primera cámara de prueba.
 3. Lave cada cámara de prueba una sola vez con 10 ml de solución de lavado tamponada apretando una vez, con fuerza moderada, la bomba del dosificador.
- NOTA: espere a que todo el líquido se haya escurrido de cada una de las cámaras de prueba antes de continuar con el paso siguiente.**

K. Prepare la mezcla fotorreactiva

1. Prepare la mezcla fotorreactiva tal como se indica en la sección 6, "Preparación de los reactivos".
- NOTA: permita que los fotorreactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.**
- NOTA: para obtener resultados óptimos, utilice la mezcla fotorreactiva inmediatamente después de su preparación.**

L. Llene las cámaras de prueba con la mezcla fotorreactiva

1. Golpee suavemente la base de la cámara de prueba sobre una toalla de papel absorbente para eliminar los restos del tampón 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 el recipiente que contiene 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 llenarla completamente.
- NOTA: compruebe que la ventana superior quede completamente cubierta con la mezcla fotorreactiva.**

M. 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 correspondiente a la parte superior de la cámara.
3. Examine las cámaras de prueba taponadas para descartar la presencia de 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.

N. Permita que las cámaras reposen durante 10 minutos

1. Deje incubando todas las cámaras de prueba durante 10 minutos antes de proceder a la lectura en el luminómetro. La lectura de todas las cámaras de prueba se debe realizar durante los 60 minutos posteriores a la introducción del agente fotorreactivo.
2. Para obtener más información, consulte la sección "Lectura de los resultados de la prueba" acerca de la utilización del luminómetro.

O. Lectura de los resultados con el luminómetro CLA-1

NOTA: no abra, bajo ninguna circunstancia, la carcasa del luminómetro CLA-1. Si lo hace, la garantía del dispositivo quedará ANULADA, impedirá el funcionamiento del luminómetro CLA-1, que necesitará la realización de ajustes en fábrica, y expondrá al usuario a lesiones personales graves.

1. Coloque la cámara de prueba en la bandeja del chasis de alojamiento de las cámaras de prueba.
 - a. Coloque la cámara de prueba en el chasis de alojamiento de las cámaras de prueba en el orden indicado en la hoja de programación del OPTIGEN.
 - b. Deslice la cámara de prueba con el tapón negro al frente y las ventanas orientadas hacia arriba, hasta el final de la bandeja del chasis de alojamiento de las cámaras de prueba.
 - c. Examine la cámara de prueba una vez cargada para descartar la presencia de pérdidas de líquido. Limpie con un paño limpio húmedo que no suelte pelusa.
2. Coloque el chasis para alojamiento de las cámaras de prueba en el luminómetro CLA-1.
 - a. Apriete una vez el botón "OPEN/CLOSE" (abrir/cerrar) del luminómetro CLA-1 para abrir la puerta de transporte.
 - b. Sostenga el chasis de alojamiento de las cámaras de prueba por su asa e inserte la bandeja cargada en la ranura de transporte para el chasis de alojamiento, hasta que se oiga un chasquido.
 - c. Apriete de nuevo el botón "OPEN/CLOSE". En este momento, el chasis de alojamiento se transportará automáticamente al interior del luminómetro CLA-1 y se cerrará la puerta de transporte.
3. Programe la lista de carga en el luminómetro CLA-1.
 - a. Identifique qué panel se encuentra en cada una de las cinco posiciones del chasis de alojamiento de las cámaras de prueba utilizando la hoja de programación del luminómetro como guía.
 - b. Apriete los botones "UP" (arriba) o "DOWN" (abajo) del luminómetro CLA-1 para seleccionar los diferentes paneles.
 - c. Apriete el botón "ENTER" (intro) cuando aparezca la opción correcta para la posición señalada en el chasis de alojamiento.
 - d. Repita los pasos previos hasta que se hayan programado correctamente en el luminómetro CLA-1 todas las cámaras de prueba cargadas en el chasis de alojamiento.
4. Lea e imprima los resultados.
 - a. Una vez programadas las cinco posiciones del chasis de alojamiento de cámaras de prueba, la pantalla del luminómetro CLA-1 mostrará la "LISTA DE CARGA" correspondiente. Si esta lista corresponde correctamente a las cámaras de prueba cargadas en el chasis de alojamiento, apriete el botón "ENTER" para comenzar el análisis.
 - b. El luminómetro CLA-1 imprimirá los resultados del análisis al cabo de aproximadamente un minuto.

- c. Anote el nombre del paciente en la hoja impresa con los resultados y adjunte los resultados al informe de análisis del luminómetro CLA-1.

10 Control de calidad

A. Pocillos de control interno

Cada cámara de prueba contiene un control positivo para el procedimiento y un control negativo (blanco). Estos controles 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 no inferiores 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 igual o inferior a 69 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 las cámaras de prueba (asegurándose de insertarla completamente) y efectúe una nueva lectura.
- Si los resultados siguen siendo inaceptables, consulte las secciones 6 y 7.

B. Sueros de control IgE positivo e IgE negativo

Hitachi Chemical Diagnostics recomienda que cada lote nuevo de kits de reactivos y cámaras de prueba utilizados en el ensayo OPTIGEN para determinación de IgE alérgeno-específica sean sometidos a prueba con dos tipos de sueros de control: suero de control positivo para IgE y suero de control negativo para IgE.

Las agencias reguladoras pueden requerir un uso más frecuente de los sueros de control positivo y negativo. Consulte con la agencia reguladora correspondiente para obtener información más detallada.

Los sueros de control positivo y negativo para IgE de OPTIGEN se pueden adquirir en Hitachi Chemical Diagnostics, Inc., y se envían con un impreso en el que figuran los valores esperados. Los sueros de control se envían congelados y deben permanecer así hasta su utilización.

Los controles internos y el suero de control deben pasar las especificaciones para que se pueda informar de los resultados

11 Resultados

El luminómetro CLA-1 mide la cantidad de luz emitida por los alérgenos existentes en las cámaras de prueba. El luminómetro mide la emisión de luz en unidades de luminiscencia (UL). Para calcular la respuesta de IgE del paciente, el instrumento resta automáticamente el nivel de emisión de luz del control negativo del nivel de emisión de cada alérgeno. Los valores CLA se clasifican de 0 a 4 según la cantidad de luz emitida por cada uno de los alérgenos presentes en la cámara de prueba. A partir de estos valores se obtiene el sistema de puntuación de alergia en clases CLA del ensayo OPTIGEN para determinación de IgE alérgeno-específica. 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	Niveles de anticuerpos detectados Concentración de IgE alérgeno-específica
4	>242	Niveles muy altos de anticuerpos
3	143-242	Niveles altos de anticuerpos
2	66-142	Niveles moderados de anticuerpos
1	27-65	Niveles bajos de anticuerpos
0	0-26	No se detectan anticuerpos

Los valores de 1 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

- Los resultados medidos podrían variar +/- 1 clase. Los resultados positivos de niveles bajos se deben interpretar a la luz de los signos clínicos.
- El suero hemolizado o lipémico puede afectar negativamente al rendimiento del ensayo OPTIGEN.
- 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.
- El ensayo OPTIGEN 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 estos 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 2500 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

Se recomienda que cada laboratorio determine su propio rango de valores esperados para la población de interés. El umbral de corte entre resultados positivos y negativos se ha determinado como tres desviaciones estándar sobre el valor medio de la población normal

14 Características de rendimiento del procedimiento estándar

A. Precisión⁵

Intraensayo: se procesaron diez replicados de suero en una sola serie. El promedio del coeficiente de variación medio de las respuestas se calculó por clase.

Clase	% CV
1	31
2	16
3	16
4	5

Entre ensayos: se procesaron diez replicados de una muestra de suero en cinco días distintos. El promedio del coeficiente de variación de las respuestas se calculó por clase.

Clase	% CV
1	25
2	15
3	9
4	1

B. Límite de detección⁵

El límite de detección del ensayo se sitúa entre 12 y 26 UL y está vinculado a los alérgenos.

C. Especificidad analítica⁵

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 alergia⁵

Como promedio, la concordancia (calculada como eficiencia) entre cada prueba *in vitro* para alérgenos CLA y las pruebas *in vitro* alternativas es de aproximadamente 90%; el intervalo de concordancia oscila entre el 83% y el 98%.

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

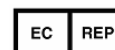
15 Bibliografía

- Safety Management No. CDC-22, *Decontamination of laboratory sink drains to remove azide salts*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control, April 30, 1976.
- 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.
- Richardson SH, Barkley WE, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. 2nd ed. Washington, DC: US Dept of Health and Human Services, 1988.
- Federal OSHA Standard 1910.1030. *Bloodborne pathogens*. 29 CFR 1910.1030.
- 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.



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



Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
Hitachi Europe Ltd.
Whitebrook Park
Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire SL6 8YA
Reino Unido
Tel. +44 (0) 1628 585 590
Fax. +44 (0) 1628 585 594

©2010, Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
OPTIGEN 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).