

### 1. Uso previsto

El test NADAL® IgE es un inmunoensayo cromatográfico sencillo de un sólo paso para la detección cualitativa de inmunoglobulina E en muestras de sangre completa, suero o plasma. Este test está destinado para servir de ayuda en el diagnóstico y tratamiento de los trastornos alérgicos y autoinmunes mediados por la IgE, y sólo está indicado para el uso profesional.

La sensibilidad del test NADAL® IgE es de 80 UI/ml.

### 2. Introducción y significado clínico

La inmunoglobulina E (IgE) es una proteína asociada con reacciones alérgicas. Se encuentra en el torrente sanguíneo y en los tejidos, normalmente en muy pequeñas cantidades. Mientras que la IgG se produce normalmente por el cuerpo para luchar contra organismos invasores, la IgE sólo se produce en casos de infecciones parasitarias invasivas como esquistosomiasis o triquinosis, comunes en regiones subdesarrolladas. La producción de IgE es restringida y muy controlada por el cuerpo. Los cuerpos de personas alérgicas pierden la capacidad de regular la producción de IgE. Por esta razón, su sistema inmune comienza reaccionando ante sustancias comunes en el entorno (como alimentos, hierba o la piel de los animales, algo que normalmente no causa una reacción en una persona no alérgica) por la producción excesiva de IgE. Los IgE se unen a los mastocitos (células especializadas de los tejidos) y basófilos (un tipo de células blancas) en el torrente sanguíneo. Los mastocitos se encuentran en los tejidos de todo el cuerpo, pero su concentración es mayor en la piel, el sistema respiratorio y el tracto gastrointestinal. Cuando ocurre una nueva exposición al alérgeno, el IgE relacionado reconoce el alérgeno y provoca que los mastocitos y los basófilos suelten histamina y otros químicos, dando como resultado una reacción alérgica que comienza en la zona de la exposición.

### 3. Principio del test

El test NADAL® IgE es un inmunoensayo de tipo sándwich. El casete de test contiene una tira de membrana de nitrocelulosa con anticuerpos anti-IgE de cabra inmovilizados en el área de test (T) y en la de control (C).

La muestra se añade al pocillo correspondiente (S) del casete de test. La almohadilla contiene anticuerpos anti-IgE de ratón emparejados con oro coloidal. El analito (IgE) de la muestra reacciona con los anticuerpos anti-IgE de ratón emparejados con oro coloidal formando un complejo antígeno-anticuerpo-oro coloidal. Mientras tanto, el líquido se mueve a lo largo de la membrana por acción capilar, reforzada por la almohadilla de absorción, transportando estos complejos a los respectivos anticuerpos policlonales anti-IgE inmovilizados. Allí se quedan atrapados formando complejos tipo sándwich formados por anticuerpos inmovilizados antígeno (analito)-anticuerpo-oro coloidal. Cuando la muestra añadida contiene una determinada concentración de IgE, la formación de ese complejo de sándwich dará lugar a una línea coloreada visible en el área de test (T) de la membrana. Si la muestra no contiene IgE, no aparecerá la línea del área de test de la membrana.

Los conjugados de oro siguen migrando hasta la región de la línea de control (C) de la membrana de nitrocelulosa. Allí,

estos conjugados forman complejos con los anticuerpos anti-ratón de cabra en la membrana, dando lugar a una línea de control coloreada (C).

La aparición de una línea coloreada en el área de control (C) sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido suficiente y que la membrana ha reaccionado correctamente.

### 4. Reactivos y materiales provistos

- 10 casetes de test NADAL® IgE, (con pipetas desechables incluidas)
- 1 manual de instrucciones

### 5. Materiales adicionales

- Recipiente para la recolección de la muestra
- Cronómetro
- Centrifugadora (sólo para muestras de suero o plasma)

### 6. Almacenamiento y conservación

Los kits de test NADAL® IgE se deben almacenar a 4-30°C y utilizarse antes de la fecha de caducidad indicada en el envase. Los casetes de test NADAL® IgE son sensibles a la humedad y al calor.

### 7. Advertencias y precauciones

- Sólo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra en el área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles.
- Limpie en profundidad los posibles derrames o salpicaduras con un desinfectante.
- Utilice ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patógenos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (ej. no ingerir ni inhalar).

**8. Recolección de muestras y preparación**

**Muestras de sangre completa:**

Recoja una muestra de sangre anticoagulada con heparina de sodio o de litio. Las muestras de sangre completa se deben analizar dentro de las 24 horas posteriores a su recolección.

**Muestras de plasma/suero:**

- Centrifugue las muestras de sangre completa para obtener muestras de suero/plasma.
- Si las muestras no se analizan inmediatamente, se deben mantener refrigeradas a 2-8°C hasta 3 días. Para periodos de almacenamiento de más de 3 días, se recomienda la congelación de las muestras. Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de su análisis.
- Las muestras con precipitados pueden producir resultados erróneos. Estas muestras se deben clarificar antes del ensayo.

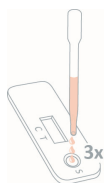
**9. Procedimiento del test**

Lleve las muestras y los casetes de test a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. Mantenga el casete en su envase sellado hasta su uso.

1. Retire el casete de test NADAL® IgE de su envase y sitúelo sobre una superficie seca y plana.
2. Sujete el gotero desechable sobre el pocillo de la muestra (S) del casete y añada 1 gota de la misma. Espere a que se absorba y deje caer otra gota. Repita el procedimiento hasta haber dejado caer 3 gotas (aprox. 120 µl).



o bien



**Nota:** si se añaden las gotas demasiado rápido, especialmente gotas de sangre completa, se puede obstruir el pocillo de la muestra (S).

**Cuando el ensayo empiece a funcionar, observará un líquido coloreado que migra a lo largo de la membrana.**

**Nota:** si no se observa flujo en la ventana de resultados después de 30 segundos, deje caer una 4ª gota de la muestra en el pocillo (S).

3. Lea los resultados del test a los 10 minutos. No interprete los resultados después de 15 minutos.



10 min

**10. Interpretación del resultado**

El tiempo de interpretación indicado, está basado en la lectura de los resultados a temperatura ambiente (15-30°C). Si su temperatura ambiente es significativamente inferior a 15°C, se debe aumentar debidamente el tiempo de lectura.

**Positivo:**

Aparecen dos líneas en la ventana de resultados. Una en el área de control (C) y la otra en el área de test (T).



**Nota:** generalmente, cuanto más alto es el nivel de analitos en la muestra, más fuerte es el color de la línea de test (T). Cuando el nivel de analitos en la muestra se acerca al límite de sensibilidad del test, el color de la línea (T) es poco intenso.

**Negativo:**

Aparece una línea coloreada en la región de control (C). No aparece ninguna línea coloreada en el área de la línea de test (T).



**No válido:**

No aparece la línea de control. Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor local.



Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

**Nota:** un resultado positivo no cambiará después de su lectura a los 15 minutos exactamente. Sin embargo, para evitar resultados incorrectos, no los interprete después de más de 15 minutos, ya que, pasado este tiempo, la sensibilidad del test será superior a 80 UI/ml. Algunas muestras con una concentración alta de factor reumatoide pueden producir un resultado positivo no específico.

**11. Control de calidad**

El casete contiene un control interno del procedimiento:

La línea coloreada que aparece en la región de control (C) se considera un control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente, que la membrana ha reaccionado correctamente y que la técnica del procedimiento ha sido adecuada.

**12. Limitaciones**

- Aunque el test NADAL® IgE es muy preciso en la detección, puede ocurrir una baja incidencia de resultados falsos. Si se obtienen resultados dudosos, se requieren otros test disponibles clínicamente.
- Al igual que con otros test, no se debe basar un diagnóstico clínico definitivo en los resultados de una única prueba, sino que debe ser elaborado por un médico tras evaluar todos los hallazgos y pruebas clínicas.

**13. Características del rendimiento**

**Sensibilidad y especificidad relativa**

Se realizaron estudios comparativos utilizando el test NADAL® IgE en comparación con los comercialmente disponibles, kits de test ELISA IgE cuantitativa (MP Biomedicals, NZ, USA) entre individuos que presentan síntomas alérgicos o son sospechosos de tener reacciones alérgicas agudas.

Se recolectaron muestras de sangre de 750 pacientes. Su edad oscilaba entre los 14 y los 68 años. El 58% eran mujeres y el 42% hombres. Todos los estudios de comparación se realizaron de forma ciega.

		IgE ELISA (MP Biomedicals, NY, USA)		
		+	-	Total
Test NADAL® IgE	+	315	17	332
	-	8	410	418
	Total	323	427	750

Sensibilidad relativa: 97,5 % (315/323)

Especificidad relativa: 96,0% (410/427)

#### Sensibilidad analítica

Se determinó un stock de IgE positivo con el ELISA IgE (MP Biomedicals, NY, USA) para tener un nivel de IgE de 331 UI/ml. Este suero de stock se diluyó para obtener la sensibilidad del punto de corte de 80 UI/ml del test NADAL® IgE.

Diluciones con concentración específica de IgE en UI/ml	Resultados del test NADAL® IgE
10	-
30	-
70	-
80	+
90	+
120	+
150	+

La sensibilidad analítica del test NADAL® IgE es de 80 UI/ml.

#### Reacciones cruzadas y estudios de interferencia

Para estudiar la especificidad se utilizaron muestras de sangre de sujetos con IgE negativa sin contener ninguna otra sustancia relacionada, y mezclada con otras proteínas y microorganismos presentados en la tabla siguiente. Estas muestras se analizaron utilizando el test NADAL® IgE en réplicas de 10. Se estableció que una muestra era negativa cuando a los 10 minutos aparecía la línea coloreada de control (C), pero no aparecía la línea coloreada de test (T). Se estableció una muestra como positiva cuando la línea de control y la línea de test son visibles a los 10 minutos.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Número de test	Muestras enriquecidas con las siguientes proteínas y microorganismos	Resultados del test NADAL® IgE	
		Muestras enriquecidas de IgE negativas	Muestras enriquecidas de IgE positivas
10	Inmunoglobulina humana A (400 mg/dl)	Todo (-)	Todo (+)
10	Inmunoglobulina humana G (400 mg/dl)	Todo (-)	Todo (+)
10	Inmunoglobulina humana M (400 mg/dl)	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Proteus vulgaris</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Salmonella typhi</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Acinetobacter spp</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Candida albicans</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Escherichia coli</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Gardnerella vaginalis</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Neisseria meningitidis</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Streptococcus faecalis</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Neisseria lactamica</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Streptococcus faecium</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Todo (-)	Todo (+)

Se añadieron sustancias químicas potencialmente interferentes (presentes en la tabla de siguiente) a muestras definidas clínicamente como negativas. Las muestras se analizaron utilizando el test NADAL® IgE en réplicas de 5. Se estableció que una muestra era negativa cuando a los 10 minutos aparecía la línea coloreada de control (C), pero no aparecía la línea coloreada de test (T). Se estableció una muestra como positiva cuando la línea de control y la línea de test son visibles a los 10 minutos.

Número de test hechos	Sustancias químicas potencialmente interferentes añadidas a las muestras negativas	Resultados del test NADAL® IgE
5	Acetamiofeno, 20 mg/dl	Todo (-)
5	Ácido acetilsalicílico, 20 mg/dl	Todo (-)
5	Albúmina, 20 mg/ml	Todo (-)
5	Ácido ascórbico, 20 mg/dl	Todo (-)
5	Atropina, 20 mg/dl	Todo (-)
5	Bilirrubina, 10 mg/dl	Todo (-)
5	Cafeína, 20 mg/dl	Todo (-)
5	Creatinina, 20 mg/dl	Todo (-)
5	Ácido gentésico, 20 mg/dl	Todo (-)
5	Glucosa, 2.000 mg/dl	Todo (-)
5	Glucosa, 10 mg/ml	Todo (-)
5	Cetonas, 40 mg/dl	Todo (-)
5	Heparina de litio, 3 mg/dl	Todo (-)
5	Mestranol, 3 mg/dl	Todo (-)
5	Nitrito, 20 mg/dl	Todo (-)
5	Penicilina, 40.000 U/dl	Todo (-)
5	Fosfatasa ácida prostática 1 mg/ml	Todo (-)
5	Heparina de sodio, 3 mg/dl	Todo (-)
5	Triglicérido, 500 mg/dl	Todo (-)

Ninguna de las sustancias analizadas (mostradas en la tabla siguiente) presentan ninguna interferencia con las muestras definidas clínicamente como negativas. Las muestras negativas enriquecidas con sustancias potencialmente interferentes mostraron resultados negativos consistentes.

#### Estudios de reproducibilidad

Se llevaron estudios de reproducibilidad a tres lugares diferentes. Se analizaron muestras negativas, positivas débiles y positivas fuertes utilizando en total 120 test NADAL® IgE. Las muestras se analizaron dos veces al día, en dos pruebas diferentes, diariamente durante 20 días. Esto permitió realizar pruebas independientes entre días, entre test y en un mismo día. Todas ellas mostraron resultados consistentes.

#### Estudios de reproducibilidad basados en los lugares de estudio

Lecturas del test de IgE (número de ensayos)			
Lugar del test	Negativo	Positivo débil (80 UI/ml)	Positivo fuerte (320 UI/ml)
1	N (40)	P (40)	P (40)
2	N (40)	P (40)	P (40)
3	N (40)	P (40)	P (40)

Los resultados del test en los 3 lugares coincidieron en un 100%.

#### 14. Referencias

1. Hamilton RG and Adkinson MF, "Clinical Laboratory Methods for the Assessment and Management of Human Allergic Diseases," Clin Lab Med, 1986, 6:117-38.
2. Jeske DJ and Capra JD, "Immunoglobulins: Structure and Function," Fundamental Immunology, Paul WE, ed, New York, NY: Raven Press, 1984, 131-65.
3. Ownby DR, "Allergy Testing: In Vitro Versus In Vivo," Pediatr Clin North Am, 1988, 35:995-1009.
4. Van Arsdel PP Jr and Larson EB, "Diagnostic Tests for Patients With Suspected Allergic Disease," Ann Intern Med, 1989, 110(4):304-12.
5. Wall R and Kuehl M, "Biosynthesis and Regulation of Immunoglobulins," Annu Rev Immunol, 1983, 1:393-422.

Rev. 1, 2015-08-14 MP