

IgE TOTAL

Uso Previsto:

Inmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro de la inmunoglobulina E (IgE total) en suero humano.

Resumen:¹⁻⁹

Indicaciones: enfermedades alérgicas, helmintiasis, dermatitis eczematosas o no eczematosas, mieloma IgE, etc. Diagnóstico de reacciones alérgicas y enfermedades atópicas: Además de las pruebas cutáneas y de provocación y la detección de IgE específica, el diagnóstico de las enfermedades alérgicas también incluye la detección del nivel de IgE total. Sin embargo, las reacciones alérgicas no siempre van acompañadas de un aumento de los niveles de IgE total (adultos > 100 IU/ml). Al contrario, los niveles bajos de IgE (adultos <25 IU/ml) no pueden descartar una reacción alérgica. A través del tratamiento de desensibilización a largo plazo y manteniéndose alejado de los alérgenos, el título total de IgE suele disminuir. Mediante la medición del nivel total de IgE se pueden distinguir el asma alérgica y el asma endógena, la rinitis alérgica y la rinitis vasomotora, así como la dermatitis atópica infantil y la dermatitis seborreica. En pacientes con dermatitis atópica se encontraron concentraciones elevadas de IgE (miles de IU/ml). Otras enfermedades alérgicas (y de alta IgE) incluyen urticaria aguda recurrente o crónica, edema de Quincke recurrente (edema angioneurótico), intolerancia gastrointestinal y erupciones de origen desconocido. La detección de IgE total también puede utilizarse en el diagnóstico diferencial de la infiltración eosinofílica pulmonar, la aspergilosis alérgica, la alveolitis alérgica exógena (pulmón de granjero y pulmón de paloma) y el síndrome strau β de la iglesia. En otras enfermedades: las enfermedades no alérgicas con niveles elevados de IgE incluyen diversas formas de helmintiasis, como toxocariasis, ascariasis, esquistosomiasis, anquilostomiasis, leishmaniasis y trichonematodiasis. Sin embargo, no se observó un aumento del nivel de IgE en la teniasis y la enterobiasis. En la mayoría de los casos, tras un tratamiento eficaz, el nivel de IgE puede reducirse a valores normales. Pueden detectarse concentraciones elevadas de IgE en las siguientes enfermedades: dermatitis eczematosas o no eczematosas, mieloma IgE, lupus eritematoso sistémico (LES) agudo, respuesta injerto contra huésped, defecto de células T (síndrome de Wiskott Aldrich), quemaduras de segundo o tercer grado, tumores otorrinolaringológicos, enfermedad hepática (especialmente relacionada con el abuso del alcohol), fase tardía del SIDA (células T CD4 + disminuidas significativamente) Puede producirse deficiencia de IgE en las siguientes enfermedades: hipogammaglobulinemia relacionada con el cromosoma x, inmunodeficiencia combinada grave (SCID) y fibrosis pulmonar.

Principio de la Prueba:

Duración total del ensayo: 80 minutos.

- Se combinan la muestra, los micropocillos recubiertos de Anti-IgE y el Anti-IgE marcado con enzimas.
- Durante la incubación, se permite que la IgE presente en la muestra reaccione simultáneamente con los dos anticuerpos, con lo que las moléculas de IgE quedan emparejadas entre la fase sólida y los anticuerpos ligados a enzimas.
- Tras el lavado, se genera un complejo entre la fase sólida, la IgE presente en la muestra y los anticuerpos ligados a la enzima mediante reacciones inmunológicas.
- A continuación, se añade una solución de sustrato que es catalizada por este complejo, dando lugar a una reacción cromogénica. La reacción cromogénica resultante se mide como absorbancia.
- La absorbancia es proporcional a la cantidad de IgE en la muestra.

Materiales Proporcionados:

- Microplaca recubierta, 8 x 12, 96 pocillos, recubierta previamente con anticuerpos anti-IgE monoclonal de ratón.
- Conjugado enzimático, 1 vial, 11 ml de HRP. Listo para usar.
- Calibradores, 6 viales de 1 ml cada uno, listos para usar; con concentraciones A=0.0, B=10, C=50, D=200, E=400, F=800 IU/ml.
- Sustrato, 1 vial de 11 ml, listos para usar.
- Solución de parada, 1 vial de 6 ml.
- Concentrado de solución de lavado, 1 vial de 25 ml (concentrado 40X), Contiene fosfato, NaCl y Tween-20.
- Inserto: 1 copia.
- Tapa Placa: 1 pieza.

Materiales Requeridos (Pero no provistos):

- Lector de microplacas con capacidad de absorción de longitudes de onda de 450 nm y 630 nm.
- Lavador de microplacas.
- Incubadora.
- Sacudidor de platos.
- Micropipetas con una precisión menor a 1,5%.
- Papel absorbente.
- Agua desmineralizada.

Precauciones y Advertencias:

- Mezclar bien la muestra en los pocillos mediante agitación y eliminar las burbujas.
- Realice las pruebas lejos de malas condiciones ambientales. P.ej. aire ambiente que contiene gas corrosivo de alta concentración, como ácido hipoclorito de sodio, alcalino, acetaldehído, etc., o que contenga polvo.

- Lave los pocillos 5 veces por completo. Cada pocillo debe llenarse completamente con solución de lavado. Sin embargo, evite que la fuerza en el llenado sea demasiado intensa para evitar desbordamiento. En cada ciclo de lavado, seque los líquidos de cada pocillo.
- Golpee la microplaca sobre papel absorbente para eliminar las gotas de residuos de agua.
- Se recomienda a lave la microplaca con un lavador automático de tiras de microplacas.
- No eliminar adecuadamente la solución adherida en la aspiración o decantación durante el lavado pueden dar resultados deficientes o falsos.
- No utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes códigos de lote.
- Si se utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva de calibración.
- Es importante que el tiempo de reacción en cada pocillo se mantenga constante para lograr resultados reproducibles.
- Asegúrese de que la parte inferior del plato esté limpia y seca.
- Asegúrese de que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer el plato.
- El sustrato y la solución de parada deben agregarse en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación de tiempo durante la reacción.
- La humedad atmosférica en placas frías reduce significativamente su vida útil.
- Después de obtener el número requerido de tiras, la placa debe colocarse en la bolsa de plástico con cierre con desecantes para minimizar la exposición al aire húmedo.
- Usar el pozo en blanco para corregir el cero punto de lectura si se utiliza un lector de longitud de onda única. Si los lectores de doble longitud de onda con 450nm y 630nm son usados, no hay necesidad de corregir el punto cero.

Almacenamiento:

- Almacenar a 2-8°C.
- Coloque los pocillos no utilizados en la bolsa de aluminio con cierre hermético y regéleselo a 2-8°C, bajo cuyas condiciones los pozos permanecerán estables por 2 meses, o hasta que la fecha de caducidad.
- Selle y devuelva los calibradores no utilizados a 2-8°C, en cuyas condiciones la estabilidad se mantendrá durante 1 mes, para un uso prolongado, almacene los calibradores y congele a -20°C. Evite múltiples ciclos de congelación y descongelación.
- Selle y devuelva todos los demás reactivos no utilizados a 2-8°C, en cuyas condiciones la estabilidad se mantendrá durante 2 meses, o hasta la fecha de caducidad etiquetada.

Recolección y Preparación de Muestras:

- Recoger muestras de suero de acuerdo con las prácticas de laboratorio correctas.
- Las muestras de suero y plasma humano pueden analizarse mediante este procedimiento, separe suero del coágulo tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis.
- Las muestras cubiertas se pueden almacenar hasta 48 horas a 2~8°C.
- Las muestras conservadas durante más tiempo se pueden congelar a -20 °C y evitar la congelación de fusión repetida.
- Centrifugar muestras que contengan precipitados antes de realizar el ensayo. No utilice muestras inactivadas por calor. No utilice muestras y controles estabilizados con azida.
- Asegúrese de que las muestras, los calibradores y los controles de los pacientes estén a temperatura ambiente. Temperatura (18-25°C) antes de la medición.
- Los sedimentos y los sólidos en suspensión en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba que debe ser eliminado por centrifugación. Asegúrese de que la formación completa del coágulo en las muestras de suero ha tenido lugar antes de la centrifugación.

Control de Calidad:

Cada laboratorio debe tener muestras de controles en los niveles bajo, normal y rango elevado para monitorear el rendimiento de la prueba. Debe haber controles tratados como desconocidos y valores determinados en cada procedimiento de prueba realizado.

El requisito de controles recomendados para este ensayo es utilizar un control por separado y probarlos junto las muestras dentro de la misma corrida. El resultado es válido si los valores de control están dentro de la concentración rangos impresos en las etiquetas.

Solución de Lavado (Dilución 40X):

Diluya 25 ml de Solución de Lavado Concentrada en 975 ml de agua desionizada, para un volumen final de 1000 ml. Estable por 2 meses a temperatura ambiente.

Procedimiento de Prueba:

- Utilice sólo el número de pocillos necesarios e identifique los pocillos de las microplacas para cada calibrador y muestra a realizar. Todos los calibradores y los controles deben establecer duplicado.
- Agregue 25 µL de calibradores o muestras a cada pocillo.
- Agregue 100 µL de enzima conjugada a cada pocillo.
- Agite suavemente la microplaca durante 30 segundos para mezclar.
- Cubra la placa con la tapa placa e incube a 37°C durante 60 minutos.
- Desechar el contenido de la microplaca por decantación o aspiración. Si decanta, golpee y seque la placa con papel absorbente.
- Agregue 350 µL de solución de lavado, 10 segundos por cada lavado, decante (golpee y seque) o aspire. Repetir 4 veces adicionales para un total de 5

lavados. Un lavador automático de tiras de microplacas puede ser usado. Al final del lavado, invierta la placa y elimine cualquier residuo solución de lavado sobre papel absorbente.

- Dispense 100 µL de sustrato en cada pocillo.
- Agite suavemente la microplaca durante 30 segundos para mezclar.
- Cubra la placa con la tapa placa e incube a temperatura ambiente (18-25 °C) en la oscuridad durante 20 minutos.
- Agregue 50 µL de solución de parada a cada pocillo.
- Agite de 15 a 20 segundos para mezclar el líquido dentro de los pocillos. Importante: Asegúrese de que el color cambie a amarillo por completo.
- Lea la absorbancia de cada pozo dentro de los primeros 30 minutos a 450nm (usando 620 a 630nm como longitud de onda secundaria para minimizar las imperfecciones del pocillo) en un lector de microplacas.

Cálculo:

- Registre la absorbancia obtenida de la impresión del lector de microplacas.
- Calcule la absorbancia media de cualquier medición duplicada y utilice la media para el siguiente cálculo.
- Trace el logaritmo común de la absorbancia frente a la concentración en IU/ml para cada calibrador.
- Dibuje la curva que mejor se ajuste a través de los puntos trazados en papel cuadrado lineal.

Intervalos de Referencia:

Los datos que figuran a continuación son sólo para demostración, cada laboratorio debe realizar y utilizar sus intervalos de referencias.

Muestra	Valor (IU/ml)	Absorbancia
Calibrador A	0	0.015
Calibrador B	10	0.121
Calibrador C	50	0.456
Calibrador D	200	1.211
Calibrador E	400	1.936
Calibrador F	800	2.875
Control 1	110	0.933
Control 2	376	1.892
Paciente	131	0.982

Limitaciones e Interferencias:

- La prueba no se ve afectada por ictericia (bilirrubina < 600 µmol/L o < 35 mg/dL), hemólisis (Hb < 0.559 mmol/L o < 0.9 g/dL), lipemia (Intralipid < 1200 mg/dL).
- Criterio: Recuperación dentro de ± 10 % del valor inicial.
 - Anticuerpos heterófilos y factores reumatoideos en las muestras pueden interferir con los resultados de la prueba. Los anticuerpos heterófilos en suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas del reactivo, interfiriendo con los inmunoensayos in vitro. Los pacientes expuestos habitualmente a animales o productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y pueden observarse valores anómalos. Puede ser necesaria información adicional para el diagnóstico. Este tipo de muestras no son adecuadas para ser analizadas mediante este ensayo.
 - No hay efecto gancho de dosis alta a concentraciones de IgE de hasta 10000 IU/mL. Se realizaron pruebas in vitro con 26 productos farmacéuticos de uso común.
 - La presencia de autoanticuerpos puede inducir complejos de alto peso molecular (macro IgE) que pueden causar valores altos inesperados de IgE.
 - Los pacientes que han recibido anticuerpos monoclonales de ratón ya sea para el diagnóstico o para la terapia pueden desarrollar HAMA (anticuerpos humanos anti-ratón). Los HAMA pueden producir valores falsamente altos o falsamente bajos en los inmunoensayos que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón. Puede ser necesaria información adicional para el diagnóstico. Las variaciones genéticas o la degradación de la IgE intacta en subunidades pueden afectar a las características de unión de los anticuerpos e influir en el resultado final. Tales muestras normalmente muestran resultados diferentes entre varios sistemas de ensayo debido a la reactividad de los anticuerpos implicados.
 - A efectos de diagnóstico, los resultados deben evaluarse siempre en conjunción con la historia clínica del paciente, el examen clínico y otros hallazgos.

Límites y Rangos.

1,2-500 IU/ml (definido por el límite inferior de detección y el máximo de la curva maestra). La sensibilidad funcional es de 1,2 IU/ml. Los valores por debajo del límite de detección se notifican como < 1,2 IU/ml. Los valores por encima del rango de medición se notifican como > 500 IU/ml (o hasta 500 IU/ml para muestras diluidas 10 veces).

Límite de detección inferior: 1,2 IU/ml.

El límite de detección representa el nivel de analito más bajo que puede distinguirse de cero. Se calcula como el valor situado dos desviaciones estándar por encima del del estándar más bajo (calibrador maestro, estándar 1 + 2 SD, estudio de repetibilidad, n = 21).

Valores Esperados:

Edad	Rango Normal IU/ml
Neonato	<1.4
1-6 Meses	<7.5
7-12 Meses	<13
1-5 Años	<58
6-9 Años	<167
10-15 Años	<202
>16 Años	<97

Datos de Rendimiento Específicos:

A continuación, se ofrecen datos de rendimiento representativos. Los resultados obtenidos en laboratorios individuales pueden diferir.

Precisión Intraensayo:	5.8%
Precisión Interensayo:	6.5%
Precisión interlote:	6.7-7.5%
Sensibilidad analítica:	7.5 IU/ml
Recuperación:	87-97%
Linealidad:	95-125%
Reactividad cruzada:	Sin reactividad cruzada con la inmunoglobulina G
Interferencias:	Sin interferencias con bilirrubina hasta 0,3 mg/ml, hemoglobina hasta 8,0 mg/ml y triglicéridos hasta 5,0 mg/ml
Especificidad clínica:	100%
Sensibilidad clínica:	100%

Comparación de Métodos:

Una comparación del ensayo RJL IgE (y) con el ensayo Roche Elecsys IgE(x) utilizando muestras de suero clínico dio las siguientes correlaciones (IU/ml):

Número de muestras medidas: 188

Regresión lineal:

$$y = 1,011X - 0,879$$

$$r = 0,9789$$

Las concentraciones de las muestras estaban comprendidas entre aprox. 1,5 y 500 IU/ml.

Referencias:

1. Klink M, Cline MG, Halonen M, Burrows B. Problems in defining normal limits for serum IgE. J Allergy Clin Immunol; 85: 440-444 (1990).
2. Kerckhof M, Droste JHJ, de Monchy JGR, Schouten JP, Rijcken B. Distribution of total serum IgE and specific IgE to common aeroallergens by sex and age, and their relationship to each other in a random sample of the Dutch general population aged 20-70 years. Allergy; 51: 770-776 (1996).
3. Kerstjens HAM, Schouten JP, Brand PLP, Schoonbrood DFME, Sterk PJ, Postma DS. Importance of total serum IgE for improvement in airways hyperresponsiveness with inhaled corticosteroids in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med; 151: 360-368 (1995).
4. Omenaas E, Bakke P, Elsayed S, Hanoa R, Gulsvik A. Total and specific serum IgE levels in adults: relationship to sex, age and environmental factors. Clin Exp Allergy; 24: 530-539 (1994).
5. Secord EA, Kleiner GI, Auci DI, Smith-Norowitz T, Chice S, Finkielstein A, Nowakowski M, Fikrig S, Durkin H.G. IgE against HIV proteins in clinically healthy children with HIV disease. J Allergy Clin Immunol; 98:979-984 (1996).
6. Barbee RA, Halonen M, Kaltenborn W, Lebowitz M, Burrows B. A longitudinal study of serum IgE in a community cohort: Correlations with age, sex, smoking, and atopic status. J Allergy Clin Immunol; 79: 919-927 (1987).
7. Elkayam O, Tamir R, Pick AI, Wysesbeek A. Serum IgE concentrations, disease activity, and atopic disorders in systemic lupus erythematosus. Allergy; 50: 94-96 (1995).
8. Yates VM, Kerr REI, Frier K, Cobb SJ, MacKie RM. Early diagnosis of infantile seborrheic dermatitis and atopic dermatitis – total and specific IgE levels. British Journal of Dermatology; 108: 639-645 (1982).
9. Vidal C, Quintela AG, Millán I, Gude F, Cuervas-Mons V. Serum IgE levels in liver cirrhosis. Contrasting results in alcoholic and non-alcoholic patients. Clin Exp Allergy; 24: 540-548 (1994)

