

RIDA qLine[®] Allergy

N.º producto: A6142 Panel 1 (20 alérgenos diferentes)

N.º producto: A6242 Panel 2 (20 alérgenos de inhalación)

N.º producto: A6342 Panel 3 (20 alérgenos alimentarios)

N.º producto: A6442 Panel 4 (20 alérgenos pediátricos)

Este manual también se aplica a los demás paneles específicos del país.

Consulte el certificado adjunto correspondiente que se incluye con cada kit para ver la composición alérgica.



1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. Esta prueba es un inmunoensayo enzimático en una membrana de nitrocelulosa (inmunotransferencia) para la detección cuantitativa de anticuerpos IgE específicos de alérgenos en suero y plasma (citrato) humanos.

2. Resumen y descripción del ensayo

La función del sistema inmunitario consiste en proteger al organismo frente a bacterias, virus y otros microorganismos patógenos. La respuesta de defensa protege al organismo en el primer contacto con los patógenos, pero también proporciona inmunización para una exposición repetida. Todas las reacciones alérgicas van precedidas de un primer contacto sin síntomas, en el que ya se generaron los anticuerpos de clase E específicos (anticuerpos IgE). En un contacto repetido con el alérgeno desencadenante, estos anticuerpos IgE reaccionan contra dicho alérgeno y activan la liberación de mediadores (normalmente a partir de los mastocitos) como histamina, leucotrienos, prostaglandinas, etc., que provocan los síntomas de la alergia. La detección de los anticuerpos IgE específicos en el suero permite identificar los alérgenos desencadenantes en caso de reacciones alérgicas. También es posible detectar las sensibilizaciones existentes que no causan síntomas.

3. Principio del ensayo

Este ensayo se basa en los principios del método de inmunotransferencia. Varios alérgenos se incorporan a la superficie de las membranas de nitrocelulosa, en líneas que se separan en función de la configuración del panel. Los anticuerpos IgE específicos de alérgenos reaccionan ante los alérgenos adecuados, si están presentes en las muestras de los pacientes. En un segundo paso, los anticuerpos contra la IgE humana conjugados con biotina se unen a los anticuerpos incorporados. Durante un tercer paso de incubación, la biotina se une a un conjugado de estreptavidina-peroxidasa. En el último paso de la incubación, la peroxidasa transforma el substrato de tetrametilbenzidina (TMB) incoloro en un producto final de color púrpura azulado. Tras cada incubación individual, un paso de lavado elimina el material no unido. La intensidad del color azul es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos de alérgenos en el suero del paciente. La muestra se evalúa con RIDA qLine[®] Scan (DIV) o un escáner de superficie plana a color 3D común (no de DIV) validado por R-Biopharm en combinación con el software RIDA qLine[®] Soft. Las intensidades del color de las bandas de alérgeno se evalúan cuantitativamente mediante una curva estándar en la membrana que permite determinar las clases RAST (prueba de radioalergoadsorción) o el valor en UI/ml correspondientes.

Curva estándar y control positivo

RIDA qLine® Allergy es una prueba cuantitativa basada en una curva estándar calibrada de acuerdo con el estándar de la OMS. Se aplican 5 estándares a cada tira. Los 5 estándares se corresponden con las clases RAST 1-5, mientras que la clase RAST 6 se extrapola mediante software.

La curva estándar resulta visible y se cumplen los criterios de validez solo si el ensayo se ha realizado correctamente y todos los reactivos funcionan bien. Los criterios de validez de la curva estándar/control de función se cumplen si los 5 estándares son visibles y el software los ha reconocido, el estándar más pequeño alcanza como mínimo una intensidad 10 y la intensidad del estándar 1 es < estándar 2 < estándar 3 < estándar 4 < estándar 5.

El control positivo analiza el sistema en su conjunto. El valor previsto solo puede generarse si las tiras se procesan de forma correcta, el sistema de medición detecta las bandas de manera adecuada y el software realiza el cálculo debidamente. El control positivo debe alcanzar el valor RAST 4 como mínimo para que pueda generarse como válido.

Banda de CCD

La banda de CCD está compuesta por cadenas laterales de carbohidratos purificados que se unen a la membrana de nitrocelulosa. La banda de CCD detecta los anticuerpos IgE específicos contra los determinantes de carbohidratos de reactividad cruzada (CCD) en la muestra del paciente.

El sistema inmunitario genera anticuerpos específicos IgE contra alérgenos genuinos, pero también contra las cadenas laterales de carbohidratos de los alérgenos (anticuerpos IgE contra CCD) de origen vegetal, o procedentes de insectos, moluscos o látex. Estos anticuerpos IgE contra CCD también provocan reacciones cruzadas con proteínas no emparentadas, por lo que se denominan determinantes de carbohidratos de reactividad cruzada (CCD).

Un 25 % aproximadamente de los pacientes con alergia producen anticuerpos IgE contra CCD. No obstante, es muy poco probable que desencadenen síntomas alérgicos, por lo que no se les confiere relevancia clínica.

Estas reacciones cruzadas pueden provocar resultados positivos en sistemas de ensayo *in vitro*, que deben considerarse como positivos falsos. Con el fin de distinguir correctamente entre los resultados positivos genuinos y los positivos falsos, el ensayo debe repetirse si se obtiene un resultado positivo para la banda CCD (\geq RAST 1), y el suero debe bloquearse con un inhibidor CCD (ZA0601) antes del ensayo para evitar la unión con estos CCD en los ensayos *in vitro*.

4. Contenido del envase

Tabla 1: Contenido del envase suficiente para 10 ensayos

Membrane	10 unidades	Membranas del ensayo RIDA qLine® Allergy (membranas de nitrocelulosa), recubiertas con material alérgeno en 20 campos de ensayo y 5 estándares en pocillos de reacción.
Wash 25x	5 ml	Búfer de lavado, concentración 25 veces superior, Tris/NaCl
Antibody	5 ml	Anticuerpos de detección; anticuerpos caprinos contra la IgE humana conjugados con biotina, listos para su uso
Conjugate	5 ml	Conjugado de estreptavidina, estreptavidina conjugada con peroxidasa, listo para su uso
Substrate	5 ml	Substrato; TMB (tetrametilbencidina), listo para su uso

5. Instrucciones de almacenamiento de los reactivos

Las membranas de ensayo deben almacenarse en un lugar fresco, seco y oscuro y conservarse en el envase de aluminio. El kit de ensayo debe almacenarse entre 2-8 °C. El búfer de lavado diluido cuenta con un período de validez máximo de 4 semanas cuando se almacena a 2-8 °C. Debe evitarse la contaminación microbiana. Una vez alcanzada la fecha de caducidad, no es posible garantizar la calidad.

Debe evitarse en todo momento la contaminación del substrato con el conjugado, puesto que provocaría un cambio de color del substrato. Del mismo modo, la exposición directa del substrato a la luz del sol también debe evitarse para prevenir la desnaturalización o cambio de color por autooxidación. Si se ha producido cambio de color, el substrato ya no podrá utilizarse.

6. Reactivos adicionales necesarios, accesorios necesarios

6.1. Reactivos

- Agua destilada o desionizada

6.2. Accesorios

- Mezclador de vórtice
- Probeta (200 ml)
- Micropipeta, 1000 µl
- Portatiras para 10 tiras (membranas de ensayo)

- Recipiente cubierto para incubación a oscuras (sistema de portatiras y recipiente cubierto [= RIDA qLine® Incubation Set; n.º producto ZG2701] que puede adquirirse a través de R-Biopharm AG)
- Agitador orbital (300 RPM, radio orbital de 3 mm; n.º producto: ZG2601)
- RIDA qLine® Scan (n.º producto: ZG1109) más ordenador personal con puerto USB
- Escáner de superficie plana a color 3D validado por R-Biopharm AG (n.º producto: ZG1106) más ordenador personal con puerto USB
- Software RIDA qLine® Soft (n.º producto: Z9995)

7. Medidas de precaución

Solo para diagnóstico *in vitro*.

Esta prueba solo debe llevarla a cabo personal de laboratorio capacitado. Deben respetarse las directrices para el trabajo en laboratorios médicos. Respetar siempre las instrucciones de uso de este ensayo.

No pipetear las muestras ni los reactivos con la boca y evitar el contacto con lesiones de la piel y mucosas. Usar guantes desechables cuando se manipulen las muestras y lavarse las manos después de realizar el ensayo. No fumar, comer ni beber en las áreas en las que se usan las muestras o los reactivos del ensayo.

Los anticuerpos y los búferes de lavado contienen azida de sodio como conservante. Esta sustancia no debe entrar en contacto con la piel o con las mucosas. Se pueden producir azidas metálicas explosivas por contacto con las tuberías de plomo o de cobre.

El substrato contiene peróxido de hidrógeno, así como clorometilisotiazolinona metilisotiazolinona en concentraciones subtóxicas.

Si se observan daños en el envase exterior, deberá comprobarse antes del uso que los componentes individuales no estén dañados. Los componentes del kit no deberán utilizarse si su envase individual está dañado o los frascos tienen pérdidas.

El usuario deberá eliminar de manera adecuada todos los componentes del kit después del uso.

Todos los reactivos y materiales que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas deben tratarse con desinfectantes adecuados o esterilizarse a 121 °C en el autoclave durante por lo menos 1 hora.

8. Obtención y almacenamiento de muestras

Esta prueba se ha diseñado para analizar el suero y el plasma (citrato) humanos. Tras recoger la muestra de sangre, el suero debe separarse de la sangre coagulada con la mayor rapidez posible para evitar la hemólisis. Las muestras deben conservarse en frío o congeladas hasta el momento de realizar el ensayo. Debe evitarse la congelación y descongelación repetidas, así como la contaminación bacteriana del suero. El uso de suero lipémico, hemolítico, icterico u opaco inactivado mediante calor puede dar resultados erróneos.

Tabla 2: Almacenamiento de las muestras

2-8 °C	1 semana
-20 °C	> 1 semana

9. Ejecución de la prueba

9.1. Información general

El intercambio o la combinación de los componentes del kit con otros procedentes de kits con números de lote distintos está permitido.

Los resultados reproducibles dependen en gran medida del cumplimiento de los tiempos de incubación y de las temperaturas, así como de la aplicación del proceso de lavado correcto de las membranas de ensayo.

Todos los componentes del ensayo deben alcanzar la temperatura ambiente (20-25 °C) antes de que comience la prueba.

9.2. Preparación del búfer de lavado

Vierta 5 ml de búfer de lavado concentrado **Wash 25x** en una probeta y llene hasta 125 ml con agua destilada (= búfer de lavado). Disuelva los posibles cristales del concentrado mediante calor (baño maría a 37 °C). Mantenga el búfer de lavado en un envase al que pueda accederse mediante pipetas.

9.3. Primera incubación

Según el número de pruebas que vayan a realizarse, se extraerán del envase las **Membrane** de ensayo necesarias. Los pocillos se colocan en el portamembranas de ensayo para sujetar las tiras durante el proceso de agitación. Cada membrana de ensayo se recubre con 500 µl de búfer de lavado y se agita con un agitador orbital (300 RPM, 3 mm de radio orbital) durante 1 minuto hasta que no aparezcan burbujas. Acto seguido, las **Membrane** de ensayo se vacían golpeándolas suavemente sobre un material absorbente. Después, se llenan con 400 µl de suero del paciente y se incuban durante 30 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C) en el agitador orbital. Hay que asegurarse de que el líquido cubra toda la membrana. Si no es así, puede corregirse cuidadosamente con la punta de una pipeta sin dañar la membrana.

9.4. Lavado

Los pocillos se vacían tras la incubación del suero. Las **Membrane** de ensayo se lavan ahora en tres pasos independientes, cada vez con 400 µl de búfer de lavado y durante 1 minuto en el agitador orbital, en las mismas condiciones que durante la incubación. Seguidamente, vacíe las membranas de ensayo y golpéelas ligeramente sobre un material absorbente.

9.5. Segunda incubación

Pipetee 400 µl de **Antibody** en cada **Membrane** de ensayo. Hay que asegurarse, una vez más, de que el líquido cubra toda la membrana. Después, las **Membrane** de ensayo se incuban durante 45 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C) en el agitador orbital.

9.6. Lavado

Lave según se ha descrito en el punto 9.4.

9.7. Tercera incubación

Pipetee 400 µl de **Conjugate** en cada **Membrane** de ensayo. Hay que asegurarse, una vez más, de que el líquido cubra toda la membrana. Después, las **Membrane** de ensayo se incuban durante 20 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C) en el agitador orbital.

9.8. Lavado

La calidad del resultado depende en gran medida de este paso de lavado. Enjuague cada tira tres veces con 1000 µl de búfer de lavado sobre un fregadero o un recipiente adecuado. Sostenga la tira en ángulo y mueva la pipeta desde la parte superior a la parte inferior de la membrana cuando pipetee el líquido, sin llegar a tocar la membrana. Después, lave las **Membrane** de ensayo en dos pasos por separado, cada vez con 400 µl de búfer de lavado y durante 1 minuto en el agitador orbital, en las mismas condiciones que durante la incubación. Seguidamente, vacíe las membranas de ensayo y golpéelas ligeramente sobre un material absorbente.

9.9. Cuarta incubación

Se aplican 400 µl de **Substrate** a cada **Membrane** de ensayo, de manera que la membrana esté completamente cubierta. Después, las **Membrane** de ensayo se incuban durante 15 minutos a oscuras a temperatura ambiente (20-25 °C) en el agitador orbital.

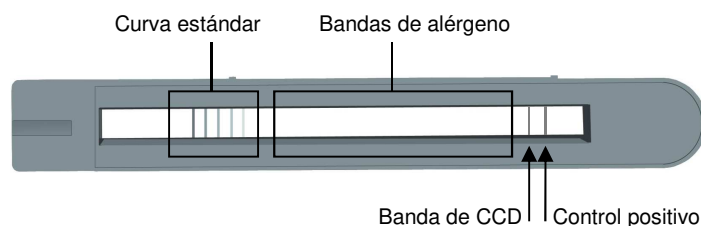
9.10. Lavado

Los pocillos se vacían después de la incubación del substrato. Por último, las **Membrane** de ensayo se lavan primero con 400 µl de búfer de lavado y después con 400 µl de agua destilada, durante 1 minuto cada vez en el agitador orbital (300 RPM, 3 mm de radio orbital), en las mismas condiciones que durante la incubación. Seguidamente, vacíe las membranas de ensayo y golpéelas ligeramente sobre un material absorbente.

El ensayo puede evaluarse después de dejar que la membrana se seque al aire durante 30 minutos, como mínimo, o cuando la membrana esté completamente seca. Recomendamos el uso de un secador de aire frío para agilizar el proceso.

10. Control de calidad, información sobre caducidad de reactivos

El ensayo se realizó correctamente si el fondo ha perdido completamente su color, la curva estándar de cinco bandas diferenciadas es visible y el control positivo cumple con las especificaciones.



Un reactivo opaco o una coloración azulada del substrato antes de añadirlo a la **Membrane** de ensayo puede ser indicativo de que el reactivo ha caducado.

En el caso de que la curva estándar no se diferencie visiblemente, debe comprobarse lo siguiente antes de repetir el ensayo:

- Fecha de caducidad de los reactivos utilizados
- Funcionamiento de los equipos (p. ej., calibración)
- Ejecución correcta de la prueba
- Control visual de los componentes del kit para detectar contaminación o pérdidas; no se deben utilizar soluciones de substrato que se hayan vuelto de color azul.

Si los requisitos no se cumplen nuevamente después de repetir el ensayo, póngase en contacto con el fabricante o el distribuidor local de R-Biopharm.

11. Evaluación e interpretación

11.1. Configuraciones de la membrana del RIDA qLine® Allergy Panel 1, 2, 3 y 4

Panel 1 20 alérgenos	Panel 2 20 alérgenos	Panel 3 20 alérgenos	Panel 4 20 alérgenos
Estándar 5	Estándar 5	Estándar 5	Estándar 5
Estándar 4	Estándar 4	Estándar 4	Estándar 4
Estándar 3	Estándar 3	Estándar 3	Estándar 3
Estándar 2	Estándar 2	Estándar 2	Estándar 2
Estándar 1	Estándar 1	Estándar 1	Estándar 1
Derm. pteronyssinus	Derm. pteronyssinus	Avellana	Derm. pteronyssinus
Derm. farinae	Derm. farinae	Cacahuete	Derm. farinae
Aliso	Aliso	Nuez	Abedul
Abedul	Abedul	Almendra	Mezcla de hierba
Avellano	Avellano	Leche	Gato
Mezcla de hierba	Roble	Clara de huevo	Perro
Centeno (polen)	Mezcla de hierba	Yema de huevo	Alternaria alternata
Artemisia (Ajenjo común)	Centeno (polen)	Caseína	Leche
Llantén menor	Artemisia (Ajenjo común)	Patata	αLactoalbúmina
Gato	Llantén menor	Apio	Beta-lactoglobulina
Caballo	Gato	Zanahoria	Caseína
Perro	Caballo	Tomate	Clara de huevo
Alternaria alternata	Perro	Bacalao	Yema de huevo
Clara de huevo	Conejillo de indias	Cangrejo	Albúmina de suero bovino
Leche	Hámster	Naranja	Semilla de soja
Cacahuete	Conejo	Manzana	Zanahoria
Avellana	Penicillium notatum	Harina de trigo	Patata
Zanahoria	Cladospor. herbarum	Harina de centeno	Harina de trigo
Harina de trigo	Aspergillus fumigatus	Sésamo	Avellana
Semilla de soja	Alternaria alternata	Semilla de soja	Cacahuete
CCD	CCD	CCD	CCD
PosCo	PosCo	PosCo	PosCo

Las configuraciones de la membrana para los demás paneles específicos de país para los que este prospecto es aplicable están disponibles en R-Biopharm AG como un suplemento para cada panel.

11.2. Evaluación con RIDA qLine® Scan o un escáner de superficie plana a color 3D y el software RIDA qLine® Soft.

A tal fin, la membrana o membranas se colocan dentro del retenedor y se miden con uno de los dispositivos de medición mencionados y el software adecuado. El valor en UI/ml se calcula automáticamente a partir de los valores medidos y se asigna a las clases RAST 0-6. La evaluación se basa en la curva estándar contenida en cada tira. La intensidad de cada línea de alérgeno individual está relacionada con esta curva estándar.

Consulte el manual correspondiente para obtener información sobre cómo utilizar los distintos dispositivos de medición para la evaluación.

Hay que asegurarse de que se hayan asignado los ensayos correctos a los paneles de alergia que van a medirse.

Tabla 3: Conexión entre la clase determinada y el contenido de IgE específica del alérgeno en el suero del paciente

UI/ml	Clase	Contenido de IgE específica del alérgeno
0,00-0,34	0 (0,0-0,9)	no es detectable ni hay trazas
0,35-0,69	1 (1,0-1,9)	bajo
0,70-3,49	2 (2,0-2,9)	elevado
3,50-17,49	3 (3,0-3,9)	elevado significativamente
17,50-49,99	4 (4,0-4,9)	alto
50,00-99,99	5 (5,0-5,9)	muy alto
≥ 100,00	6	extremadamente alto

11.3. Documentación

Los datos medidos (fotografía de la membrana de ensayo y la evaluación) se guardan en el disco duro del PC en un directorio predeterminado. Esta base de datos se utiliza para la gestión de los datos del paciente. Puede imprimirse una hoja de datos de cada suero analizado mediante cualquier impresora estándar conectada al PC.

12. Limitaciones del método

Las concentraciones de IgE determinadas con este sistema de ensayo proporcionan información sobre el nivel de sensibilización del paciente en relación con los alérgenos individuales o las mezclas de alérgenos comprobados.

No es posible deducir una correlación entre el nivel de una concentración de IgE y la aparición o la intensidad de los síntomas clínicos a partir de esta información. Los resultados obtenidos deben interpretarse siempre en combinación con el cuadro clínico completo.

Debido a la falta de estándares nacionales e internacionales, y a las posibles diferencias entre las soluciones para las pruebas de punción epidérmica y los extractos de alérgenos que se utilizan en los ensayos *in vitro*, puede que haya discrepancias entre los resultados de los ensayos *in vivo* e *in vitro*. Además, los valores cuantitativos de IgE pueden generar negativos falsos u ofrecer mediciones demasiado bajas justo después de la aparición de reacciones anafilácticas. El ensayo debe repetirse después de 3 o 4 semanas si existen discrepancias entre los resultados *in vivo* e *in vitro*. Si las discrepancias persisten, un alergólogo habrá de realizar más ensayos *in vivo*, como por ejemplo pruebas de provocación. Las pruebas de provocación pueden desencadenar un choque anafiláctico.

Los resultados positivos falsos de la prueba pueden deberse a la reacción cruzada del alérgeno analizado con otros alérgenos.

13. Características de rendimiento

13.1. Precisión intraensayo

La precisión intraensayo se determinó analizando dos sueros (suero 1 y 2) con 20 tiras reactivas cada uno, y un suero (suero 3) con 10 tiras reactivas de un mismo lote.

Se determinaron los valores medios (VM), las desviaciones estándar (DE) y los coeficientes de variación (CV) para cada alérgeno individualmente y se resumieron en la tabla 4. Se aceptaron valores de CV del 15 % para la precisión intraensayo de todos los alérgenos con señales entre RAST 1 y RAST 2. Se aceptaron valores de CV del 10 % para los alérgenos con señales \geq RAST 2. No se calculó el CV de ningún alérgeno con señales negativas ($<$ RAST 1).

Tabla 4: Precisión intraensayo para los 43 alérgenos de los paneles estándar 1-4

Alérgeno	Suero 1			Suero 2			Suero 3		
	VM (RAST)	DE	CV (%)	VM (RAST)	DE	CV (%)	VM (RAST)	DE	CV (%)
Aliso	4,2	0,1	2,9	5,4	0,1	2,6	5,9	0,1	2,1
Almendra	2,8	0,1	3,4	4,2	0,2	4,4	1,7	0,1	5,1
Alternaria alternata	0,3	0,0	-	0,4	0,1	-	3,5	0,1	2,7
Manzana	2,8	0,1	5,0	2,8	0,2	5,3	2,2	0,1	5,2
Aspergillus fumigatus	0,3	0,0	-	0,4	0,1	-	1,9	0,1	7,8
Abedul	5,5	0,1	2,0	6,0	0,0	0,0	1,7	0,1	4,9
Albúmina de suero bovino	0,2	0,1	-	0,2	0,1	-	5,2	0,1	2,2
Zanahoria	3,2	0,1	2,3	1,9	0,1	7,8	0,6	0,0	-
Caseína	0,1	0,1	-	0,4	0,1	-	5,2	0,1	2,2
Gato	2,5	0,1	4,3	4,4	0,1	2,7	6,0	0,1	1,2
Apio	3,4	0,1	3,7	2,4	0,2	6,5	3,4	0,1	3,5
Cladosporium herbarum	0,3	0,0	-	0,4	0,1	-	3,7	0,1	2,6
Bacalao	0,1	0,0	-	0,3	0,1	-	5,2	0,1	2,1
Cangrejo	2,4	0,1	4,1	4,0	0,1	3,3	2,2	0,1	4,8
D. farinae	2,1	0,1	2,6	6,0	0,0	0,0	2,9	0,1	3,8
D. pteronyssinus	1,4	0,1	7,1	6,0	0,0	0,0	2,2	0,1	2,8
Perro	0,3	0,0	-	6,0	0,0	0,8	4,1	0,1	3,1
Clara de huevo	0,4	0,1	-	1,0	0,1	-	3,5	0,1	2,8
Yema de huevo	0,1	0,1	-	0,5	0,1	-	3,2	0,1	2,9
Mezcla de hierba	5,9	0,1	2,0	5,5	0,2	3,4	4,1	0,3	8,3
Conejillo de indias	0,3	0,0	-	1,3	0,1	8,8	0,7	0,1	-
Hámster	0,6	0,1	-	1,8	0,1	6,9	0,7	0,1	-
Avellano	4,5	0,2	4,4	5,7	0,1	2,2	5,7	0,2	2,7
Avellana	3,0	0,1	2,6	5,1	0,1	2,7	3,8	0,1	1,9
Caballo	0,3	0,1	-	0,3	0,1	-	0,3	0,1	-
Leche	0,5	0,1	-	0,5	0,1	-	5,2	0,1	2,7
Ajenjo común	2,5	0,1	3,9	4,3	0,1	3,3	1,4	0,2	13,8
Roble	4,7	0,1	2,8	5,9	0,1	1,4	5,1	0,2	3,7

Naranja	2,3	0,1	5,1	1,2	0,1	11,2	1,2	0,1	10,7
Cacahuete	1,3	0,1	9,4	1,5	0,2	13,3	3,4	0,1	2,7
Penicillium notatum	1,1	0,1	6,7	1,4	0,1	7,9	4,0	0,1	2,4
Plantago lanceolata	2,8	0,1	3,7	4,5	0,1	3,0	2,0	0,1	5,1
Patata	3,4	0,2	4,6	2,2	0,2	8,5	1,7	0,2	9,1
Conejo	1,1	0,1	6,6	1,9	0,1	3,5	1,5	0,2	11,0
Centeno (polen)	5,5	0,2	3,9	4,4	0,2	4,5	5,2	0,2	3,9
Harina de centeno	2,7	0,1	4,1	2,8	0,2	6,8	2,9	0,1	4,7
Sésamo	3,0	0,1	4,0	2,9	0,2	6,1	2,7	0,1	5,5
Semilla de soja	0,2	0,1	-	0,4	0,1	-	4,7	0,1	1,6
Tomate	3,7	0,1	2,5	2,3	0,1	6,0	2,7	0,1	4,3
Nuez	0,9	0,1	-	3,7	0,2	4,5	0,2	0,0	-
Harina de trigo	2,8	0,1	3,9	2,5	0,1	4,5	5,5	0,1	2,5
Alfa-lactoalbúmina	0,2	0,1	-	0,4	0,1	-	2,7	0,2	7,0
Beta-lactoglobulina	0,3	0,1	-	0,8	0,1	-	4,5	0,2	4,0
CCD	2,2	0,1	4,1	0,3	0,1	-	3,1	0,1	4,3

13.2. Precisión interensayo

Para determinar la precisión interensayo se analizaron 3 sueros por duplicado durante 10 días consecutivos. El experimento corrió a cargo de dos personas diferentes.

Se determinaron los valores medios (VM), las desviaciones estándar (DE) y los coeficientes de variación (CV) para cada alérgeno individualmente y se resumieron en la tabla 5. Se aceptaron valores de CV del 20 % para la precisión interensayo de todos los alérgenos con señales entre RAST 1 y RAST 2. Se aceptaron valores de CV del 15 % para los alérgenos con señales \geq RAST 2. No se calculó el CV de ningún alérgeno con señales negativas ($<$ RAST 1).

Tabla 5: Precisión interensayo

Alérgeno	Suero 1			Suero 2			Suero 3		
	VM (RAST)	DE	CV (%)	VM (RAST)	DE	CV (%)	VM (RAST)	DE	CV (%)
Aliso	5,4	0,2	3,6	2,2	0,2	9,1	5,9	0,1	2,0
Almendra	1,6	0,2	13,5	1,1	0,2	16,1	1,4	0,2	15,2
Alternaria alternata	2,4	0,2	8,4	1,7	0,2	13,5	3,5	0,2	6,3
Manzana	2,2	0,1	6,4	0,2	0,1	-	3,3	0,3	7,7
Aspergillus fumigatus	0,2	0,1	-	0,2	0,1	-	2,0	0,2	10,4
Abedul	1,0	0,2	-	2,7	0,3	9,8	5,9	0,1	1,4
Albúmina de suero bovino	4,9	0,2	3,7	2,0	0,3	14,4	0,1	0,1	-
Zanahoria	2,4	0,2	7,7	0,4	0,1	-	0,9	0,1	-
Caseína	5,1	0,2	3,6	0,1	0,1	-	0,3	0,1	-
Gato	4,4	0,2	3,7	2,9	0,2	7,4	5,9	0,2	2,7
Apio	3,5	0,2	5,0	0,8	0,1	-	2,2	0,2	7,1
Cladosporium herbarum	0,5	0,1	-	0,4	0,1	-	3,8	0,2	4,7
Bacalao	5,2	0,2	3,1	1,3	0,3	26,0	0,4	0,1	-
Cangrejo	2,9	0,2	6,6	2,6	0,2	6,4	1,4	0,3	18,3
D. farinae	4,6	0,2	4,9	5,1	0,3	5,5	2,3	0,2	7,1
D. pteronyssinus	1,6	0,2	14,5	5,4	0,2	3,2	1,5	0,2	14,1
Perro	0,7	0,1	-	0,3	0,1	-	3,8	0,2	4,8
Clara de huevo	3,5	0,1	4,2	0,2	0,0	-	0,5	0,1	-
Yema de huevo	3,3	0,2	4,8	0,1	0,0	-	0,2	0,1	-
Mezcla de hierba	4,9	0,3	5,3	3,1	0,2	5,3	5,9	0,1	1,6
Conejillo de indias	2,3*	0,3	10,8	0,4	0,1	-	0,5	0,1	-
Hámster	1,8	0,2	11,2	0,4	0,1	-	0,6	0,1	-
Avellano	5,0	0,2	4,5	2,0	0,2	11,8	5,6	0,2	3,8
Avellana	3,8	0,2	5,1	3,2	0,2	7,2	3,7	0,2	5,4
Caballo	1,4	0,2	15,2	0,2	0,1	-	0,3	0,1	-
Leche	5,3	0,2	4,3	0,1	0,1	-	0,3	0,1	-
Ajenjo común	2,7	0,4	13,6	0,3	0,1	-	1,1	0,3	22,9
Roble	3,9	0,2	5,1	0,9	0,1	-	4,4	0,3	6,4
Naranja	1,2	0,1	10,2	0,2	0,1	-	0,8	0,1	-
Cacahuete	3,7	0,2	4,9	0,3	0,1	-	1,8	0,2	11,8
Penicillium notatum	1,0	0,2	-	1,5	0,2	10,5	4,0	0,2	5,4

Plantago lanceolata	2,6	0,3	10,2	0,7	0,1	-	1,7	0,3	15,1
Patata	1,6	0,3	18,9	0,7	0,1	-	1,5	0,2	12,9
Conejo	1,3	0,2	12,2	0,5	0,1	-	0,6	0,1	-
Centeno (polen)	5,8	0,2	4,2	2,0	0,3	13,7	4,8	0,4	7,6
Harina de centeno	2,9	0,2	6,3	1,0	0,2	14,8	3,3	0,1	3,9
Sésamo	2,7	0,2	8,5	1,1	0,2	16,9	3,0	0,2	5,9
Semilla de soja	4,9	0,2	3,8	0,3	0,1	-	2,5	0,3	12,5
Tomate	2,7	0,2	6,9	0,8	0,1	-	1,3	0,3	19,6
Nuez	0,3	0,1	-	1,0	0,2	19,1	0,2	0,1	-
Harina de trigo	5,6	0,2	3,3	0,7	0,1	-	2,1	0,1	5,2
Alfa-lactoalbúmina	2,6	0,4	15,7	0,0	0,0	-	0,2	0,1	-
Beta-lactoglobulina	4,7	0,2	4,7	0,1	0,1	-	0,2	0,1	-
CCD	0,4	0,1	-	0,6	0,1	-	3,2	0,2	5,5

13.3. Comparación con un sistema de referencia cuantitativo para IgE *in vitro*

Con el fin de determinar la concordancia entre RIDA qLine® Allergy y un sistema de referencia para IgE cuantitativo (Phadia ImmunoCap, Thermo Scientific, EE. UU.), se utilizaron ambos sistemas de ensayo para analizar 50 sueros para 42 alérgenos en RIDA qLine® Allergy Standard Panel 1-4. Se compararon las clases RAST resultantes de ambos sistemas de ensayo. (Ver la tabla 6). Una diferencia de $\Delta RAST \leq 1$ entre los sistemas de ensayos se consideró concordante.

Tabla 6: Comparación del sistema de referencia para IgE

	Δ qLine/sistema de referencia para IgE
Concordancia ($\Delta \leq 1$ RAST)	1904
Discrepancia ($\Delta > 1$ RAST)	196
Muestras en total	2100

% de concordancia	90,7 %
% de discrepancia	9,3 %

13.4. Sustancias interferentes

Se analizó el suero de los pacientes con presunta afección alérgica a fin de identificar las sustancias interferentes en muestras de suero humano. Se observaron sustancias potencialmente interferentes en concentraciones que superaban el nivel fisiológico en dos muestras de suero. Se realizó el ensayo RIDA qLine® Allergy en estas muestras.

Los resultados indican que el tratamiento con Omalizumab puede provocar valores reducidos o negativos falsos.

Debido a que es imposible excluir la posibilidad de interferencias a partir de los triglicéridos del suero, los sueros lipémicos no deben utilizarse para el análisis (ver también la sección 8).

Tabla 7: Sustancias con potencial para interferir en RIDA qLine® Allergy

Sustancia	Concentración en suero final	Suero 1		Suero 2	
		Número de alérgenos	$\Delta RAST \geq 1$	Número de alérgenos	$\Delta RAST \geq 1$
IgG (humana no específica)	20 mg/ml	43	1	43	1
Cetirizina	7,7 μ mol/l	43	0	43	0
Loratadina	0,78 μ mol/l	43	0	43	0
Desloratadina	0,97 μ mol/l	43	0	43	0
Omalizumab	75 μ g/ml	43	10	43	7
Hemoglobina	2 mg/ml	43	0	43	0
Triglicéridos	32,75 mg/ml	43	4	43	0
Bilirrubina	200 μ g/ml	43	0	43	0
Colesterol	5 mg/ml	43	1	43	0

Referencias bibliográficas

- Kjellman, N.I.M.: Prediction and prevention of atopic allergy, *Allergy* 37, 463 - 473 (1982)
- Debelic, M.: Die klinische Bedeutung der Bestimmung von Serum-Gesamt IgE und spezifischem IgE für die Diagnostik und Verlaufsbeobachtung allergischer Krankheitsbilder [The clinical importance of determining total serum IgE and specific IgE in the diagnosis and monitoring of allergenic clinical pictures]. *Therapiewoche* 29, 2280 - 2295 (1979)
- Urbanek, R.: Papier-Radio-Immuno-Sorbent-Test (PRIST) - IgE-Spiegel bei nicht allergischen und allergischen Kindern, [Paper disc Radio Immuno Sorbent Test (PRIST) - IgE levels for non-allergic and allergic children] *Monatsschrift Kinderheilkunde* 125, 583 - 585 (1977)
- Kjellman, N.I.M., et al.: Serum IgE levels in healthy children quantified by a Sandwich technique (PRIST), *Clinical Allergy* 6, 51 - 59 (1976)
- Turner, K.J.: IgE globulins and immunity. *Medical Journal of Australia* 2, 846 (1974)
- Johansson, S.G.O.: Raised levels of a new immunoglobulin class (IgND) in asthma. *Lancet* II, 951 - 953 (1967)
- Ishizaka, K., Ishizaka, T., Hornbook, M.M.: Physico-chemical properties of human reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. *Journal of Immunol* 97, 75 (1966)
- Bennich, H.H., et al.: Immunoglobulin E, a new class of human immunoglobulin. *Bulletin World Health Organisation* 38, 151 (1964)