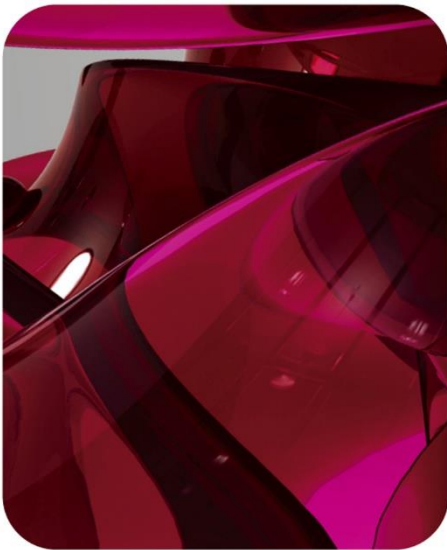




AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUBLOTS®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MANUAL DE INSTRUCCIONES

AESKUBLOTS® Food Intolerance



Manual de instrucciones

Índice

1	Utilización	1
2	Aplicaciones clínicas y principio del análisis.....	1
3	Contenido del kit	2
4	Almacenamiento y caducidad	2
5	Precauciones de uso e instrucciones generales	3
6	Obtención, manipulación y almacenamiento de las muestras	4
7	Procedimiento del ensayo.....	4
8	Interpretación cuantitativa	7
9	Datos técnicos	8
10	Datos de funcionamiento	8
11	Bibliografía.....	9





1 Utilización

AESKUBLOTS® Food Intolerance es un enzimoimmunoensayo de membrana para la detección cuantitativa de anticuerpos de IgG₄ específica frente a alimentos en suero o plasma humano. Los antígenos se sitúan en forma de líneas paralelas en posiciones exactamente definidas sobre la membrana de nitrocelulosa.

El ensayo permite realizar un amplio número de pruebas en paralelo durante un breve periodo de tiempo. El ensayo se emplea para respaldar el proceso de diagnóstico en pacientes con posible intolerancia alimentaria.

Este producto se ha diseñado exclusivamente para DIAGNÓSTICO IN VITRO. Como consecuencia, el kit sólo puede ser utilizado por personal con la cualificación apropiada y formación especial sobre los métodos de diagnóstico in vitro.

2 Aplicaciones clínicas y principio del análisis

AESKUBLOTS® Food Intolerance es un inmunoensayo *in vitro* para anticuerpos de IgG₄ específica frente a alimentos en plasma o suero. La prueba se emplea para respaldar el proceso de diagnóstico en pacientes con posible intolerancia alimentaria. El ensayo permite realizar un amplio número de pruebas en paralelo durante un breve periodo de tiempo. Deben realizarlo profesionales cualificados familiarizados con los métodos de diagnóstico *in vitro*. En las pruebas de diagnóstico para alergias alimentarias, es habitual interpretar las mediciones dentro de límites rigurosamente definidos. Una reacción dada a un nivel específico de sensibilización es un efecto muy diferenciado en cada paciente, por lo que no se puede fijar dentro de límites precisos.

Nota AESKUBLOTS® Food Intolerance se utiliza para analizar alimentos que permiten predecir posibles reacciones cruzadas. Un factor que se debe tener en cuenta a la hora de evaluar los resultados, decidir si se realizarán más exámenes diagnósticos y asesorar al paciente.

Principio del análisis

Los extractos de alimentos se aplican en forma de líneas sobre una membrana de nitrocelulosa. Las tiras de membrana con alimentos específicos en posiciones exactamente definidas se incuban en muestras de suero o plasma diluidas 1:20. Los anticuerpos del paciente, si están presentes en la muestra, se unen a las proteínas del alimento. La fracción no unida es eliminada por lavado en el paso siguiente. Después, se incuban inmunoglobulinas anti-humanas IgG₄ conjugadas con peroxidasa de rábano picante, que reaccionan con el complejo antígeno-anticuerpo de las muestras. El conjugado no unido se elimina por lavado en el paso siguiente. Tras la adición del sustrato TMB, una reacción enzimática convierte el conjugado en un precipitado azul. La reacción se detiene mediante agua destilada.



3 Contenido del kit

PARA SER RECONSTITUIDO				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Tampón de lavado (20x)	1 x 50 ml	blanco	incoloro	Concentrado 20 veces para preparación de 1 l tampón Tris, pH 8,0 ± 0,2
LISTO PARA EL USO				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Conjugado, IgG ₄	1 x 15 ml	amarillo	incoloro	Inmunoglobulina anti-humana G ₄ (IgG ₄) conjugada con peroxidasa de rábano picante
Sustrato TMB	1 x 15 ml	negro	incoloro	TMB/H ₂ O ₂ estabilizada
Tiras de membrana	24 tiras	véase certificado	N/A	Extractos de alimentos recubiertos (véase certificado)
Pinzas, cinta adhesiva de doble cara	1 por cada kit	N/A	N/A	N/A
Bandeja de incubadora	3 por cada kit	N/A	N/A	N/A
MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO				
Cilindro de 1000 ml. Para manipulación manual se requieren, además, los siguientes elementos: plataforma de agitación, pipetas de precisión digital (100, 1000 µl). Nuestras pruebas se han diseñado para uso con agua destilada, de acuerdo con la definición de las farmacopeas de Estados Unidos (USP 26 - NF 21) y Europa (Eur.Ph. 4.ª ed.).				

4 Almacenamiento y caducidad

Mantenga todos los reactivos y tiras de membrana a 2-8 °C/35-46 °F en sus recipientes originales. Una vez preparadas, las soluciones de reconstitución serán estables a 2-8 °C/35-46 °F durante al menos cuatro/seis semanas. Los reactivos y las tiras deberán utilizarse antes de la fecha de caducidad indicada en cada componente. No utilice los componentes una vez superada la fecha de caducidad. Evite la exposición intensa a la luz de la solución TMB.



5 Precauciones de uso e instrucciones generales

5.1 Datos de riesgo para la salud

Aunque este producto no se considera especialmente tóxico ni peligroso en las condiciones de uso previsto, siga estas recomendaciones para garantizar un nivel de seguridad óptimo:

Recomendaciones y precauciones

Este kit incluye componentes potencialmente peligrosos. Aunque los reactivos del kit no están clasificados como irritantes para los ojos o la piel, se recomienda evitar el contacto con los ojos y la piel, y llevar guantes desechables.

El sustrato contiene kathon (1% v/v) como conservante. No se debe ingerir ni permitir que entre en contacto con la piel ni la membrana mucosa.

Está prohibido fumar, comer y beber mientras se manipula el kit. La pipeta no se debe llevar a la boca.

Manipule las muestras del paciente como si existiera riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas y siguiendo los requisitos de su país.

5.2 Instrucciones generales de uso

A fin de diferenciar los distintos análisis **AESKUBLOTS®** Food Intolerance disponibles, se aplica una codificación por color mediante dos líneas de color encima de la línea de referencia de las tiras. La línea superior define el grupo de productos, mientras la línea verde indica la intolerancia alimentaria. La línea inferior indica el tipo de análisis. Encontrará el código de color completo y la composición del alimento de cada análisis en el certificado específico de lote del análisis.

En caso de que observe datos incorrectos en la información del producto, incluidas las etiquetas, póngase en contacto con el fabricante o proveedor del producto.

Los tampones de lavado se pueden intercambiar entre lotes y kits de análisis. Los componentes restantes son específicos de cada kit de análisis y no se deben intercambiar. No intercambie componentes de reactivo con los ensayos de diagnóstico **AESKUBLOTS®** para enfermedades autoinmunitarias, alergias o Borrelia.

No utilice recipientes de poliestireno para manipular el conjugado.

Permita que todos los componentes alcancen la temperatura ambiente (20-32 °C/68-89,6 °F) antes de utilizarlos, mézclelos bien y siga el esquema de temperatura de incubación recomendado para conseguir un rendimiento óptimo.

No exponga nunca los componentes a temperaturas superiores a los 37 °C/98,6 °F.

Pipetee siempre la solución de sustrato con puntas completamente nuevas. Proteja la solución de sustrato de la luz. No pipetee nunca el conjugado con puntas utilizadas anteriormente con otros reactivos.

Ningún diagnóstico clínico concluyente se debe basar exclusivamente en los resultados de un solo procedimiento de diagnóstico. Además de la determinación *in vitro* de IgG₄ específica frente a alimentos, se debe realizar una anamnesis completa y se deben investigar los distintos síntomas. La reacción es diferente en cada paciente. Por este motivo, el hecho de que el análisis proporcione resultados idénticos no debe conducir automáticamente al mismo diagnóstico. Diversos extractos de alimentos con estructuras moleculares o epítomos similares pueden desencadenar reacciones cruzadas débiles e intensas que siempre se deben tener en cuenta. Ocasionalmente, también se pueden obtener resultados negativos *in vitro* en pacientes cuyos síntomas están claramente correlacionados con el contacto con determinados alimentos. La sensibilización a otros alimentos no incluidos en el análisis Food Intolerance no se puede descartar. Los pacientes con síntomas clínicos y reacciones de



intolerancia alimentaria de clase 0 a los alimentos respectivos se deben remitir a un especialista para realizar pruebas adicionales. La capacidad de unión de los anticuerpos de IgG₄ específica varía en función del alimento en cuestión, De ahí que clases idénticas de distintos alimentos no necesariamente se correspondan con el mismo contenido de IgG₄ específica. Para obtener unos resultados fiables y reproducibles, el análisis se debe realizar de acuerdo con las instrucciones metodológicas y las buenas prácticas de laboratorio.

Los resultados obtenidos con **AESKUBLOTS**[®] Food Intolerance no necesariamente están correlacionados con títulos de anticuerpos de IgG₄ específica obtenidos mediante otras metodologías.

6 Obtención, manipulación y almacenamiento de las muestras

Deben utilizarse preferentemente muestras de suero o plasma recién extraídas. La extracción de sangre debe cumplir los requisitos de protocolo de su país. No deben utilizarse muestras ictericas, lipémicas, hemolizadas ni contaminadas con bacterias. Las muestras de suero o plasma con partículas se deben limpiar mediante centrifugación a baja velocidad (<1000 x g). Las muestras de sangre deben recogerse en tubos limpios, secos y vacíos.

Tras la separación, las muestras han de utilizarse durante las primeras 8 horas. Como alternativa, las muestras deberían conservarse en viales herméticamente cerrados a 2-8 °C/35-46 °F durante un máximo de 14 días o congelados a -20 °C/-4 °F durante periodos más prolongados. No utilice muestras inactivadas térmicamente. (Thomas: Labor und Diagnose; Directrices del CLSI GP44-A4)

7 Procedimiento del ensayo

7.1 Preparativos antes de comenzar

Confirme que no se hayan formado cristales salinos en el concentrado de tampón de lavado. En caso de que esto ocurra, caliente ligeramente el concentrado (basta con utilizar temperatura ambiente) para disolver los cristales.

Diluya tampón de lavado concentrado 1:20 con agua destilada (p. ej., 950 ml de agua destilada más 50 ml de concentrado de tampón de lavado) para obtener un tampón de lavado listo para usar.

7.2 Pasos del análisis

Notas importantes:

Siga exactamente este protocolo. Asegúrese de que los dos componentes mencionados en el protocolo se agregan a la bandeja en los pasos 6, 9 y 12.

No permita que la tira se seque durante los pasos de incubación.

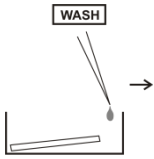
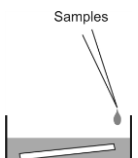
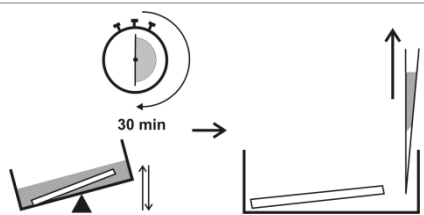
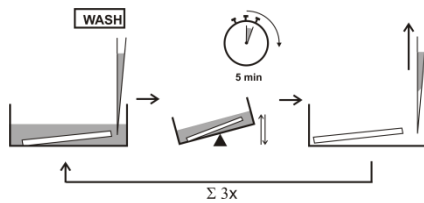
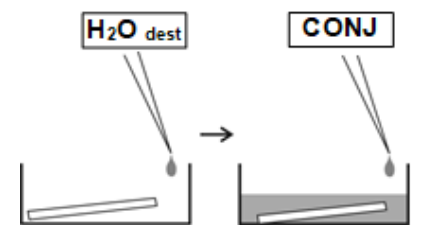
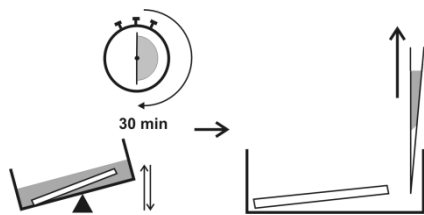
No toque la tira con los dedos; use las pinzas.

Retire por completo las muestras diluidas tras la incubación de la tira a fin de evitar su arrastre.

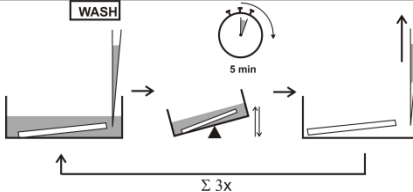
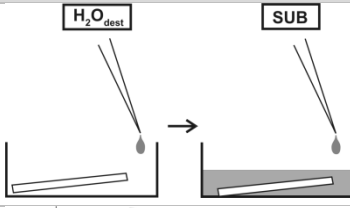
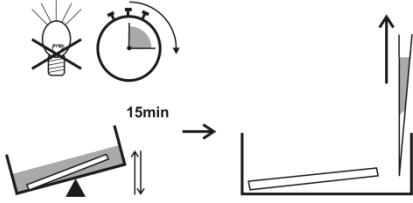
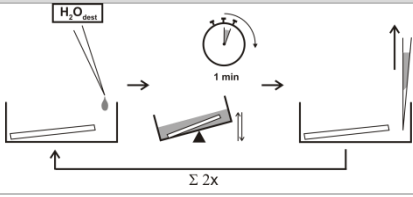
Agite continuamente la tira durante los pasos de incubación.

Dispense tampón de lavado, conjugado y sustrato directamente al diluyente (LAVADO o agua) en la bandeja de incubación. No permita que fluya sobre la tira.



Paso	Descripción
1.	Asegúrese de que los preparativos del paso 7.1 (arriba) se han llevado a cabo antes del comienzo del análisis.
2.	 <p>Sitúe la tira en la orientación correcta dentro de la bandeja de incubación (línea de referencia y codificación por color hacia arriba). Coloque 1425 µl de tampón de lavado en la bandeja de incubación.</p>
CONTROLES y MUESTRAS	
3.	 <p>Pipetee 75 µl de muestra en el interior de las bandejas de incubación designadas con tampón de lavado.</p>
4.	 <p>Incube durante 30 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F con agitación. A continuación, retire la muestra por completo.</p>
5.	 <p>Lave tres veces durante 5 minutos con 1,8 ml de tampón de lavado y agitación. Retire el tampón de lavado después de cada paso de lavado.</p>
CONJUGADO	
6.	 <p>Pipetee 1050 µl de H₂O destilada y 450 µl de conjugado en cada bandeja de incubación con tira.</p>
7.	 <p>Incube durante 30 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F con agitación. Retire el conjugado.</p>



8.		Lave tres veces durante 5 minutos con 1,8 ml de tampón de lavado y agitación. Retire el tampón de lavado después de cada paso de lavado.
SUSTRATO		
9.		Pipetee 1050 µl de H ₂ O destilada y 450 µl de sustrato en cada bandeja de incubación con tira.
10.		Incube durante 15 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F con agitación y evite que reciba luz intensa. Retire el sustrato.
PARO		
11.		Pipetee 2 ml de H ₂ O destilada en cada bandeja de incubación con tira. Incube durante 1 minuto con agitación. Extraiga el H ₂ O destilada. Repita este paso una vez.
12.	Transfiera inmediatamente las tiras húmedas al lector.	

Las pruebas **AESKUBLOTS**[®] Food Intolerance también se pueden procesar en el analizador para inmunoensayos lineales **HELIA**[®].

Preparación de reactivos para **HELIA**: Diluya 1 parte del concentrado de tampón de lavado (LAVADO) con 19 partes de agua ultrapura (por ejemplo, 50 ml de concentrado de tampón de lavado y 950 ml de agua ultrapura) para obtener un tampón de lavado listo para usar. Los reactivos restantes están preparados para su uso una vez procesados en **HELIA**[®]. Para obtener información detallada sobre la prueba en **HELIA**[®], consulte el manual de instrucciones de **HELIA**[®].



8 Interpretación cuantitativa

8.1 Análisis

El análisis de las tiras se lleva a cabo mediante el software AESKU.SCAN versión 3.0 o superior. Consulte también las instrucciones de uso de AESKU.SCAN.

No se recomienda la interpretación visual de los resultados de prueba.

Los resultados del análisis se pueden considerar válidos si:

- Los controles funcionales son visibles.
- Los estándares son visibles cada vez con mayor intensidad entre los estándares 1 al 3.
- El control negativo es < estándar 1

En caso de que los valores de los controles no se ajusten a los criterios, el análisis se considerará no válido y deberá repetirse.

Evalúe las tiras de acuerdo con las instrucciones de uso del software AESKU.SCAN.

El análisis de resultados cuantitativos se lleva a cabo mediante la comparación de intensidades de color de los alimentos/mezclas de alimentos específicas con la intensidad de color de los estándares.

Los resultados se analizan automáticamente mediante un analizador para inmunoensayos lineales HELIA®. Los resultados se pueden determinar en kU_A/l y por clase.

Correlación entre una clase de intolerancia alimentaria y la IgG₄ específica frente a alimentos (tabla 1)

Clase	kU _A /l	Resultado
0	< 0,35	negativo, sin importancia clínica
1 2	≥ 0,35 - < 0,7 ≥ 0,7 - < 3,5	baja concentración de IgG ₄ específica frente a alimentos
3 4	≥ 3,5 - < 17,5 ≥ 17,5 - < 50	concentración moderada de IgG ₄ específica frente a alimentos
5 6	≥ 50 - < 100 ≥ 100	alta concentración de IgG ₄ específicas frente a alimentos

Será necesario comprobar los siguientes problemas técnicos: fechas de caducidad de los reactivos (preparados), condiciones de almacenamiento, pipetas, equipo, condiciones de incubación y métodos de lavado.

Si al analizar las muestras se obtuvieron valores anómalos, se produjo algún tipo de desviación o los criterios de validación no se cumplieron por motivos fuera de la responsabilidad del técnico, póngase en contacto con el fabricante o el proveedor del producto.



Los laboratorios médicos deberían realizar un control de la calidad interno mediante controles propios y/o una mezcla de sueros interna, tal y como contemplan las normativas de su país.

9 Datos técnicos

Material de muestra:	suero o plasma
Volumen de muestra:	75 µl de muestra
Tiempo total de incubación:	107 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F
Almacenamiento:	a 2-8 °C/35-46 °F; use exclusivamente los viales originales.
Número de determinaciones:	24 análisis

10 Datos de funcionamiento

10.1 Sensibilidad y especificidad relativas

Especificidad analítica: **AESKUBLOTS**® Food Intolerance detecta anticuerpos de IgG₄ específica frente a alimentos. No se pudo observar ninguna influencia significativa sobre los resultados de la prueba con sustancias interferentes, como triglicéridos, hemolizado, bilirrubina e IgE. No se ha observado ninguna reactividad cruzada con otras especies de inmunoglobulina.

Especificidad/sensibilidad del diagnóstico: Los resultados de las pruebas obtenidos mediante **AESKUBLOTS**® Food Intolerance se han evaluado en comparación con un sistema ELISA con marca CE para detección de anticuerpos de IgG₄ humana específica frente a alimentos. No se han observado limitaciones o interferencias conocidas.

Precisión interensayo: Se realizaron 24 ensayos con suero de control durante cinco días consecutivos para determinar la precisión interensayo (n = 24). Los valores medios se determinaron por separado en cada alimento, los resultados se resumen en la tabla 2. Una diferencia de valor índice ≤ 1,5 se acepta para la precisión interensayo de todos los alimentos.

Precisión interensayo (tabla 2)

Código de alimento	Número de mediciones	Promedio (valor de índice)	Diferencia de valor índice interensayo (comparación entre valor máximo y mínimo)	Análisis
f199	24	6,0	0,1	Positivo
f17	24	5,0	0,4	Positivo
f14	24	3,6	0,6	Positivo
f49	24	4,8	0,3	Positivo
f24	24	0,4	0,2	Negativo
f89	24	6,0	0,0	Positivo
f37	24	0,7	0,2	Negativo
f300	24	4,9	0,2	Positivo
f13	24	4,5	0,5	Positivo
f3	24	0,3	0,1	Negativo



11 Bibliografía

Hardman G und Hart G, “Dietary advice based on food-specific IgG results” *Nutrition & Food Science* 2007; 37(1): 16-23.

Müller U und Bayer W, „Zur Relevanz der Bestimmung von spezifischem IgE und spezifischem IgG/IgG4 in der Aufdeckung von Nahrungsmittelunverträglichkeiten“ *Erfahrungsheilkunde* 2007; 56:400-406.

David TJ, “Adverse reactions and intolerance to foods” *Br Med Bull* 2000; 56: 34-50.

Zar S, et al., “Food-specific IgG₄ antibody-guided exclusion diet improves symptoms and rectal compliance in irritable bowel syndrome” [Scand J Gastroenterol](#), 2005; 40(7): 800-807.

Lothar Thomas, Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik., 8. Auflage, TH Books

CLSI Guideline GP44-A4, Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests

	Diagnosi in vitro	For in vitro diagnostic use
	Pour diagnostic in vitro	Para uso diagnóstico in vitro
	In Vitro Diagnostikum	In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	Para uso Diagnóstico in vitro	
	Numero d'ordine	Catalogue number
	Référence Catalogue	Numéro de catálogo
	Bestellnummer	Αριθμός παραγγελίας
	Número de catálogo	
	Descrizione lotto	Lot
	Lot	Lote
	Chargen Bezeichnung	Χαρακτηρισμός παρτίδας
	Lote	
	Conformità europea	EC Declaration of Conformity
	Déclaration CE de Conformité	Declaración CE de Conformidad
	Europäische Konformität	Ευρωπαϊκή συμφωνία
	Déclaração CE de Conformidade	
	24 determinazioni	24 tests
	24 tests	24 pruebas
	24 Bestimmungen	24 προσδιορισμοί
	24 Testes	
	Rispettare le istruzioni per l'uso	See instructions for use
	Voir les instructions d'utilisation	Ver las instrucciones de uso
	Gebrauchsanweisung beachten	Λάβετε υπόψη τις οδηγίες χρήσης
	Ver as instruções de uso	
	Da utilizzarsi entro	Use by
	Utilise avant le	Utilizar antes de
	Verwendbar bis	Χρήση μέχρι
	Utilizar antes de	
	Conservare a 2-8°C	Store at 2-8°C (35-46°F)
	Conserver à 2-8°C	Conservar a 2-8°C
	Lagerung bei 2-8°C	Φυλάσσεται στους 2-8°C
	Conservar entre 2-8°C	
	Prodotto da	Manufactured by
	Fabriqué par	Fabricado por
	Hergestellt von	Κατασκευάζεται από
	Fabricado por	
	Strip di nitrocellulosa rivestita	Coated nitrocellulose strip
	Strip de nitrocellulose couché	Tira de nitrocellulosa recubierta
	Beschichtete Nitrozellulose-Streifen	Επίστρωση λωρίδα νιτροκυτταρίνης
	Tira de nitrocellulose revestido	
	Tampone di lavaggio	Wash buffer
	Tampon de Lavage	Solución de lavado
	Waschpuffer	Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	Solução de lavagem	
	Coniugato	Conjugate
	Conjugé	Conjugado
	Konjugat	Σύζευγμα



SUB	~ Conjugado	
	~ Tampone substrato	~ Substrate buffer
	~ Substrat	~ Tampón sustrato
	~ Substratpuffer	~ Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	~ Substrato	