

HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

FICHE TECHNIQUE POUR LE KIT CLA® DE DOSAGE DES IgE SPECIFIQUES D'ALLERGÈNES

Pour utilisation diagnostique *in vitro*



Doc.No.:0546-FRE
Rev.: 07

1 Utilisation prévue

Le kit CLA® de dosage des IgE spécifiques d'allergènes est un test *in vitro* à utiliser pour la détermination semi-quantitative de la concentration en IgE produits dans le sérum humain, dirigés contre des allergènes déterminés.

2 Résumé et explication du test

L'atopie est un état d'hypersensibilité immunologique induit par une classe particulière d'anticorps appelés réagines, et identifiées Immunoglobulines E (IgE), dans les années 1960.^{1,2} Lorsqu'ils sont stimulés par un allergène donné, les lymphocytes B compétents produisent des anticorps IgE contre cet allergène, un anticorps IgE se lie par son domaine Fc, à des récepteurs présents sur la surface des mastocytes et des basophiles.³ La fixation d'allergènes spécifiques sur ces IgE couplées aux cellules va alors induire la dégranulation de ces cellules et permettre la libération d'amines vasoactives, et provoquer la contraction de muscles lisses, des démanagements, des boursofflures ainsi que la perte de fluides extracellulaires à travers les muqueuses. Les manifestations cliniques les plus courantes de ce mécanisme biologique sont le rhume de foin, l'asthme, l'eczéma, l'urticaire et le choc anaphylactique. L'évaluation du taux d'IgE d'un patient contre divers allergènes est important pour le diagnostic et le traitement de l'allergie atopique.^{4,5}

Le kit CLA® de dosage des IgE spécifiques d'allergènes est fondé sur une modification n'utilisant pas d'isotopes de la méthode RAST d'origine, et permet la détermination simultanée d'un grand nombre d'allergènes spécifiques.⁶ Des résultats semi-quantitatifs sont obtenus en utilisant un système de classification similaire à celui utilisé pour la méthode RAST. Tous les groupes d'allergènes CLA® incorporent des contrôles internes, qui permettent d'évaluer le fonctionnement du kit en tenant compte des liaisons non spécifiques dues au sérum du patient. Le kit CLA® de dosage des IgE spécifiques d'allergène combine la spécificité et la sensibilité de la méthode RAST, avec la facilité et la simplicité d'un dosage, sans utilisation d'isotope, de plusieurs allergènes simultanés.⁷

3 Principe du test

Le kit CLA® de dosage des IgE spécifiques d'allergènes utilise une cuve en plastique de dosage CLApette® qui permet d'incuber le sérum des patients simultanément en présence d'un grand nombre d'allergènes spécifiques ou d'un mélange d'allergènes. Chaque cuve de dosage CLApette contient un nombre défini de fils de cellulose sur lesquels un allergène spécifique ou un mélange d'allergènes a été fixé de façon covalente. Chaque cuve de dosage possède aussi un contrôle négatif (blanc) et un contrôle positif de la méthode.

Le test CLA® des IgE spécifiques d'allergènes est réalisé en plaçant le sérum du patient dans une cuve de dosage. Au cours de cette incubation, les IgE du sérum se lient aux allergènes couplés aux fils de cellulose. La cuve de dosage est ensuite lavée avec du tampon afin d'éliminer tous les composants du sérum non liés. Un anticorps anti IgE couplé à une enzyme est ensuite ajouté dans la cuve de dosage, et se lie aux IgE du sérum fixées sur le fil. Après un second lavage, la cuve de dosage est remplie d'une solution de photo réactifs qui réagit avec l'anticorps couplé à l'enzyme afin de produire une réaction de chimiluminescence. La quantité de lumière émise par chaque fil est directement proportionnelle à la quantité d'IgE spécifique de l'allergène présente dans le sérum du patient.

4 Réactifs/Composants

Kit CLA® de dosage des IgE spécifiques d'allergènes *

A conserver entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration. Ne pas congeler.

Description des composants

Chaque kit de dosage de 20 test comprend

Cuves de dosage CLApette Allergènes spécifiques ou mélange d'allergènes fixés à des fils de cellulose de façon covalente	20 cuves
Solution concentrée de tampon de lavage Une fois diluée, cette solution contient 0,01 M de tampon phosphate (PBS), 0,1% de Tween 20, et 0,001% d'azide de sodium (conservateur)	2 bouteilles de 50mL chacune
Anticorps IgE Solution bleue contenant un anticorps de chèvre anti IgE humain conjugué à une enzyme, 0,01 M de tampon phosphate (PBS) à pH 7,2, des stabilisateurs de protéines, ainsi que 0,1% de Proclin® (conservateur).	Une bouteille de 32 mL
Photo réactif A Solution contenant 14 -30 mM d'0-aminophthalhydrazide (luminol)	Une bouteille de 8 mL
Photoréactif B Solution contenant 0,05 M de tampon borate à pH 9,4	Une bouteille de 8 mL
Photoréactif C Solution contenant 0,0025 M d'éthyle orange	Une bouteille de 8 mL
Photoréactif D Solution contenant 0,004 M de peroxyde d'hydrogène	Une bouteille de 8 mL
Bouchons en caoutchouc pour cuve de dosage CLApette (noirs) A placer en haut des cuves CLApette	44 bouchons
Bouchons en caoutchouc pour cuve de dosage CLApette (blancs) A placer en bas des cuves CLApette	44 bouchons

*Disponibles sous différents formats de kit. Pour plus de détails, contactez votre représentant Hitachi Chemical Diagnostics local.

5 Précautions à suivre

- Le kit CLA de dosage des IgE spécifiques d'allergène est conçu pour des diagnostics *in vitro*.
- La solution concentrée de tampon de lavage contient de l'azide de sodium, comme conservateur. Il a été rapporté que l'azide de sodium peut interagir avec le plomb et le cuivre des tuyaux de plomberie, et peut former des composés métaux-azide potentiellement explosifs. La prudence est donc conseillée lors de l'élimination de ce réactif, rincer abondamment évier et plomberie afin d'éviter l'accumulation de composé métal-azide.⁸
- Ne pas utiliser les composants du kit après la date d'expiration indiquée et imprimée sur chacun des composants.
- Les réactifs présents dans les kits CLA de dosage des IgE spécifiques d'allergène forment un tout. **Ne pas mélanger ces réactifs avec des réactifs provenant d'autres kits.**
- Toute contamination par de l'eau de javel peut interférer avec le dosage.

6 Préparation des Réactifs

Tampon de Lavage:

- Laisser la solution concentrée de tampon de lavage revenir à température ambiante. Vérifier que tout cristal de sel est dissout. Si des cristaux persistent, placer la bouteille (bien vissée) de solution concentrée de tampon de lavage dans un bœcher contenant de l'eau chaude, jusqu'à ce que tous les cristaux soient dissous.
- Rincer le distributeur de tampon de lavage ainsi que le tube avec de l'eau distillée.
- Bien mélanger la solution concentrée de tampon de lavage en inversant doucement la bouteille plusieurs fois.
- Dans une éprouvette graduée ou un flacon de 1 L, mélanger-le contenu de la bouteille de solution concentrée de tampon de lavage (50 mL) avec 950 mL d'eau distillée ou dé ionisée. Bien mélanger.
- Transférer cette solution dans le distributeur de tampon de lavage.
- Une fois préparée et stockée à température ambiante (20-25°C) ou réfrigérée (2-8°C), cette solution peut être utilisée pendant un mois,

Solution d'anticorps:

- Laisser revenir la solution d'anticorps à température ambiante.
- Inverser doucement la solution d'anticorps avant utilisation.
- Si elle n'est pas utilisée, la solution d'anticorps réfrigérée (2-8°C) peut être utilisée jusqu'à la date d'expiration du kit.

REMARQUE: Une bouteille de solution d'anticorps suffit pour vingt (20) cuves de dosage contenant 30 allergènes par cuve et 2 contrôles.

Mélange Photo réactif:

Préparer le mélange photo réactif juste avant utilisation.

- Laisser les composés photo réactifs A, B, C, D revenir à température ambiante.
- Dans un récipient, mélanger des volumes égaux de composé photo réactif A, B, C et D avec une micro pipette à cône jetable. Il faut un volume minimal de **350 µL** de chaque composé photo réactif par cuve de dosage, soit au total **1.4 mL** par cuve de dosage.

REMARQUE: Afin d'éviter toute contamination des réactifs, utiliser un nouveau cône jetable pour chacun des composés photo réactifs.

- Remuer doucement le récipient afin de mélanger la solution.

REMARQUE: Le mélange photo réactif doit être utilisé dans les 60 minutes qui suivent le mélange.

7 Instructions pour le stockage

- Conserver les composants du kit entre 2 et 8°C. S'ils sont stockés correctement, ces composés peuvent être utilisés jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'étiquette de chaque réactif.
- Ne pas congeler les composants du kit.
- Les cuves de dosage sont stockées dans un sac en plastique contenant une éponge humide. S'assurer que le sac en plastique est refermé proprement avant et après chaque utilisation. Si l'éponge s'assèche, l'humidifier à nouveau avec du tampon de lavage, puis refermer le sac en plastique. Ces cuves de dosage peuvent être utilisées jusqu'à la date d'expiration du kit si elles sont conservées entre 2 et 8°C.
- S'il existe des signes de détérioration, ne pas utiliser le kit. Les signes de détérioration incluent une odeur inhabituelle, une apparence turbide ou tout autre signe de contamination.

8 Collecte et Préparation des Échantillons

Manipuler les échantillons provenant de patients, ainsi que les composants du kit selon les précautions prescrites pour tout échantillon de sérum humain ou de sang pouvant contenir un agent infectieux. Au cours de la manipulation des échantillons provenant de patients, suivre les précautions d'usage ou celles suggérées par votre institution.⁹⁻¹¹

Le volume minimal de sérum humain nécessaire, sans utilisation d'agitateur rotatif, par cuve de dosage individuelle est le suivant:

Une cuve de dosage contenant 30 allergènes, 1,5 mL de sérum

Protocole à suivre pour la collecte, la préparation et le stockage du sérum à utiliser dans le test CLA:

Prélever un échantillon de sang veineux dans un tube de séparation du sérum de 10 mL ou un tube à bouchon rouge. Le patient n'a pas besoin d'être à jeun. Aucune préparation spéciale n'est nécessaire.

REMARQUE: Un sérum hémolysé ou contenant des lipides peut avoir un effet adverse sur l'efficacité du kit CLA de dosage des IgE spécifiques d'allergène.

1. Laisser le sang coaguler pendant **1 heure** à 2 heures à température ambiante.
2. Centrifuger le sang coagulé pendant 10 à 20 minutes à 2000-3000 x g ou 2500-3600 rpm.
3. Transférer le sérum dans un tube en plastique propre marqué de stockage.
4. Les échantillons de sérum stockés entre 2 et 8°C peuvent être conservés pendant une semaine au maximum. Au-delà de cette période, les conserver congelés à -20°C.

REMARQUE: Les cycles répétés de congélation/décongélation doivent être évités. Les échantillons qui ont été décongelés doivent être bien mélangés avant centrifugation.

9 Étapes à suivre pour le dosage

Pour obtenir des instructions détaillées pour réaliser ce test, se référer au *Manuel d'utilisation du Luminomètre CLA*

Matériel fourni

- Kit CLA de dosage des IgE spécifiques d'allergène (voir paragraphe 4, REACTIFS/COMPOSANTS)

Matériel nécessaire non fourni dans le Kit réactifs

- Kit Équipement CLA, comprenant:
 - Portoir de lavage, pouvant contenir jusqu'à 40 cuves de dosage
 - Un réservoir de lavage
 - Une bouteille de lavage et son piston
 - Une micro pipette et des cônes
 - Des récipients jetables, de 50 mL
 - Une seringue de 3 CC
- Une éprouvette graduée ou un flacon de 1 L, afin de préparer du tampon de lavage
- De l'eau distillée ou dé ionisée
- Des tubes pour la collecte des échantillons
- Une centrifugeuse pouvant tourner à 2000-3000 x g ou 2500-3600 rpm
- Des tubes de stockage en plastique propre, nécessaires à la préparation des échantillons
- Du papier absorbant
- Des mouchoirs propres ne contenant pas de coton
- Un luminomètre CLA-1

Préparation des cuves de dosage et des échantillons des patients

1. Avant utilisation, centrifuger à nouveau les échantillons de patients pendant 10 à 20 minutes à 2000-3000 x g ou 2500-3600 rpm.
- REMARQUE: Le frein de la centrifugeuse pourrait déloger le culot, et augmenter le bruit de fond et produire des résultats erronés. Éteindre le frein avant de centrifuger les échantillons**
2. Sortir du sac en plastique les cuves de dosage nécessaires (une par échantillon). Refermer le sac et remettre les cuves non utilisées dans le réfrigérateur.
 3. Essuyer l'humidité à l'extérieur de chaque cuve de dosage.
 4. Indiquer le numéro d'identification du patient sur chacune des cuves de dosage, en orientant la grille colorée vers le bas.
 5. Noter les numéros de lot des kits, des groupes d'antigènes, ainsi que le numéro d'identification des patients
 6. Tapoter doucement l'extrémité de la cuve de dosage sur un papier absorbant afin d'éliminer tout résidu de liquide.

Méthode Standard

A. Remplir les cuves de dosage avec du sérum:

1. Attacher la seringue de 3 cc sur le haut de la cuve de dosage.
2. Insérer la partie basse de la cuve de dosage dans un tube contenant du sérum de patient. **Éviter tout précipité et/ou couches de lipides.**
3. À l'aide de la seringue, aspirer lentement le sérum afin de remplir complètement la cuve de dosage. **S'assurer que le filament supérieur est complètement couvert par du sérum et qu'aucune bulle ne se soit formée dans la cuve de dosage.**

B. Boucher et incuber les cuves de dosage:

1. Sans ôter la seringue, insérer un bouchon blanc sur la partie inférieure de la cuve de lavage.
2. Enlever la seringue et placer un bouchon noir sur le haut de la cuve de dosage.

REMARQUE: insérer les bouchons à fond afin d'éviter toute fuite.

3. Placer les cuves de dosage remplies de sérum verticalement sur le portoir de lavage.
4. Laisser incuber à température ambiante pendant **16 à 24 heures**, Noter l'heure du début de l'incubation.

C. Préparer le tampon de lavage en suivant les instructions décrites dans le paragraphe 6, PREPARATION DES REACTIFS.

D. Élimination du Sérum:

1. Enlever le bouchon blanc de la cuve de dosage, remettre la cuve de dosage sur le portoir de lavage.
2. Enlever le bouchon noir de la cuve de dosage de façon à éliminer le sérum dans le réservoir de lavage. Noter l'heure du début D'arrêt de l'incubation.

E. Lavage des cuves de dosage:

1. Amorcer le distributeur de tampon de lavage afin d'éliminer toute bulle d'air.
2. Adapter la tubulure du distributeur sur l'extrémité supérieure de la première cuve de dosage.
3. Laver successivement chaque cuve de dosage une fois avec 10 mL de tampon de lavage en pressant une fois modérément sur le piston.

REMARQUE: Laisser chaque cuve de dosage se vider complètement avant de passer à l'étape suivante.

4. Répéter l'étape précédente deux fois, afin d'effectuer au total un nombre de trois lavages pour chaque cuve de dosage.

REMARQUE: Afin d'éviter que les filaments ne sèchent, les cuves de dosage doivent être remplies immédiatement avec la solution d'anticorps après ces lavages.

F. Remplir les cuves de dosage avec la solution d'anticorps:

1. Tapoter doucement la partie inférieure de la cuve de dosage sur du papier absorbant, afin d'éliminer toute trace de tampon de lavage.
1. Adapter une seringue de 3 ml sur l'extrémité supérieure de la cuve de dosage et un cône propre à l'extrémité inférieure de la cuve de dosage.
3. Plonger l'extrémité inférieure de la cuve de dosage dans un récipient à usage unique contenant la solution d'anticorps nécessaire.
4. A l'aide de la seringue, aspirer lentement la solution d'anticorps, sans former de bulle, afin de remplir complètement la cuve de dosage. Le filament supérieur doit être recouvert de solution d'anticorps.

REMARQUE: S'assurer que le fil supérieur est recouvert par la solution d'anticorps. Ceci diminuera les risques de formation de bulles d'air, qui pourraient affecter les résultats du test.

G. Boucher et incuber les cuves de dosage:

1. Ne pas ôter la seringue
2. Boucher l'extrémité inférieure de la cuve de dosage avec un bouchon blanc.
3. Enlever la seringue et insérer le bouchon noir sur l'extrémité supérieure de la cuve de dosage.
4. Garder ces cuves de dosage verticalement, sur le portoir de lavage. Incuber à température ambiante pendant **4 heures ± 15 minutes**, noter l'heure du début de l'incubation.

H. Éliminer la solution d'anticorps:

1. Enlever le bouchon blanc de chaque cuve de dosage, replacer chacune de ces cuves sur le portoir de lavage.
2. Enlever le bouchon noir de chaque cuve de dosage, de façon à éliminer le liquide dans le réservoir de lavage. Ne pas jeter les bouchons. Noter l'heure de la fin de l'incubation.

I. Laver les cuves de dosage trois (3) fois tel qu'indiqué dans le paragraphe 9.E

J. Préparer le mélange photo réactif comme indiqué dans le paragraphe 6, PREPARATION DES REACTIFS.

REMARQUE: Afin d'éviter que les filaments ne sèchent, remplir immédiatement les cuve de dosage avec du mélange photo réactif après le dernier lavage.

K. Remplir les cuves de dosage avec le mélange photo réactif:

1. Tapoter doucement la partie inférieure de la cuve de dosage sur du papier absorbant, afin d'éliminer toute trace de tampon de lavage
2. Adapter une seringue de 3 ml sur l'extrémité supérieure de la cuve de dosage.
3. Plonger l'extrémité inférieure de la cuve de dosage dans le mélange photo réactif contenu dans un récipient à usage unique.
4. A l'aide de la seringue, aspirer lentement le mélange photo réactif, sans former de bulle, afin de remplir complètement la cuve de dosage. Le filament supérieur doit être recouvert par du mélange photo réactif
5. Noter l'heure du début de l'incubation

L. Boucher les cuves de dosage:

1. Ne pas ôter la seringue
2. Insérer le bouchon blanc sur la partie inférieure de la cuve de dosage.
3. Enlever la seringue et insérer le bouchon noir sur la partie supérieure de la cuve de dosage.
4. Vérifier que la cuve de dosage ne fuit pas.
5. Essuyer tout mélange photo réactif qui pourrait contaminer l'extérieur de la cuve de dosage, avec un mouchoir propre, humide, ne contenant pas de coton.

M. Laisser incuber les cuves de dosage pendant 20 minutes avant la lecture au luminomètre. Toutes les cuves de dosage doivent être lues dans les 60 minutes qui suivent l'addition du mélange photo réactif dans la cuve de dosage.

N. Pour la lecture des résultats, se référer au Manuel d'utilisation du luminomètre CLA.

Méthode alternative

Remarque :Il a été démontré lors d'études internes que la sensibilité du dosage obtenue avec la technique utilisant un agitateur rotatif peut être diminuée lorsque comparée à la sensibilité de la technique standard . Chaque

laboratoire doit dès lors déterminer si cette méthode alternative convient à ses besoins spécifiques.¹³

Cette méthode nécessite l'utilisation de l'agitateur rotatif CLA

Préparer les cuves de dosage et les échantillons de patients comme décrit dans les étapes 9.1 à 9.6

A. Remplir la cuve de dosage avec du sérum:

1. Adapter une seringue de 3 ml sur l'extrémité supérieure de la cuve de dosage et un cône propre sur l'extrémité inférieure de la cuve
2. Plonger le cône précédemment fixé dans un tube contenant du sérum de patient. **Éviter de prélever tout précipité et/ou couches lipidiques.**
3. Aspirer lentement 750 µl de sérum afin de remplir la moitié de la cuve de dosage.

REMARQUE: Abaisser le piston de la seringue avant d'insérer l'extrémité de la cuve de dosage dans les échantillons de sérum. L'injection d'air dans le sérum peut provoquer un remous des précipités présents au fond des tubes d'échantillons

4. Ne pas ôter la seringue

B. Boucher les cuves de dosage, les placer sur l'agitateur rotatif CLA et faire tourner:

1. Insérer un bouchon blanc à l'extrémité inférieure de la cuve de dosage.
2. Retirer la seringue de 3 ml et insérer un bouchon noir sur l'extrémité supérieure de la cuve de dosage.

REMARQUE: Les bouchons doivent être insérés fermement afin d'éviter toute fuite.

3. Faire pivoter la cuve de dosage afin d'imprégner tous les filaments avec du sérum, et tapoter doucement l'une des extrémités bouchées plusieurs fois jusqu'à ce que le sérum s'écoule à l'autre extrémité de la cuve de dosage. Répéter l'opération jusqu'à l'assurance d'un écoulement fluide d'une extrémité à l'autre de la cuve de dosage.
4. Placer les cuves de dosage sur l'agitateur rotatif CLA et allumer l'agitateur rotatif.
5. Faire tourner les échantillons 16 à 24 H à Température ambiante
6. Noter l'heure de début d'incubation des sérums.
7. Veiller à l'écoulement régulier du sérum dans chacune des cuves de dosage. Si le sérum ne s'écoule pas facilement d'une extrémité à l'autre d'une cuve de dosage
 - a. Arrêter l'agitateur rotatif, enlever la cuve de dosage en question, la tapoter doucement sur la paillasse.
 - b. Remettre la cuve de dosage sur l'agitateur rotatif.
 - c. Allumer l'agitateur rotatif et observer à nouveau le flux du sérum dans chaque cuve de dosage.
 - d. Recommencer l'opération si nécessaire.

C à N Suivre le protocole indiqué dans la méthode standard.

Remarque: Ne pas faire tourner les cuves de dosage durant l'incubation avec la solution d'anticorps et le mélange photo réactifs

10 Contrôle de Qualité

A. Fils de contrôle interne

Chaque cuve de dosage possède un contrôle positif et un contrôle négatif. Ces filaments servent de contrôles internes pour chaque cuve de dosage.

Contrôle positif: celui-ci permet de vérifier le bon fonctionnement des réactifs du kit. Ce contrôle devrait produire une valeur supérieure ou égale à 243 en LUs.

Contrôle négatif: celui-ci permet d'éliminer toute valeur correspondant à liaison non spécifique des IgE. Ce contrôle devrait produire des valeurs inférieures à 33 en LUs.

Résultats de contrôles internes non validés

Si les résultats pour les contrôles internes ne sont pas dans les limites des valeurs indiquées ci-dessus, alors replacer la cuve de dosage dans la cassette (s'assurer que la cuve de dosage est insérée proprement) et refaire une lecture.

Si les résultats ne sont toujours pas acceptables, appeler l'assistance technique de votre fournisseur local.

B. Sérums positifs et négatifs pour les IgE

Hitachi Chemical Diagnostics recommande que chaque nouveau lot de kit CLA de dosage des IgE spécifiques d'allergène ainsi que les cuves de dosage sont testées avec deux sérums contrôles: le sérum CLA positif pour les IgE et le sérum CLA négatif pour les IgE. Pour toute instruction concernant leur utilisation, ainsi que les valeurs à obtenir, se référer à la fiche technique du kit CLA contenant les sérums positifs et négatifs pour les IgE. Certaines institutions peuvent avoir besoin d'utiliser ces sérums contrôle plus fréquemment. Pour plus de détails, vérifier avec votre institution.

11 Résultats

Le luminomètre CLA-1 mesure la quantité de lumière émise par les fils dans les chambres de test. Cet appareil mesure l'émission de lumière en unités de luminescence (LUs). Pour calculer la réponse IgE des patients, cet instrument soustrait automatiquement les valeurs d'émission données par le contrôle interne négatif des valeurs émises par chaque filament. Des valeurs de classe allant de 0 à

4 ont été déterminées en mesurant la quantité de lumière émise par chaque filament dans une cuve de dosage. Ces valeurs constituent le système d'évaluation de classe d'allergie pour le kit CLA de dosage des IgE spécifiques d'allergène. Les quantités en IgE correspondant à chaque valeur de classe ainsi que les valeurs correspondant au luminomètre sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Classe CLA	LUs nets	Concentration en IgE induit par allergène défini
4	>242	Concentration très importante
3	143-242	Concentration élevée
2	66-142	Concentration moyenne
1	27-65	Concentration faible
1/0	12-26	Non significatif
0	0-11	absence

Des valeurs de classe CLA de 1/0 et plus représentent une augmentation progressive des concentrations d'anticorps spécifiques d'un antigène. La valeur 0 indique l'absence ou des taux non détectables d'anticorps spécifiques d'allergènes.

12 Limites de la Méthode

- Un sérum hémolysé ou contenant des lipides peut affecter l'efficacité du kit CLA de dosage des IgE spécifiques d'allergène.
- Un diagnostic clinique et/ou un traitement immunothérapeutique ne devrait pas uniquement se baser sur les résultats d'un seul test. Mais doit être fait par un médecin après évaluation de toutes les données cliniques et des résultats de laboratoire.
- Le kit CLA de dosage des IgE spécifiques d'un allergène donné produit des résultats semi-quantitatifs. Cette méthode n'a pas de référence absolue. Des valeurs de classe ont été arbitrairement assignées.
- Parce que la capacité d'interaction d'un anticorps IgE avec un allergène peut varier d'un allergène à un autre, une classification similaire pour différents allergènes ne signifie pas obligatoirement une équivalence clinique.
- Lorsque des allergies alimentaires sont testées, les IgE circulantes peuvent ne pas être détectées si elles reconnaissent des allergènes dénaturés (cuits, transformés, digérés). Ces formes dénaturées ne sont pas présentes sous la même structure que les allergènes alimentaires utilisés dans ce test particulier. Un faux résultat positif chez des personnes testées pour des allergies alimentaires pourrait les conduire à suivre un régime alimentaire inapproprié. Un résultat négatif chez une personne sensible à certains aliments pourrait conduire à un choc anaphylactique aux conséquences plus ou moins graves.
- Un fort taux d'IgE totale (supérieur ou égal à 500 IU/mL) peut donner des résultats d'IgE spécifiques, faiblement ou fortement positifs sur tous les filaments. Il conviendra d'interpréter ces résultats avec précaution.
- Des résultats fiables et reproductibles seront obtenus si le test est réalisé en respectant parfaitement les instructions d'utilisation du produit et les procédures de contrôle de bonne qualité.
- L'eau de javel interfère avec le dosage. Toute vaisselle contaminée doit être abondamment lavée avec de l'eau distillée ou dé-ionisée.

REMARQUE: L'utilisation de solutions à base d'alcool pour désinfecter la paillasse provoque des fissures du plastique des cuves de dosage et les dégrade prématurément.

13 Valeurs Attendues

A l'origine, les classes CLA ont été déterminées par des études scientifiques ayant pour but d'établir des courbes étalons en utilisant un sérum contenant des anticorps IgE spécifiques contre le bouleau blanc. La limite entre les résultats négatifs et positifs a été établie de façon statistique comme deux déviations standard au-dessus de la valeur moyenne de la population normale.⁶

Il est recommandé que chaque laboratoire définisse ses propres valeurs de référence sur la population qui les intéresse.

14 Performance de la Méthode Standard

A. Précision¹²

Inter-test: Cinq répliques de 4 échantillons de sérums s ont été analysées en une fois. La valeur moyenne du coefficient de variation des réponses à tous les allergènes analysés, calculé en Lus nets, est de 11.7%.

Inter-test: Cinq répliques de 4 échantillons de sérums ont été analysées sur quatre jours différents. La valeur moyenne du coefficient de variation des réponses à tous les allergènes analysés, calculé en Lus nets, est de 11.6%.

B. Sensibilité¹²

La limite de détection du dosage est de 10 LUs.

C. Spécificité¹²

Dans le sérum humain, à des niveaux physiologiques normaux, il n'y a pas de réaction croisée détectable avec les immunoglobulines IgA, IgM, IgG, ou IgD.

D. Comparaison des méthodes *In Vitro* de détection d'allergie¹²

En moyenne, la similitude (calculée en pourcentage d'efficacité) entre le kit CLA et d'autres kits de dosage *In Vitro* est de 95%; ces valeurs varient entre 86% et 100%.

Remarque: Il n'existe pas d'allergène spécifique témoin pour comparer ces méthodes biologiques in vitro.

15 Bibliographie

- Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook MM. *J Immunol* 1966;97:75.
- Johansson SGO, Bennich H. *Immunol* 1967;13:381.
- Kulczycki A. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:5.
- Johansson SGO, Bennich HH, Berg T. *Prog Clin Immunol* 1972;1:157.
- Homburger HA. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 1986;23:279.
- Miller SP, Marinkovich VA, Riege DH, Sell WJ, et al. *Clin Chem* 1984;30:1467.
- Agata H, et col. *Ann Allergy* 1993;70:153.
- 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.
- Résultats sont fournis selon demande.

Pour toute assistance technique, veuillez contacter Hitachi Chemical Diagnostics. En dehors des États-Unis veuillez contacter votre représentant Hitachi Chemical Diagnostics local.



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
United Kingdom
Tel. +44 (0) 1628 585 590
Fax. +44 (0) 1628 585 594

Distribué par:

BMD (Biomedical Diagnostics)

B.P. 103

77423 Marne-la-Vallée cedex 2 –France

Téléphone : (33) 1 64 62 10 12

Télécopie : (33) 1 64 62 09 66

©2011, Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

CLA est une marque de fabrication enregistrée par Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

Fabriqué aux États-Unis sous un ou plusieurs brevets ayant pour numéro: 3,941,876, 4,031,197, 4,459,360 (ainsi que sous des brevets correspondants issus au Canada, en Australie, au Japon, en Espagne, en France, en Allemagne, en Italie, en Suède, et en Grande-Bretagne), 4,510,393, 4,558,013, 5,567,149 (ainsi que sous des brevets correspondants issus au Canada, en Australie, au Japon, en Espagne, en France, en Allemagne, en Italie, en Suède, en Suisse, en Autriche, en Belgique, en Hollande, au Luxembourg, et en Grande-Bretagne), 4,568,184, 285,485, 4,743,541 (ainsi que sous des brevets correspondants issus au Canada, en Australie, au Japon, en France, en Allemagne, en Suède, en Suisse, et en Grande-Bretagne), et 5,082,768 (ainsi qu'un brevet correspondant au Japon).