

VIDAS[®] TOTAL IgE (IGE)

IVD

VIDAS TOTAL IgE est un test quantitatif automatisé sur les instruments de la famille VIDAS, permettant la détermination immunoenzymatique des IgE totales humaines dans le sérum ou le plasma humain (héparinate de lithium ou EDTA) par technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST (1-9)

Depuis leur découverte par les équipes d'Ishizaka K. et T. et de Johanssen et Bennich en 1967, les IgE ont été associées à l'hypersensibilité immédiate de type I. Les individus atopiques peuvent en effet produire des quantités modérément élevées d'IgE après exposition à des allergènes spécifiques.

Une élévation anormale des IgE sériques totales peut également être observée dans des affections non allergiques, telles que :

- parasitoses, notamment les helminthiases,
- néphropathies,
- déficits immunitaires et affections néoplasiques, incluant entre autres le syndrome de Wiskott-Aldrich, la maladie de Hodgkin, le myélome à IgE,
- dermatoses : pemphigus, psoriasis, pityriasis rubra pilaire .

VIDAS TOTAL IgE est un test d'aide au diagnostic des affections allergiques.

PRINCIPE

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique sandwich à une détection finale en fluorescence (ELFA).

Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel.

Dans une première étape, l'échantillon est prélevé puis transféré dans le puits contenant l'anticorps anti-IgE marqué à la phosphatase alcaline (conjugué). Le mélange échantillon/conjugué est aspiré et refoulé plusieurs fois dans le cône afin d'augmenter la vitesse de réaction. Cette opération permet aux IgE de se lier d'une part aux immunoglobulines fixées sur le cône et d'autre part au conjugué formant ainsi un "sandwich".

Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombellifénone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration en IgE présente dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée, puis imprimés.

COMPOSITION DES REACTIFS DU COFFRET (60 TESTS) :

60 cartouches IGE	STR	Prêtes à l'emploi.
60 cônes IGE 2 x 30	SPR	Prêtes à l'emploi. Cônes sensibilisés par des immunoglobulines monoclonales de souris anti-IgE.
Contrôle IGE 1 x 2 ml (liquide)	C 1	Sérum de cheval + IgE humaine + métacrésol 1,4 g/l. L'intervalle de confiance en KIU/l (kilo-unité internationale par litre) est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C1 Dose Value Range".
Calibrateur IGE 1 x 2 ml (liquide)	S 1	Sérum de cheval + IgE humaine + métacrésol 1,4 g/l. Le titre en KIU/l est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Calibrator (S1) Dose Value". L'intervalle de confiance en "Relative Fluorescence Value" est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Calibrator (S1) RFV Range".
Diluant IGE 1 x 5 ml	R1	Prêt à l'emploi. Sérum de cheval + métacrésol 1,4 g/l.
1 Carte MLE (Master Lot Entry)		Spécifications des données usine nécessaires à la calibration du test : se référer au Manuel Utilisateur pour la lecture.
1 Notice		

Le cône

Le cône est sensibilisé au moment de la fabrication par des immunoglobulines monoclonales de souris anti-IgE. Chaque cône est identifié par le code IGE. Utiliser uniquement le nombre de cônes nécessaire et laisser les cônes inutilisés dans leur sachet. **Reformer complètement le sachet après ouverture.**

La cartouche

La cartouche est composée de 10 puits recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquetée. L'étiquette comporte un code à barres reprenant principalement le code du test, le numéro de lot et la date de péremption du coffret. Le premier puits comporte une partie prédécoupée pour faciliter l'introduction de l'échantillon. Le dernier puits est une cuvette permettant la lecture en fluorimétrie. Les différents réactifs nécessaires à l'analyse sont contenus dans les puits intermédiaires.

Description de la cartouche

Puits	Réactifs
1	Puits échantillon.
2 - 3 - 4	Puits vides.
5	Conjugué : immunoglobulines monoclonales de souris anti-IgE marquées à la phosphatase alcaline + azoture de sodium 0,9 g/l (600 µl).
6 - 7	Tampon de lavage : phosphate de sodium (0,01 mol/l) pH 7,4 + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
8	Tampon de lavage : diéthanolamine* (1,1 mol/l soit 11,5 %) pH 9,8 + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
9	Puits vide.
10	Cuvette de lecture avec substrat : 4-Méthyl-ombelliferyl phosphate (0,6 mmol/l) + diéthanolamine** (DEA) (0,62 mol/l soit 6,6%, pH 9,2) + azoture de sodium 1 g/l (300 µl).

*** Réactif NOCIF :**

- **R 48/22** : Nocif : risques d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par ingestion.
- **R 41** : risque de lésions oculaires graves.
- **S 26** : en cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.
- **S 46** : en cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.

****Réactif IRRITANT :**

- **R 36** : irritant pour les yeux.
- **S 26** : en cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

Pour plus d'informations, consulter la fiche de données sécurité disponible sur demande.

**MATERIELS ET CONSOMMABLES NECESSAIRES
MAIS NON FOURNIS**

- Pipette à embout jetable permettant la distribution de 100 µl.
- Gants non talqués à usage unique.
- Pour d'autres matériels et consommables spécifiques se référer au Manuel Utilisateur de l'instrument.
- Instrument de la famille VIDAS.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour diagnostic *in vitro* uniquement.**
- **Pour usage professionnel uniquement.**
- **Ce coffret contient des composants d'origine humaine. Aucune des méthodes d'analyse actuellement connues ne peut garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible. Il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (se reporter au Manuel de Sécurité Biologique en Laboratoire - OMS - Genève - dernière édition).**
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).
- Ne pas utiliser les cônes dont le sachet est percé.
- Ne pas utiliser de cartouches visiblement altérées (feuille aluminium ou plastique endommagé).
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.
- Ne pas mélanger les réactifs (ou consommables) de lots différents.

- Ne pas utiliser **de gants talqués**, le talc pouvant entraîner de faux résultats pour certains tests immunoenzymatiques.
- Les réactifs du coffret contiennent un conservateur (azoture de sodium), susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.
- Le tampon de lavage (puits 8 de la cartouche) contient un agent nocif (diéthanolamine 11,5 %). Prendre connaissance des phrases de risque "R" et des conseils de prudence "S" indiqués ci-dessus.
- Le substrat (puits 10 de la cartouche) contient un agent irritant (diéthanolamine 6,6 %). Prendre connaissance de la phrase de risque "R" et des conseils de prudence "S" cités ci-dessus.
- Les projections doivent être traitées avec un liquide détergent ou une solution d'eau de Javel contenant au moins 0,5 % d'hypochlorite de sodium. Se référer au Manuel d'Utilisation pour éliminer les projections sur ou à l'intérieur de l'instrument. Ne pas autoclaver de produit javellisé.
- L'instrument doit être régulièrement nettoyé et décontaminé (se reporter au Manuel d'Utilisation).

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret VIDAS TOTAL IgE à 2-8°C.
- **Ne pas congeler les réactifs.**
- **Laisser à 2-8°C les réactifs non utilisés.**
- A l'ouverture du coffret, vérifier l'intégrité et la bonne fermeture du(des) sachet(s) de cônes. Dans le cas contraire, ne pas utiliser les cônes.

- **Après chaque utilisation, refermer complètement le sachet avec son déshydratant pour maintenir la stabilité des cônes et replacer la totalité du coffret à 2-8°C.**
- Tous les composants sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, lorsqu'ils sont conservés dans les conditions préconisées.

ECHANTILLONS

Nature et prélèvement des échantillons :

Sérum ou plasma (prélevé sur héparinate de lithium ou EDTA).

Il est préconisé à chaque laboratoire de valider le type de tube de prélèvement utilisé.

L'utilisation de sérums inactivés par la chaleur n'a pas été validée.

Il n'a pas été observé pour ce dosage d'influence significative :

- de l'hémolyse (après surcharge d'échantillons en hémoglobine de 0 à 300 µmol/l de monomère),
- de la lipémie (après surcharge d'échantillons en lipides de 0 à 2 g/l d'équivalent triglycérides),
- de la bilirubinémie (après surcharge d'échantillons en bilirubine de 0 à 275 µmol/l).

Il est néanmoins conseillé de ne pas utiliser d'échantillons visiblement hémolysés, lipémiques ou ictériques et d'effectuer si possible un nouveau prélèvement.

Stabilité des échantillons

Les échantillons peuvent être stockés à 2-8°C dans des tubes bouchés 5 jours au maximum ; au-delà, congeler les sérums ou plasma à - 25 ± 6°C.

Une étude réalisée sur des échantillons congelés pendant deux mois, n'a montré aucune influence sur la qualité des résultats.

Eviter les congélations et décongélations successives.

MODE OPERATOIRE

Pour des instructions complètes, se référer au Manuel d'Utilisation de l'instrument.

Saisie des données MLE

A l'ouverture d'un nouveau lot, les spécifications (ou données usine) doivent être entrées dans l'instrument à l'aide des données MLE. Si cette opération n'était pas effectuée **avant de commencer les tests**, l'instrument ne pourrait pas éditer de résultats. Ces spécifications ne sont entrées qu'une seule fois pour chaque lot.

Il est possible de saisir les données MLE manuellement ou de façon automatique en fonction de l'instrument (se référer au Manuel d'Utilisation).

Calibration

La calibration, à l'aide du calibrateur fourni dans le coffret, doit être effectuée à l'ouverture de chaque nouveau lot après entrée des spécifications du lot puis tous les 14 jours. Cette opération permet d'ajuster la calibration à chaque instrument et à l'évolution éventuelle du réactif dans le temps.

Le calibrateur, identifié par S1, sera analysé **en double** (voir Manuel d'Utilisation). La valeur du calibrateur doit être comprise dans les limites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fixées. Si ce n'est pas le cas : refaire une calibration.

Réalisation du test

1. **Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les laisser 30 minutes à température ambiante avant utilisation.**
2. Utiliser une cartouche "IGE" et un cône "IGE" pour chaque échantillon, contrôle ou calibrateur à tester. **Vérifier que le sachet de cônes a été refermé complètement après chaque utilisation.**
3. Le test est identifié par le code "IGE" sur l'instrument. Le calibrateur identifié obligatoirement par "S1", doit être utilisé **en double**. Si le contrôle est testé, il est identifié par "C1".
4. Si nécessaire, clarifier les échantillons par centrifugation.
5. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le calibrateur, le contrôle et les échantillons (pour sérum ou plasma séparé du culot) pour une meilleure reproductibilité des résultats.
6. **La prise d'essai du calibrateur, du contrôle et des échantillons est de 100 µl pour ce test.**
7. Placer dans l'instrument les cônes "IGE" et les cartouches "IGE". Vérifier la concordance des codes (couleurs et lettres) entre le cône et la cartouche.
8. Démarrer l'analyse (voir Manuel d'Utilisation). Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'instrument.
9. Reboucher les flacons et les remettre à 2-8°C après pipetage.
10. Les résultats sont obtenus en 30 minutes environ. A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches de l'instrument.

RESULTATS ET INTERPRETATION

Dès le test terminé, les résultats sont analysés automatiquement par le système informatique. L'instrument effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacun des tests. La première lecture prend en compte le bruit de fond dû à la cuvette substrat avant mise en contact du substrat avec le cône. La seconde lecture est effectuée après incubation du substrat avec l'enzyme présente dans le cône. Le calcul de la RFV est le résultat de la différence des deux mesures. Il apparaît sur la feuille de résultats.

Les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée (modèle mathématique : modèle logistique à 4 paramètres) et sont exprimés en KIU/l d'après l'étalon international : 2nd IRP 75/502.

Les échantillons, présentant des concentrations en IgE supérieures à 1 000 KIU/l doivent être redosés après dilution au 1/10 voire au 1/100 dans le diluant IGE (R1).

Si le facteur de dilution n'a pas été saisi lors de la création de la liste de travail (voir Manuel d'Utilisation), multiplier le résultat par le facteur de dilution pour avoir la concentration de l'échantillon.

L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle est inclus dans chaque coffret VIDAS TOTAL IgE. Ce contrôle doit être utilisé à l'ouverture de chaque nouveau coffret afin de vérifier l'absence d'altération des réactifs. Chaque calibration doit être également vérifiée à l'aide de ce contrôle. Pour que l'instrument puisse vérifier la valeur du contrôle, il faut l'identifier par C1.

Si la valeur du contrôle s'écarte des valeurs attendues, les résultats ne peuvent être validés.

Remarque

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en œuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITE DU TEST

Une interférence peut être rencontrée avec certains sérums contenant des anticorps dirigés contre des composants du réactif, c'est pourquoi les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

VALEURS ATTENDUES**Chez les adultes : (10, 11)**

Les études bibliographiques montrent qu'il est assez difficile de fixer des valeurs « normales » pour le taux sérique des IgE. La façon de choisir l'échantillon est très importante. De plus, le passage des IgE dans la circulation n'est qu'éphémère, leur durée de vie y étant courte.

A titre indicatif, 80% de la population non atopique ont des taux inférieurs à 150 KIU/l.

De ce fait, il a été recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence sur une population rigoureusement sélectionnée.

Chez les enfants :

Les valeurs usuelles déterminées lors d'une évaluation sur un site extérieur sont en accord avec la bibliographie et sont présentées dans le tableau suivant :

Age	Concentrations en IgE							
	0 → < 20 KIU/l		20 → < 50 KIU/l		50 → < 100 KIU/l		100 → > 100 KIU/l	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
10 mois (n = 93)	65	69,9	19	20,4	6	6,5	3	3,2
2 ans (n = 86)	27	31,4	20	23,3	16	18,6	23	26,7
4 ans (n = 49)	10	20,4	10	20,4	8	16,3	21	42,9
5-10 ans (n = 27)	3	11,1	6	22,2	6	22,2	12	44,5
> 10 ans (n = 11)	3	27,3	1	9,1	3	27,3	4	36,3

PERFORMANCES

Les études de VIDAS TOTAL IgE ont donné les résultats suivants :

Limite de détection analytique

Définie comme étant la plus petite concentration en IgE significativement différente de la concentration zéro avec une probabilité de 95% : **0,5 KIU/l**.

Effet crochet

Aucun effet crochet n'a été observé jusqu'à des concentrations en IgE de 100 000 KIU/l.

PrécisionReproductibilité intra-essai :

Cinq échantillons ont été dosés 30 fois dans une même série.

Echantillon	1	2	3	4	5
Concentration moyenne (KIU/l)	56,3	267,2	429,8	609,9	918,2
CV %	4,5	5,8	3,8	4,7	3,7

Reproductibilité inter-essai :

Cinq échantillons ont été dosés en simple sur un même VIDAS sur une période de 7 semaines.

Echantillon	1	2	3	4	5
Concentration moyenne (KIU/l)	56,2	280,8	445,0	639,6	895,6
CV %	3,7	3,2	3,0	5,1	5,0

ExactitudeTest de dilution

Trois échantillons ont été dilués dans le diluant IGE et dosés en simple dans 3 séries. La concentration moyenne mesurée rapportée à la concentration attendue est exprimée en pourcentage de récupération moyen.

Echantillons n°	Facteur de dilution	Concentration moyenne attendue (KIU/l)	Concentration moyenne mesurée (KIU/l)	Pourcentage de récupération moyen (%)
1	1/1	299,4	299,4	100,0
	1/2	149,7	154,9	103,5
	1/4	74,9	83,0	110,8
	1/8	37,4	43,6	116,5
	1/16	18,7	22,5	120,3
	1/32	9,4	11,1	118,1
2	1/1	495,9	495,9	100,0
	1/2	248,0	234,3	94,5
	1/4	124,0	126,8	102,3
	1/8	62,0	69,3	111,8
	1/16	31,0	36,8	118,7
	1/32	15,5	19,1	123,2
3	1/1	714,9	714,9	100,0
	1/2	357,5	331,2	92,6
	1/4	178,7	168,4	94,2
	1/8	89,4	89,9	100,6
	1/16	44,7	49,3	110,3
	1/32	22,3	25,1	112,6

Comparaison avec une autre méthode de dosage

Une corrélation a été établie entre le coffret VIDAS TOTAL IgE, et un autre coffret commercialisé.

VIDAS TOTAL IgE = 1,209 X - 15,9 $r = 0,995$ (n = 196)

REACTIONS CROISEES ET INTERFERENCES

Il n'y a pas de réaction croisée avec les autres immunoglobulines : pour les IgG jusqu'à 19 g/l, pour les IgM jusqu'à 30 g/l, pour les IgA jusqu'à 40 g/l.

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. CAPRON A., DESSAINT J.P., CAPRON M. et al., From parasites to allergy : a second receptor for IgE, *Immunology today*, 1986, 7 (1), 15-18.
2. DESSAINT J.P., BOUT D., WATTRE P., CAPRON A. Quantitative determination of specific IgE antibodies to *Echinococcus granulosus* and IgE levels in sera from patients with hydatid disease, *Immunology*, 1975, 29, 813-823.
3. GEHA R.S., Human IgE, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1984, 74 (2), 109-120.
4. HALPERN G.M., Evaluation of in Vitro IgE Testing to Diagnose Atopic Diseases, *Clinical Reviews in Allergy*, 1989, 7, 23-48.
5. JOHANSSON S.G.O., BENNICH H., WIDE L. A new class of immunoglobulin in human serum, *Immunology*, 1968, 14, 265-272.
6. LAGRUE G., LAURENT J., HIRBEC G. et al. Serum IgE in primary glomerular diseases *Nephron*, 1984, 36, 5-9
7. LAGRUE G., WIRQUIN E., MORETTI J.P., HIRBEC G., LAGRUE R., GALLE P., Etude des IgE sériques dans les néphropathies glomérulaires, *J. Urol. Néphro.*, 1974, 80, 795-801.
8. VOGEL M., STADLER B.M., Immunorégulation chez les atopiques, *Med. et Hyg.*, 1990, 48, 2311-2313.
9. WALDMANN T.A., POLMAR S.H., BALESTRA S.T. et al. Immunoglobulin E in immunologic deficiency diseases. II. Serum IgE concentration of patients with Acquired Hypogammaglobulinemia, Thymoma and Hypogammaglobulinemia, Myotonic Dystrophy, Intestinal Lymphangiectasia and Wiskott-Aldrich Syndrome, *J. Immunol.*, 1972, 109 (2), 304-310.
10. PAUPE J. Chapitre 33 : Tests biologiques in vitro. in : ALLERGOLOGIE, CHARPIN I., 2^{ème} édition, Flammarion-Médecine-Sciences, 1989 326-338 ISBN 2-12279-257-8.
11. LAURENT J., NOIROT C., ANSQUER C. et al. – Comment définir le taux normal des IgE sériques chez l'adulte – *Ann.Med.Interne.* – 1985, vol. 136, n°5, p.419-422.

TABLE DES SYMBOLES

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Limites de température
	Utiliser jusque
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Contenu suffisant pour "n" tests

BIOMERIEUX, le logo bleu, VIDAS et SPR sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales.

Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.