

HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

NOTICE INTERNATIONALE du KIT POUR LE TEST CLA[®] des IgE ALLERGENE-SPECIFIQUES

Pour une seule utilisation de diagnostic *in vitro*



Doc.No. 0625-FRE
Rev.: 07

1 Utilisation Prévue

Le test CLA[®] des IgE Allergène-Spécifiques est un test *in vitro* pour déterminer semiquantitativement les concentrations d'IgE allergène-spécifiques en circulation dans le sérum humain.

2 Sommaire et Explication du Test

L'allergie atopique est une condition immunologique d'hypersensibilité médiée par une classe particulière d'anticorps du sérum appelés réagins qui ont été identifiés au milieu des années soixantes comme étant les Immunoglobulines E (IgE).^{1,2} Les lymphocytes B Immunocompétents, lorsqu'ils sont stimulés par un allergène spécifique, produisent des anticorps IgE contre cet allergène. Les anticorps IgE se lient, via leur portion Fc, aux récepteurs à la surface des mastocytes et des leucocytes basophiles.³ La liaison ultérieure de l'allergène aux IgE spécifiques liées aux cellules déclenche la dégranulation de ces cellules et la libération d'amines vasoactives, causant la contraction des muscles lisses, des démangeaisons, des gonflements et des écoulements nasals. Les plus communes des manifestations cliniques de ce processus biologique sont le rhume des foins, l'asthme, les dermatoses, urticaire, et le choc anaphylactique. La détermination du niveau d'IgE d'un patient pour divers allergènes est importante pour le diagnostic et pour le traitement de l'allergie atopique.^{4,5}

Le test CLA des IgE Allergène-Spécifiques est fondé sur une modification nonisotopique de la méthode originale RAST et permet la détermination simultanée du niveau d'IgE d'un patient pour de multiples allergènes spécifiques.⁶ Les résultats semiquantitatifs sont rapportés en utilisant un système de classification similaire à celui utilisé dans le test RAST. Tous les groupes CLA d'allergènes contiennent un contrôle interne qui certifie de la performance du test et compense pour la fixation aspécifique de l'échantillon du serum du patient. Le test CLA des IgE Allergène-Spécifiques associe la spécificité et la sensibilité de la méthode RAST à la convenance et la simplicité d'un test simultané non-isotopique de multiples allergènes.⁷

3 Principe de la Procédure

Le test CLA des IgE Allergène-Spécifiques utilise un petit instrument en plastique appelé une Chambre de Test qui permet d'exposer simultanément le sérum du patient à de nombreux allergènes ou mélanges d'allergènes. La Chambre de Test contient des petits segments de fil de cellulose, chacun avec un allergène ou un mélange d'allergènes associé de manière covalente. Chaque Chambre de Test contient aussi un Contrôle Négatif blanc et un Contrôle Positif de la Procédure.

Le test CLA des IgE Allergène-Spécifiques fonctionne en remplissant la Chambre Test avec le sérum d'un patient. Les IgE du sérum se lient à l'allergène couvrant les fils de cellulose pendant l'incubation. La Chambre Test est ensuite lavée avec un tampon pour éliminer les composants non

liés du sérum. Un anticorps anti-IgE marqué avec un enzyme est ensuite ajouté à la chambre et il se couple aux IgE du sérum liés aux fils. Après un deuxième lavage, la Chambre Test est remplie avec un mélange de photoréactifs qui agit avec les anticorps marqués pour produire de la chemoluminescence. La quantité de lumière émise par chaque fil est directement proportionnelle à la quantité d'IgE allergène-spécifique présent dans le sérum du patient.

4 Réactifs/Composants

Test CLA[®] des IgE Allergène-Spécifiques *

Conservé entre 2-8°C jusqu'à la date d'expiration. Ne pas congeler.

Description des Composants

Chaque Kit de 20 Tests Inclus

Chambres Test

20 chambres test

Allergènes spécifiques ou mélange d'allergènes
Liés de manière covalente aux fils de cellulose

Tampon de lavage Concentré

Deux bouteilles, 50 mL chacune

Solution qui est ensuite diluée
contient 0,01 M tampon phosphate,
0,1% Tween 20,
et 0,001% d'azide de sodium comme préservatif

Anticorps IgE

Une bouteille, 32 mL

Solution contenant:
Solution bleue contenant des anticorps de
chèvre anti-IgE humain marqués avec un enzyme,
0,01 M de tampon phosphate,
pH 7,2, des stabilisateurs de protéines,
0,1% Proclin[®] comme préservatif.

Photoréactif A

Une bouteille, 8 mL

Solution contenant:
14-30 mM 3-aminophthalhydrazide (luminol)

Photoréactif B

Une bouteille, 8mL

Solution contenant:
0,05 M tampon borate, pH 9,4

Photoréactif C

Une bouteille, 8 mL

Solution rouge contenant:
0,0025 M d'éthyle orange

Photoréactif D

Une bouteille, 8 mL

Solution contenant:
0,004 M peroxyde d'hydrogène

Bouchons en Caoutchouc (noires)
pour le haut des Chambres Test

44 Bouchons

Bouchons en Caoutchouc (blanches)
pour le bas des Chambres Test.

44 Bouchons

*Disponible en diverses configurations de kit. Contacter votre représentant local Hitachi Chemical Diagnostics pour plus de détails.

5 Précautions

- Le test CLA des IgE Allergène-Spécifiques est uniquement valable pour l'utilisation de diagnostic *in vitro*.
- Le Tampon Concentré de Lavage contient de l'azide de sodium comme préservatif. L'azide de Sodium est connu pour réagir avec le plomb ou le cuivre des plomberie et pour former des azides de métaux potentiellement explosifs. C'est pourquoi, il est recommandé de jeter avec précaution ce réactif et de toujours rincer avec un volume adéquate d'eau afin d'éviter la formation d'azide de métal dans le système de plomberie.⁸
- Ne pas utiliser les composants de ce kit après la date d'expiration. La date d'expiration est imprimée sur chacun des composants.
- Les réactifs composants les kits du test CLA des IgE Allergène-Spécifiques sont fournis comme lots concordants. Ne pas mélanger les réactifs de lots différents du kit.
- Une contamination à l'eau de javel peut interférer avec le test.

6 Préparation des Réactifs

Tampon de lavage:

- Laisser le Tampon de Lavage Concentré atteindre la température ambiante. Vérifier que tous les cristaux de sel sont bien dissous. Si des cristaux persistaient, placer la bouteille de Tampon de Lavage Concentré hermétiquement fermée dans un bûcher d'eau chaude jusqu'à la dissolution complète des cristaux.
- Rincer le distributeur de Tampon de Lavage et les tubes avec de l'eau distillée.
- Inverser doucement la bouteille de Tampon de Lavage Concentré plusieurs fois pour bien le mélanger.
- Ajouter le contenu de la bouteille de Tampon de Lavage Concentré 50 mL à 950 mL d'eau distillée ou déionisée dans un cylindre ou une fiole propre gradué de 1 L. Bien mélanger.
- Transférer la solution de Tampon de Lavage dans le distributeur.
- Une fois préparée, la solution de Tampon de Lavage peut être utilisée pendant 1 mois si elle est stockée à température ambiante (20-25°C) ou réfrigérée (2-8°C).

Solution d'Anticorps:

- Laisser la Solution d'Anticorps atteindre la température ambiante avant utilisation.
- Inverser doucement la bouteille de Solution d'Anticorps avant utilisation.
- La Solution d'Anticorps peut être utilisée jusqu'à la date d'expiration si elle est gardée réfrigérée (2-8°C) lorsqu'elle n'est pas en cours d'utilisation.

NOTE: Une bouteille de Solution d'Anticorps est suffisante pour une vingtaine (20) de Chambres Test de 36 allergènes.

Mélange des Photoréactifs :

Préparer le Mélange des Photoréactifs juste avant utilisation.

- Laisser les Photoréactifs A, B, C, et D atteindre la température ambiante.
- Utiliser une micropipette avec des embouts jetables, combiner des **parts égales de** Photoréactif A, B, C, et D dans un récipient. Un minimum de **350 µL de chaque** Photoréactif est requis par ChambreTest testée, par exemple, **1,4 mL** de Mélange de Photoréactif par Chambre Test.

NOTE: Afin d'éviter toutes contaminations entre les réactifs, utiliser un nouvel embout jetable par photoréactif.

- Remuer doucement le récipient pour mélanger.

NOTE: Le Mélange de Photoréactifs doit être utilisé dans les 60 minutes qui suivent sa préparation.

7 Instructions pour la Conservation

- Stocker les composants du kit entre 2-8°C. Si stockés comme indiqué, les composants peuvent être utilisés jusqu'aux dates d'expiration imprimées sur les étiquettes de chacun des composants.
- Ne pas congeler les composants du kit.
- Les Chambres Test sont emballées dans un sac plastique avec une éponge humide. S'assurer que le sac plastique est proprement scellé avant et après utilisation. Si l'éponge se dessèche, la réhumidifier avec le tampon de Lavage et sceller à nouveau le sac. Si les Chambres Test sont stockées dans leur sac scellé entre 2-8°C, elles peuvent être utilisées jusqu'à la date d'expiration imprimée.
- Ne pas utiliser les composants du kit si des signes de détérioration sont visibles. Les signes de détérioration incluent une odeur anormale, une apparence trouble et d'autres signes de contamination.

8 Prélèvement des échantillons et Préparation

Manipuler tous les échantillons des patients et utiliser les composants du kit comme recommandé pour tout prélèvement sérologique ou sanguin potentiellement infectieux. Suivre les Précautions Universelles ou autres

recommandations comme celles établies par votre institution quand il s'agit de travailler avec des échantillons de patient.⁹⁻¹¹

Le volume minimum de sérum humain requis **par Chambre Test individuelle** est comme suit:

- Une Chambre Test de 36 allergènes, 1,4 mL de sérum
- Une Chambre Test de 16 allergènes minimum, 0,8 mL de sérum

Le protocole suivant devra être utilisé lors du prélèvement, de la préparation et du stockage du sérum en vue de l'utilisation du test d'allergie CLA:

1. Prélèver 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 jeûn. Aucune préparation spéciale n'est nécessaire.

NOTE: Du sérum hémolysé ou lipémique peut affecter la performance du test CLA des IgE Allergène-Spécifiques.

2. Laisser le sang coaguler dans le tube pendant **1 heure** à température ambiante.
3. Centrifuger le sang coagulé pendant 10 à 20 minutes à 2000-3000 x g ou 2500-3600 rpm.
4. Transférer le sérum dans un tube plastique de stockage propre marqué de manière appropriée.
5. Les échantillons de sérum peuvent être stockés entre 2-8°C jusqu'à une semaine. Pour des périodes plus longues, stocker les échantillons congelés à -20°C.

NOTE: Ne pas congeler et décongeler de manière répétitive les échantillons sérologiques. Les échantillons congelés qui auront été décongelés devront être bien mélangés avant la centrifugation.

9 Procédure du Test

Se référer au *Guide Utilisateur & Manuel de Procédures* pour des instructions détaillées sur le fonctionnement du test.

Matériels Fournis

- Test CLA des IgE Allergène-Spécifiques (cf section 4, REACTIFS/COMPOSANTS)

Matériels Requis Mais Non Fournis

- L'Équipement du Kit CLA comprend:
 - Un support de travail, qui contient jusqu'à 40 Chambres Test
 - Un réservoir
 - Une bouteille distributeur de Tampon de Lavage de 2 L
 - Micropipette et embouts
 - Des coupes jetables de 50 mL
 - Des seringues de 3 cc
- Un cylindre gradué ou une fiole de 1 L pour la préparation du Tampon de Lavage
- Eau Déionisée ou distillée
- Des tubes de séparation du Sérum ou des tubes à bouchon rouge de 10 mL pour le prélèvement d'échantillons
- Centrifugeuse capable de tourner à 2000-3000 x g ou 2500-3600 rpm
- Des tubes propres de stockage en plastique pour la préparation des échantillons
- Papier absorbant
- Essuie-tout propres et sans ouate
- Système de Luminométrie CLA-1

Préparation des Chambres du test et des échantillons du Patient

1. **Re-centrifuger les échantillons de sérum** pendant 10 à 20 minutes à 2000-3000 x g ou 2500-3600 rpm immédiatement avant utilisation.

NOTE: L'Utilisation du frein de la Centrifugeuse peut causer un déplacement du culot et provoquer un fort bruit de fond et des résultats erronés. Enlever le frein de la Centrifugeuse avant de centrifuger les échantillons de sérum.

2. Enlever les Chambres Test (une par prélèvement) du sac plastique. Sceller à nouveau le sac plastique et remettre les Chambres Test non utilisées au réfrigérateur.
3. Essuyer l'humidité à l'extérieur de chaque Chambre Test.
4. Avec la grille colorée vers le bas, marquer chaque Chambre Test avec un numéro d'identification du patient approprié.

5. Enregistrer les numéros de lot du kit, la grille des numéros de lot et d'identifications du patient.
6. Doucement tapoter le haut de la Chambre Test sur un papier absorbant pour enlever tout résidu liquide à l'intérieur de la Chambre Test.

Procédure Standard

A. Remplir les Chambres Test avec le Sérum:

1. Attacher une seringue de 3 cc à l'extrémité d'une Chambre Test.
2. Insérer le dessous de la Chambre Test dans le tube contenant le sérum du patient. **Éviter tout précipité et/ou couche lipidique.**
3. Lentement retirer le piston de la seringue pour faire couler le sérum dans la Chambre Test jusqu'à ce que le haut du fil soit couvert. **S'assurer que le haut des fils soit complètement couvert par le sérum. Ceci limite la formation de bulles d'air, qui peuvent interférer avec les résultats du test.**

B. Boucher et Incuber les Chambres Test:

1. Avec la seringue encore attachée en haut de la Chambre Test, insérer le bouchon blanc au bas de la Chambre Test.
2. Enlever la seringue et insérer le bouchon noir en haut de la Chambre Test.

NOTE: Les bouchons doivent être bien enfoncés afin d'éviter les fuites.

3. Placer les Chambres Test remplies de sérum à la verticale sur le support du poste de travail.
4. Incuber à température ambiante pendant **16 à 24 heures**, en notant le début du temps de l'incubation.

C. Préparer le Tampon de Lavage comme indiqué dans la Section 6, PRÉPARATION DES REACTIFS.

D. Vider le Sérum:

1. Enlever le bouchon du bas de chaque Chambre Test et replacer à nouveau les Chambres Test sur le support du poste de travail.
2. Enlever le bouchon du haut de chaque Chambre Test afin de permettre au sérum de se vider dans le réservoir du poste de travail. Noter la fin du temps d'incubation.

E. Laver les Chambres Test:

1. Amorcer le distributeur de Tampon de Lavage pour enlever toutes les bulles d'air.
2. Attacher l'extrémité du tube du distributeur ouvert en haut de la première Chambre Test.
3. Laver séquentiellement chaque Chambre test une fois avec 10 mL de Tampon de Lavage en pressant la pompe du distributeur avec une force modérée.

NOTE: Permettre à chaque Chambre Test de se vider complètement avant de procéder à l'étape suivante.

4. Répéter l'étape 3 deux fois supplémentaires pour un total de 3 lavages.

NOTE: Les Chambres Test doivent être remplies avec la Solution d'Anticorps immédiatement après le lavage pour éviter aux fils de sécher.

F. Remplir les Chambres Test avec la Solution d'Anticorps:

1. Tapoter doucement le bas de l'embout de la Chambre Test sur du papier absorbant pour éliminer les traces de Tampon de Lavage.
2. Attacher une seringue de 3 cc en haut de la Chambre Test.
3. Placer le bas de la Chambre Test dans le récipient de la Solution d'Anticorps. Utiliser une coupe jetable pour garder la Solution d'Anticorps.
4. Retirer doucement le piston de la seringue pour vider la Solution d'Anticorps dans la Chambre Test jusqu'à ce que le haut des fils soit couvert.

NOTE: S'assurer que le haut des fils soit complètement couvert par la Solution d'Anticorps afin d'éviter la formation de bulles d'air qui pourrait interférer avec les résultats du test.

G. Boucher et Incuber les Chambres Test:

1. Insérer le bouchon blanc du bas dans la Chambre Test avec la seringue encore attachée au haut de la Chambre Test.
2. Enlever la seringue et insérer le bouchon noir du haut.
3. Stocker les Chambres Test remplies de réactif à la verticale sur le support du poste de travail. Incuber à température ambiante pendant **4 heures ± 15 minutes**, en notant le début du temps d'incubation.

H. Vider la Solution d'Anticorps:

1. Enlever le bouchon du bas de chaque Chambre Test et replacer à nouveau les Chambres Test sur le support du poste de travail.
2. Enlever le bouchon du haut de chaque Chambre Test afin de permettre au liquide de se vider dans le réservoir du poste de travail. Noter la fin du temps d'incubation.

I. Laver les Chambres Test trois (3) fois comme décrit dans les Etapes E1 à E4.

J. Préparer le Mélange des Photoréactifs comme indiqué dans la Section 6, PRÉPARATION des REACTIFS.

NOTE: Les Chambres Test doivent être remplies avec le mélange de Photoréactifs immédiatement après le dernier lavage afin d'éviter le dessèchement des fils.

K. Remplir les Chambres Test avec le mélange de Photoréactifs:

1. Tapoter doucement le bas de l'embout de la Chambre Test sur du papier absorbant pour éliminer les traces de Tampon de Lavage.
2. Attacher une seringue en haut de la Chambre Test.
3. Placer le bas de la Chambre Test dans le récipient du mélange de Photoréactifs.
4. Retirer doucement le piston de la seringue pour vider le mélange de Photoréactifs dans la Chambre Test jusqu'à ce que le haut des fils soit couvert. Ceci limitera la formation de bulles d'air qui pourrait interférer avec les résultats du test.

L. Boucher les Chambres Test:

1. Insérer le bouchon blanc du bas dans la Chambre Test avec la seringue encore attachée au haut de la Chambre Test.
2. Enlever la seringue et insérer le bouchon noir du haut.
3. Vérifier l'absence de fuite des Chambres Test.
4. Essuyer le mélange de Photoréactifs à l'extérieur des Chambres Test avec un essuie-tout propre, humide et sans ouate.

M. Incuber les Chambres Test pendant 20 minutes avant de lire au Luminomètre. Toutes les Chambre Test doivent être lues dans les 60 minutes qui suivent l'introduction des photoréactifs.

N. Pour lire les résultats, se référer au Guide Utilisateur & au Manuel de Procédures.

Procédure Alternative (Même jour)

NOTE: Des études internes ont démontré des réductions significatives de la sensibilité avec une procédure du même jour. Chaque laboratoire doit déterminer la convenance de la Procédure Alternative pour leur utilisation spécifique.¹²

Nécessite le Kit CLA de Rotation, comprenant:

- Assemblage principal avec le câble électrique
- Support des Chambres Test
- Instructions de l'opération
- Statpet, 750 µL

A. Remplir les Chambres Test avec le Sérum:

1. Attacher le Statpet (issu du Kit de Rotation) en haut de la chambre test.
2. Insérer le bas de la Chambre Test au tube contenant le sérum du patient. **Éviter les précipités et/ou la couche lipidique.**
3. Enfoncer et relâcher lentement le piston du Statpet pour vider le sérum dans la Chambre Test. La Chambre Test devra être uniquement remplie à moitié avec le sérum.

NOTE: Enfoncer le piston du Statpet avant d'insérer l'embout de la Chambre Test dans les échantillons sérologiques. L'injection d'air dans l'échantillon de sérum peut perturber le précipité au fond du tube de l'échantillon.

B. Boucher les Chambres Test, les Déposer sur le Rotateur et Tourner:

1. Avec le Statpet encore attaché en haut de la Chambre Test, insérer le bouchon blanc en bas de la Chambre Test.
2. Enlever le Statpet et insérer le bouchon noir en haut de la Chambre Test.

NOTE: Les bouchons doivent être poussés complètement pour empêcher toute fuite.

3. Pour couvrir tous les fils avec les séra, inverser d'un angle de 45° et tapoter doucement une extrémité de la Chambre Test bouchée plusieurs fois jusqu'à ce que le sérum s'écoule vers l'extrémité la plus basse. Ensuite inverser et répéter l'opération jusqu'à ce que le sérum s'écoule vers l'autre extrémité.
4. Déposer les Chambres Test dans le support du Rotateur CLA.
5. Faire tourner les Chambres Test comme indiqué:
 - a. Régler le minuteur du Rotateur pour **3 heures** et commencer la rotation. Noter les temps de début et de fin de la rotation pour l'incubation du sérum en rotation.
 - b. Vérifier le flux du sérum dans chaque Chambre Test pendant le mouvement du Rotateur.
 - c. Si le sérum ne coule pas régulièrement d'une extrémité à l'autre dans la Chambre Test :
 - i. Stopper le rotateur, enlever la Chambre Test et la tapoter contre la surface de la paillasse.
 - ii. Remettre la Chambre Test sur le support du Rotateur.
 - iii. Reprendre la rotation, contrôler le flux du sérum.
 - iv. Répéter si nécessaire.

De C à G. Exécuter comme décrit dans la Procédure Standard.

H. Boucher et Incuber les Chambres Test:

1. Insérer le bouchon blanc du bas dans la Chambre Test avec la seringue encore attachée.
2. Enlever la seringue et insérer le bouchon noir du haut.
3. Stocker la Chambre Test remplie de réactifs à la verticale sur le support du poste de travail. Incuber à température ambiante pendant **3 heures ± 15 minutes**, en notant le temps d'incubation.

Note: Ne pas faire tourner la Chambre Test pendant l'étape d'incubation avec la Solution d'Anticorps.

De I à N. Exécuter comme décrit dans la Procédure Standard.

10 Contrôle Qualité

A. Contrôle Interne des Fils

Chaque Chambre Test contient un Contrôle Positif de la Procédure et un Contrôle Négatif Blanc. Ces fils fonctionnent comme indicateurs internes pour chaque Chambre Test.

Contrôle Positif de la Procédure : Le Contrôle Positif de la Procédure vérifie la performance des réactifs du kit. Le Contrôle Positif de la Procédure doit générer une lecture équivalente ou supérieure à 243 ULs avec le Luminomètre CLA-1.

Contrôle Négatif Blanc: Le Contrôle Négatif Blanc compense pour toute fixation aspécifique d'IgE qui pourrait survenir. Le Contrôle Négatif Blanc doit générer une lecture équivalente ou inférieure à 33 ULs avec le Luminomètre CLA-1.

Résultats de Contrôles Internes Inacceptables: Si le résultat pour l'un ou l'autre des contrôles internes n'est pas dans les limites acceptables définies précédemment, les actions suivantes devront être suivies:

- Re-positionner la Chambre Test dans Cassette Pette (en s'assurant que la Chambre Test est bien insérée) et relire.
- Si les résultats sont encore inacceptables, se référer aux Sections 6 et 7 du *Guide Utilisateur & au Manuel de Procédures*.

B. Séra de Contrôle IgE Positif et Négatif

Hitachi Chemical Diagnostics recommande que chaque nouveau lot de réactifs et de Chambres Test du kit pour le test CLA d'IgE Allergène-Spécifiques soient testés avec deux niveaux de sérum de contrôle: Sérum de Contrôle CLA IgE Positif et Sérum de Contrôle CLA IgE Négatif. Pour les instructions sur leur utilisation et l'acceptabilité des résultats, se référer à la notice du packet des Séra Contrôles CLA IgE Positif et Négatif. Les agences de Régulation peuvent requérir une utilisation plus fréquente des Séra de Contrôle Positif et Négatif. Vérifier avec votre agence de Régulation pour les détails spécifiques.

11 Résultats

Le Luminomètre CLA-1 mesure la quantité de lumière émise par les fils dans les Chambres Test. Le Luminomètre CLA-1 mesure l'émission de lumière en unités de luminescence (ULs). Pour calculer la réponse des

IgE du patient, l'instrument soustrait automatiquement le niveau d'émission du fil du Contrôle Négatif Blanc à partir du niveau d'émission de chaque fil IgE spécifique. Les valeurs CLA Classées sont assignées de 0 à 4 basées sur la quantité de lumière émise par les fils individuels dans la Chambre Test. Ces valeurs compose le Système de comptage des Classes d'Allergie du test CLA des IgE Allergène-Spécifiques. Les quantités d'IgE associées avec les valeurs Classées CLA et les lectures de l'instrument sont listées dans le tableau suivant.

CLA Classe	ULs Nettes	Concentration d'IgE Allergène-Spécifique
4	>242	Niveau Très Elevé d'Anticorps Détectés
3	143-242	Niveau Elevé d'Anticorps Détectés
2	66-142	Niveau Modéré d'Anticorps Détectés
1	27-65	Faible Niveau d'Anticorps Détectés
0/1	12-26	Très Faible Niveau d'Anticorps Détectés
0	0-11	Aucun Anticorps Détectés

Les valeurs du Classement CLA de 1/0 ou plus représentent des concentrations croissantes progressives des anticorps allergène-spécifiques. Le Classement CLA 0 représente une absence ou des niveaux indétectables d'anticorps allergène-spécifiques.

12 Limitations de la Procédure

- Le sérum hémolysé ou lipémique peut affecter la performance du test CLA des IgE Allergène-Spécifiques.
- Le diagnostique clinique définitif et/ou le dosage pour l'immunothérapie ne devront pas être fondés seulement sur les résultats d'un seul test de diagnostique, mais devront être fait par le médecin après avoir évalué toutes les données cliniques et de laboratoire.
- Le Test CLA des IgE Allergène-Spécifiques fournit des résultats semiquantitatifs. La méthode n'a pas de niveau standard absolu et des niveaux de classification ont été arbitrairement assignés.
- Puisque la capacité de fixation pour un anticorps spécifique IgE peut varier d'un allergène à l'autre, des classifications similaires de différents allergènes ne sont pas forcément équivalentes cliniquement.
- Pour le test d'allergie alimentaires, les anticorps IgE en circulation peuvent ne pas être détectés si ils sont dirigés contre des formes altérées d'allergènes (cuits, traités, ou digérés) et les formes altérées ne sont pas présentes sous la même forme que les allergènes alimentaires utilisés dans ce test. Les résultats du test faux-positifs chez des personnes qui ont été testées pour des allergies alimentaires peuvent mener à des restrictions diététiques inappropriées, alors que les résultats faux-positifs chez des personnes sensibles à un aliment peut provoquer des réactions anaphylactiques de sévérité variée.
- Pour le test d'allergies inhalantes, des résultats faux-positifs peuvent mener à une médication inappropriée de ces personnes. Les résultats du test faux-négatifs peuvent mener à ne pas appliquer un traitement médical approprié.
- Si les valeurs d'IgE totales sont égales ou supérieures à 500 UL/mL, la réponse de faible niveau d'IgE allergène-spécifique doit être interprétée avec précaution.
- Des résultats Fiables et Reproductibles seront obtenus si la procédure du test est menée en complète concordance avec les instructions du produit pour son utilisation et l'application des procédures de contrôle de bonne qualité.
- La contamination à l'eau de Javel interfère avec le test. La verrerie qui aura été décontaminée avec de l'eau de Javel devra être rincée abondamment avec de l'eau distillée ou déionisée.

NOTE: L'utilisation de solutions à base d'alcool pour désinfecter la plateforme de travail est déconseillée car elle provoque un craquement du plastique et une panne prématurée du poste de travail.

13 Valeurs Attendues

Les Classes CLA ont été à l'origine déterminées via des études scientifiques afin d'établir des courbes de calibration en utilisant le sérum contenant des anticorps IgE spécifiques pour le Bouleau Blanc. Le seuil limite entre les résultats positif et négatif a été statistiquement établi comme deux dé-

viations standards au-dessus de la valeur moyenne de la population normale.⁶

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre échelle de référence attendue pour une population cible.

14 Caractéristiques d'Exécution pour la Procédure Standard

A. Précision¹²

Pendant le test: Cinq réplicats de quatre échantillons de sérum ont été testés dans un lot. Le coefficient moyen de variation des réponses de tous les allergènes testés, calculé en ULs nettes, a été 11,7%.

Entre chaque test: Cinq réplicats de quatre échantillons de sérum ont été testés sur quatre jours différents. Le coefficient moyen de variation des réponses de tous les allergènes testés, calculé en ULs nettes, a été 11,6%.

B. Sensibilité¹²

La limite de détection de ce test est de 10 ULs.

C. Spécificité¹²

Aucune réactivité croisée n'a été détectée entre les immunoglobulines IgA, IgM, IgG ou IgD du sérum humain aux niveaux physiologiques normaux.

D. Comparaison entre les Méthodes de test In Vitro d'Allergie¹²

En général, la concordance (calculée comme efficacité) entre chaque test in vitro CLA allergène et des tests alternatifs est approximativement de 95%; avec des concordances de l'ordre de 86% à 100%.

Note: Il n'existe pas de référence standard d'allergène disponible pour comparer entre différentes méthodes, ni pour la grande majorité des allergènes cliniquement importants.

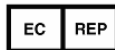
15 Bibliographie

1. Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook MM. *J Immunol* 1966;97:75.
2. Johansson SGO, Bennich H. *Immunol* 1967;13:381.
3. Kulczycki A. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:5.
4. Johansson SGO, Bennich HH, Berg T. *Prog Clin Immunol* 1972;1:157.
5. Homburger HA. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 1986;23:279.
6. Miller SP, Marinkovich VA, Riege DH, Sell WJ, et al. *Clin Chem* 1984;30:1467.
7. Agata H, et al. *Ann Allergy* 1993;70:153.
8. Safety Management No. CDC-22, *Decontamination of laboratory sink drains to remove azide salts*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control, April 30, 1976.
9. 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.
10. Richardson SH, Barkley WE, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. 2nd ed. Washington, DC: US Dept of Health and Human Services, 1988.
11. Federal OSHA Standard 1910.1030. *Bloodborne pathogens*. 29 CFR 1910.1030.
12. Data available upon request.

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



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

©2000, Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

CLA est enregistré sous la marque Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

Produit sous un ou plusieurs numéros de brevets des Etats Unis suivants: 3,941,876, 4,031,197, 4,459,360 (et brevets correspondants issus au Canada, Australie, Japon, Espagne, France, Allemagne, Italie, Suède et Grande Bretagne), 4,510,393, 4,558,013, 5,567,149 (et brevets correspondants issus au Canada, Australie, Japon, Espagne, France, Allemagne, Italie, Suède, Suisse, Autriche, Belgique, Pays-Bas, Luxembourg, et Grande Bretagne), 4,568,184, 285,485, 4,743,541 (et brevets correspondants issus au Canada, Australie, Japon, France, Allemagne, Suède, Suisse, et Grande Bretagne), et 5,082,768 (et brevet correspondant issu au Japon).