

HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

FOGLIO ILLUSTRATIVO PER LA CONFEZIONE INTERNAZIONALE DEL SAGGIO OPTIGEN®



Solo per uso diagnostico *in vitro*

Doc.No. 0649-ITA
Rev.: 04
Data di revisione: 10/13

1 Uso previsto

Il saggio OPTIGEN è un test *in vitro* da utilizzare per la determinazione semiquantitativa delle concentrazioni delle IgE allergene-specifiche circolanti nel siero umano. Ha lo scopo di supportare la diagnosi clinica dei disturbi allergici mediati da IgE, congiuntamente ad altri dati clinici. Il dispositivo è destinato all'uso nei laboratori clinici.

2 Riassunto e spiegazione del test

Le immunoglobuline E costituiscono una classe distinta di anticorpi sierici, che media le reazioni di ipersensibilità di Tipo 1, conosciute anche come allergia atopica. Quando i linfociti B immunocompetenti vengono stimolati dall'esposizione a un antigene (allergene), possono produrre anticorpi IgE allergene-specifici che si legano ai recettori presenti sui mastociti e sui leucociti basofili.

Se lo stesso allergene viene introdotto nel sistema per inalazione, per ingestione o attraverso il contatto cutaneo, l'allergene si lega agli anticorpi IgE legati alle cellule. Ciò scatena la degranolazione cellulare e il rilascio di amine vasoattive nei tessuti circostanti. Le amine vasoattive, come l'istamina, sono responsabili della contrazione della muscolatura liscia bronchiale, del prurito cutaneo, dell'edema localizzato e della perdita di liquidi extracellulari attraverso le barriere mucose, che caratterizzano le reazioni di ipersensibilità di Tipo 1.

Tra le manifestazioni cliniche più comuni delle reazioni di ipersensibilità di Tipo 1 ci sono la sinusite, l'asma, la dermatite, l'orticaria e in rari casi, lo shock anafilattico.

La valutazione del livello delle IgE allergene-specifiche nel siero di un paziente, congiuntamente a una valutazione clinica basata sull'anamnesi del paziente e sulle successive analisi, può aiutare il medico a confermare una diagnosi di allergia atopica e assisterlo nel trattamento del paziente.

3 Principio della procedura

Il saggio OPTIGEN impiega un piccolo dispositivo in plastica chiamato camera test per esporre simultaneamente il siero del paziente a diversi allergeni o miscele di allergeni. La camera test contiene una fase solida in polistirolo e dei micro-filamenti integrati, oltre a un controllo negativo in bianco e a un controllo positivo della procedura.

Il saggio OPTIGEN può essere eseguito manualmente o con il processore semiautomatico AP 720S™.

Il saggio si effettua riempiendo la camera test con il siero del paziente dopo una fase di prelavaggio. Durante l'incubazione del siero, l'IgE nel siero si lega ai pozzetti rivestiti con l'allergene. Dopo un periodo di incubazione, si lava la camera test con una soluzione tampone per rimuovere eventuali componenti del siero non legate.

Quindi si introduce nella camera test un anticorpo anti-IgE marcato con un enzima. L'anticorpo si accoppia con l'IgE legata ai pozzetti.

Dopo un secondo lavaggio, si riempie la camera test con una miscela fotoreagente che, combinata con l'anticorpo anti-IgE marcato con l'enzima, emette una luce prodotta chimicamente (cioè la chemiluminescenza). La quantità di luce emessa da ciascun pozzetto è direttamente proporzionale alla quantità di IgE allergene-specifica presente nel siero del paziente.

4 Reagenti/componenti

Saggio OPTIGEN

Conservare a 2-8°C fino alla data di scadenza. Non congelare.

Descrizione dei componenti

Camere test

La camera test contiene una fase solida in polistirolo e micro-filamenti integrati, ciascuno con un allergene o una miscela di allergeni.

Tampone di lavaggio concentrato

Una volta diluita, la soluzione contiene soluzione salina a tampone fosfato 0,01 M, Tween 20 0,1% e sodio azide 0,001% come conservante.

Reagente anticorpo

Soluzione contenente: soluzione di colore blu contenente IgE di capra anti-umane marcate con enzima, soluzione salina a tampone fosfato 0,01 M, pH 7,2, stabilizzanti proteici, Proclin 0,1% come conservante.

Fotoreagente AB

Soluzione contenente: idrazide 3-aminoftalica (luminol) 7-15 mM, potenziatore 5-25 µM e tampone borato 0,025 M, pH 9,4

Fotoreagente CD

Soluzione contenente: etilarancio 0,00125 M, perossido di idrogeno 0,002 M

Tappi per le camere test (superiori)

Tappi neri per la sommità delle camere test

Tappi per le camere test (inferiori)

Tappi bianchi per il fondo delle camere test

Ogni kit da 20 test comprende:

20 camere test

Un flacone, 50 ml

Un flacone, 16 ml

Un flacone, 8 ml

Un flacone, 8 ml

22 tappi

22 tappi

5 Precauzioni

- il saggio OPTIGEN è per uso diagnostico *in vitro*
- il tampone di lavaggio concentrato contiene sodio azide come conservante. È stato segnalato che la sodio azide reagisce con le tubature in piombo o in rame formando azidi metalliche potenzialmente esplosive. Agire con cautela quindi, quando si elimina questo reagente e sciacquare sempre con un volume adeguato di acqua per prevenire l'accumulo di azidi metalliche nei sistemi fognari¹.
- non utilizzare i componenti del kit dopo la data di scadenza. La data di scadenza è stampata su ciascun componente
- i reagenti che compongono i kit del saggio OPTIGEN vengono forniti in serie appaiate (cioè i reagenti e le camere test). Non miscelare con altre linee di prodotti, perché non compatibili
- è stato osservato che la contaminazione con candeggina interferisce con il test

6 Preparazione dei reagenti

Tampone di lavaggio:

- lasciare che il tampone di lavaggio concentrato raggiunga la temperatura ambiente, controllando che i cristalli di sale eventualmente formati durante la refrigerazione si siano dissolti. Se

i cristalli persistono, porre il flacone ben chiuso in un becher di acqua tiepida fino allo scioglimento di tutti i cristalli

- sciacquare l'erogatore del tampone di lavaggio e i connettori con acqua distillata
- capovolgere delicatamente il flacone del tampone di lavaggio concentrato diverse volte per miscelarlo
- aggiungere il contenuto del flacone del tampone di lavaggio concentrato (50 ml) a un flacone erogatore del tampone di lavaggio da 2 l
- riempirlo fino al livello di 1.000 ml con acqua distillata o deionizzata.
- mescolare accuratamente.
- una volta preparata, la soluzione del tampone di lavaggio può essere utilizzata al massimo per un mese se conservata a temperatura ambiente (20-25°C) o refrigerata (2-8°C)

Reagente anticorpo:

- prima dell'uso lasciare che il reagente anticorpo raggiunga la temperatura ambiente
- prima dell'uso capovolgere delicatamente il flacone del reagente anticorpo
- il reagente anticorpo può essere utilizzato fino alla data di scadenza se, quando non in uso, viene conservato refrigerato (2-8°C)
- un flacone di reagente anticorpo è sufficiente per venti (20) camere test OPTIGEN

Miscela dei fotoreagenti:

Preparare la miscela dei fotoreagenti subito prima dell'uso.

- prima dell'uso lasciare che i fotoreagenti AB e CD raggiungano la temperatura ambiente
- usando una micropipetta con punte monouso, combinare **parti uguali** dei fotoreagenti AB e CD. Prelevare 250 µl di liquido per ciascuna camera test da ogni flacone di fotoreagente AB e CD. Dispensare in un contenitore monouso
- **NOTA: utilizzare una nuova punta monouso per ciascun fotoreagente per evitare la contaminazione dei reagenti.**
- agitare delicatamente il contenitore per miscelare
- la miscela dei fotoreagenti deve essere usata entro 60 minuti dalla preparazione

NOTA: per ottenere risultati ottimali la miscela dei fotoreagenti deve essere usata immediatamente dopo la preparazione.

7 Istruzioni per la conservazione

- conservare i componenti del kit a 2-8°C. Quando conservati secondo le istruzioni, i componenti possono essere utilizzati fino alle date di scadenza stampate sulle etichette di ciascun componente
- non congelare i componenti del kit
- le camere test sono confezionate con un essiccante e devono essere correttamente sigillate dopo ogni utilizzo. Se conservate nella busta sigillata e refrigerate a 2-8°C, le camere test rimarranno stabili fino alla data di scadenza stampata sulle etichette/scatole del kit
- non utilizzare i componenti del kit in presenza di segni di deterioramento, che comprendono odore inusuale, aspetto torbido e altri indici di contaminazione

8 Raccolta e preparazione dei campioni

Manipolare tutti i campioni dei pazienti e i componenti dei kit usati secondo quanto consigliato per qualunque campione di sangue o di siero umano potenzialmente infetto. Nel manipolare i campioni dei pazienti seguire le precauzioni universali o altre linee guida secondo quanto stabilito dalla propria istituzione.²⁻⁴

Per il metodo manuale: il volume minimo di siero umano necessario per ciascuna camera test è il seguente:

- 500 µl per una camera test da > 20 allergeni
- 300 µl per una camera test da ≤ 20 allergeni

Per il metodo semiautomatico (con AP 720S), il volume minimo di siero umano necessario per ciascuna camera test è il seguente:

- 600 µl per una camera test da > 20 allergeni
- 490 µl per una camera test da ≤ 20 allergeni

Nel raccogliere, preparare e conservare il siero da utilizzare nel test per le allergie OPTIGEN, utilizzare il seguente protocollo:

1. Raccogliere un campione di sangue venoso in una provetta da 5 ml con separatore di siero o in una provetta con tappo rosso. Non è necessario che il paziente sia digiuno. Non è necessaria alcuna preparazione particolare.
NOTA: le provette con separatore di siero (SST, Serum Separator Tubes) contengono un materiale inerte che, quando centrifugato, separa il siero dalle cellule. L'emolisi può influire negativamente sulla performance del saggio per le allergie OPTIGEN.
2. Capovolgere delicatamente 3-5 volte la provetta per la raccolta del siero.
3. Apporre sulla provetta del campione un'etichetta con il nome del paziente e la data del prelievo.
4. Lasciare coagulare il sangue nel contenitore originale tappato per un periodo massimo di 2 ore a temperatura ambiente o fino a quando non avviene la coagulazione.
5. Centrifugare il sangue coagulato per 10-20 minuti a 2.000-3.000 x g o a 2.500-3.600 rpm nel contenitore originale tappato.
6. Trasferire il siero dalla provetta centrifugata a una provetta nuova, in plastica, adeguatamente etichettata, per la conservazione.
7. È possibile conservare i campioni di siero a 2-8°C per non più di una settimana. Per periodi più lunghi, congelare i campioni a -20°C.

NOTA: evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti dei campioni di siero. Prima della centrifugazione miscelare accuratamente i campioni congelati che sono stati scongelati. Dopo averli rimossi dalla conservazione e subito prima di eseguire il saggio, centrifugare nuovamente i campioni di siero per 10-20 minuti a 2.000-3.000 x g o a 2.500-3.600 rpm.

9 Procedura del saggio

Consultare la *Guida per l'utilizzatore OPTIGEN* (n. cat. 60501) e il *Manuale per l'operatore del luminometro CLA-1* (n. doc. 0277) per le istruzioni dettagliate sul funzionamento del test. Se si utilizza lo strumento semiautomatico AP 720S, consultare il Manuale di istruzioni di AP 720S (n. doc. 0780) e la Guida al pannello LCD di AP 720S (n. doc. 0781).

Materiali forniti

- Saggio OPTIGEN (vedere la sezione 4, REAGENTI/COMPONENTI)

Materiali necessari ma non forniti

- kit con apparecchiatura OPTIGEN, comprendente:
 - rastrelliera per la postazione di lavoro, che contiene fino a 40 camere test
 - serbatoio per la postazione di lavoro
 - flacone erogatore del tampone di lavaggio graduato da 2 l
 - vaschette monouso per i reagenti da 10 ml
 - siringa da 3 cc con luer lock
 - pipetta con controllo di volume elettronico o manuale (opzionale)
- cilindro graduato o matraccio da 1 l per la preparazione del tampone di lavaggio
- acqua distillata o deionizzata
- provette con gel separatore o provette con il tappo rosso da 10 ml o da 5 ml per la raccolta dei campioni
- centrifuga da 2.000-3.000 x g o da 2.500-3.600 rpm
- provette nuove, in plastica, per la preparazione dei campioni
- carta assorbente
- fazzolettini puliti che non lasciano residui
- sistema luminometrico CLA-1

Preparazione delle camere test e dei campioni dei pazienti

1. Centrifugare i campioni di siero immediatamente prima dell'uso, se il campione non è stato centrifugato nel giorno del test (vedere la sezione 8, Raccolta e preparazione dei campioni).
2. Togliere dalla busta le camere test (una per paziente).
3. Sigillare nuovamente la busta e riporre il kit in frigorifero.
4. Mantenendo le finestrelle rivolte in basso, etichettare ciascuna camera test con i dati identificativi del paziente.

NOTA: conservare il kit a 2-8°C, quando non utilizzato.

Procedura

A. Preparare il tampone di lavaggio secondo le indicazioni della sezione 6, PREPARAZIONE DEI REAGENTI

B. Reidratare la camera test

1. Innescare l'erogatore del tampone di lavaggio nel lavandino o nel serbatoio fino alla completa rimozione delle bolle d'aria.
2. Collegare l'estremità dell'erogatore alla sommità della prima camera test.
3. Lavare ogni camera test una volta con 10 ml di tampone di lavaggio premendo una sola volta moderatamente la pompa dell'erogatore.

NOTA: lasciar scolare completamente ogni camera test prima di procedere al passaggio successivo.

C. Aspirare il siero nella camera test

1. Picchiettare la camera test su carta assorbente per rimuovere il liquido residuo.
2. Collegare la siringa da 3 cc alla sommità della camera test.
3. Inserire il fondo della camera test nella provetta contenente il siero del paziente.

NOTA: evitare precipitati e/o strati lipidici.

4. Retrarre **lentamente** lo stantuffo della siringa per aspirare il siero nella camera test fino a coprire la finestrella superiore.

Controllare l'eventuale presenza di bolle.

NOTA: assicurarsi che la finestrella del controllo positivo sia completamente coperta dal siero.

D. Chiudere e incubare le camere test

1. Con la siringa ancora collegata alla sommità della camera test, inserire un tappo bianco sul fondo della camera test.
 2. Rimuovere la siringa e inserire un tappo nero sulla sommità della camera test.
- NOTA: premere a fondo i tappi per evitare perdite.**
3. Porre le camere test con il siero in posizione verticale nella rastrelliera della postazione di lavoro.
 4. Incubare a temperatura ambiente per **2 ore +/- 10 minuti**.

E. Drenare il siero

1. Rimuovere il tappo inferiore da ogni camera test e porre nuovamente la camera test nella rastrelliera della postazione di lavoro.
2. Rimuovere il tappo superiore da ogni camera test, lasciando scolare il siero nel serbatoio della postazione di lavoro.
3. Asciugare i tappi e conservarli per l'uso nei passaggi successivi.

F. Lavare le camere test

1. Innescare l'erogatore del tampone di lavaggio fino alla completa rimozione delle bolle d'aria
2. Collegare l'estremità dell'erogatore alla sommità della camera test.
3. Lavare ogni camera test con 10 ml di tampone di lavaggio premendo una sola volta moderatamente la pompa dell'erogatore.

NOTA: lasciar scolare completamente ogni camera test prima di procedere al passaggio successivo.

G. Riempire le camere test con il reagente anticorpo

1. Prima dell'uso lasciare che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente.
2. Prima dell'uso miscelare delicatamente il flacone dell'anticorpo.
3. Per evitare la contaminazione del reagente anticorpo, trasferire la quantità necessaria in una vaschetta monouso o in un altro contenitore.
4. Picchiettare delicatamente su carta assorbente il fondo della camera test per rimuovere i residui del tampone di lavaggio.
5. Collegare la siringa da 3 cc alla sommità della camera test.
6. Porre il fondo della camera test nel contenitore monouso con il reagente anticorpo.
7. Retrarre **LENTAMENTE** lo stantuffo della siringa per aspirare il reagente anticorpo nella camera test fino a coprire la finestrella superiore.

NOTA: assicurarsi che la finestrella superiore sia completamente coperta dal reagente anticorpo. Ciò limiterà la formazione di bolle d'aria che possono interferire con i risultati del test.

H. Chiudere e incubare le camere test

1. Inserire il tappo inferiore bianco sul fondo della camera test con la siringa ancora collegata alla sommità della camera test.
2. Rimuovere la siringa e inserire il tappo superiore nero.
3. Porre le camere test con il reagente in posizione verticale nella rastrelliera della postazione di lavoro. Incubare a temperatura ambiente per **2 ore +/- 10 minuti**, annotando l'ora di inizio dell'incubazione sul modulo di pianificazione.

NOTA: conservare i kit a 2-8°C, quando non utilizzati.

I. Drenare il reagente anticorpo

1. Rimuovere il tappo inferiore da ciascuna camera test e riporre ciascuna camera test nella rastrelliera della postazione di lavoro.
2. Rimuovere il tappo superiore da ogni camera test, lasciando scolare il liquido nel serbatoio della postazione di lavoro. Annotare l'ora finale dell'incubazione sul modulo di pianificazione.
3. Asciugare i tappi e conservarli per l'uso nei passaggi successivi.

J. Lavare le camere test

1. Innescare l'erogatore nel lavandino o nel serbatoio fino alla completa rimozione delle bolle d'aria.
2. Collegare l'estremità dell'erogatore alla sommità della prima camera test.
3. Lavare ogni camera test una volta con 10 ml di tampone di lavaggio premendo una sola volta moderatamente la pompa dell'erogatore.

NOTA: lasciar scolare completamente ogni camera test prima di procedere al passaggio successivo.

K. Preparare la miscela di fotoreagenti

1. Preparare la miscela dei fotoreagenti secondo le indicazioni della sezione 6, Preparazione dei reagenti.

NOTA: prima dell'uso lasciare che i fotoreagenti raggiungano la temperatura ambiente.

NOTA: per ottenere risultati ottimali utilizzare la miscela dei fotoreagenti immediatamente dopo la preparazione.

L. Riempire le camere test con la miscela dei fotoreagenti

1. Picchiettare delicatamente il fondo della camera test su carta assorbente per rimuovere i residui di tampone di lavaggio.
2. Collegare la siringa alla sommità della camera test.
3. Porre il fondo della camera test nel contenitore della miscela dei fotoreagenti.
4. Retrarre **LENTAMENTE** lo stantuffo della siringa per aspirare la miscela dei fotoreagenti nella camera test fino al completo riempimento della stessa.

NOTA: verificare che la finestrella superiore sia completamente coperta dalla miscela dei fotoreagenti.

M. Chiudere le camere test

1. Inserire il tappo inferiore bianco sul fondo della camera test con la siringa ancora collegata alla sommità.
2. Rimuovere la siringa e inserire il tappo superiore nero.
3. Verificare che non vi siano perdite di liquido dalle camere test chiuse
4. Asciugare l'eventuale fotoreagente fuoriuscito dalla camera test con un fazzolettino che non lascia residui pulito e umido.

N. Incubare per 10 minuti le camere test riempite

1. Lasciare incubare tutte le camere test per 10 minuti prima di leggerle nel luminometro. Tutte le camere test devono essere lette entro 60 minuti dall'applicazione del fotoreagente.
2. Per ulteriori informazioni sul funzionamento del luminometro consultare la sezione "Lettura dei risultati del test".

O. Lettura dei risultati del test con il luminometro CLA-1

NOTA: non aprire in nessun caso l'intelaiatura del luminometro CLA-1. L'apertura dell'intelaiatura INVALIDA la garanzia dello strumento, lo rende inutilizzabile e richiede la revisione in fabbrica, oltre a esporre l'operatore a lesioni gravi.

1. Caricare la camera test nel vassoio del caricatore.
 - a. Inserire la camera test nel caricatore secondo l'ordine indicato nel modulo di pianificazione di OPTIGEN.
 - b. Far scivolare la camera test con il tappo nero in avanti e la finestrella rivolta in alto, fino in fondo al vassoio del caricatore.
 - c. Verificare che non vi siano perdite di liquido dalle camere test caricate. Asciugare con un fazzolettino che non lascia residui pulito e umido.

2. Inserire il caricatore delle camere test nel luminometro CLA-1.
 - a. Premere una sola volta il tasto "OPEN/CLOSE" sul luminometro CLA-1 per aprire la porta di trascinamento.
 - b. Afferrare l'impugnatura del caricatore e inserire il vassoio caricato nella scanalatura di trascinamento, fino a sentire un clic.
 - c. Premere nuovamente il tasto "OPEN/CLOSE". A questo punto, il caricatore delle camere test è trasportato automaticamente all'interno del luminometro CLA-1 e la porta di trascinamento si chiude.
3. Programmare la lista di caricamento nel luminometro CLA-1
 - a. Identificare il riquadro caricato per ciascuna delle 5 posizioni nel caricatore delle camere test, utilizzando come guida il modulo di pianificazione del luminometro.
 - b. Premere i tasti "UP" o "DOWN" del luminometro CLA-1 per scorrere lungo le opzioni del riquadro.
 - c. Premere il tasto "ENTER" quando si visualizza l'opzione corrispondente alla posizione del caricatore secondo la lista.
 - d. Ripetere i passaggi appena descritti fino alla corretta programmazione nel luminometro CLA-1 di tutte le camere test contenute nel caricatore.
4. Leggere e stampare i risultati
 - a. Dopo aver programmato tutte e cinque le posizioni del caricatore, lo schermo del luminometro CLA-1 mostrerà una corrispondente "LISTA DI CARICO". Qualora corrisponda esattamente alle camere test nel caricatore, premere il tasto "ENTER" per dare inizio all'analisi.
 - b. Il luminometro CLA-1 stamperà i risultati del test in circa 1 minuto.
 - c. Scrivere il nome del paziente sui risultati del test stampati e allegare i risultati alla documentazione del test per il luminometro CLA-1.

Il luminometro CLA-1 misura la quantità di luce emessa dagli allergeni nelle camere test. Il luminometro misura l'emissione di luce in unità di luminescenza (UL). Per calcolare la risposta del paziente alle IgE, lo strumento sottrae automaticamente il livello di emissione del controllo negativo dal livello di emissione di ciascun allergene. I valori delle classi CLA sono compresi tra 0 e 4 sulla base della quantità di luce emessa dai singoli allergeni presenti nella camera test. Questi valori costituiscono il sistema di punteggio per l'allergia in classi CLA del saggio per le IgE allergene-specifiche OPTIGEN. Nella tavola che segue sono elencate le quantità di IgE associate ai valori delle classi CLA e alle letture dello strumento.

Classi CLA	UL	Livelli di anticorpi determinati Concentrazione di IgE allergene-specifiche
4	>242	Livelli anticorpali molto elevati
3	143-242	Livelli anticorpali elevati
2	66-142	Livelli anticorpali moderati
1	27-65	Bassi livelli anticorpali
0	0-26	Nessun anticorpo determinato

I valori delle classi CLA da 1 in su rappresentano concentrazioni crescenti di anticorpi allergene-specifici. La classe CLA 0 rappresenta l'assenza di anticorpi allergene-specifici o la presenza a livelli non determinabili.

12 Limiti della procedura

- i risultati misurati possono variare di +/- 1 classe. I risultati positivi con valore basso devono essere interpretati congiuntamente ai dati clinici
 - un siero emolizzato o lipemico può influire negativamente sulla performance del saggio OPTIGEN
 - la diagnosi clinica definitiva e/o i regimi posologici dell'immunoterapia non devono basarsi unicamente sui risultati di un singolo test diagnostico, ma devono essere impostati dal medico dopo aver valutato tutti i risultati clinici e di laboratorio
 - il saggio OPTIGEN fornisce risultati semiquantitativi. Non esistono standard assoluti per il metodo, al quale sono stati assegnati livelli arbitrari di classificazione
 - dal momento che la capacità di legame per l'anticorpo IgE specifico può variare da allergene a allergene, classificazioni simili di allergeni diversi non implicano necessariamente un'equivalenza clinica
 - quando si effettuano test per le allergie alimentari, gli anticorpi IgE circolanti possono non essere determinati nel caso in cui siano diretti verso forme alterate di allergeni (per esempio allergeni cotti, trattati o digeriti) e le forme alterate non siano presenti nella stessa forma degli allergeni alimentari usati nel test. Risultati falsi positivi in soggetti sottoposti al test per le allergie alimentari possono portare a restrizioni dietetiche inadeguate, mentre risultati falsi negativi in persone sensibili ad un alimento possono comportare reazioni anafilattiche di intensità variabile
 - quando si analizzano le allergie respiratorie, i risultati falsi positivi possono indurre a un trattamento inadeguato di questi soggetti; risultati falsi negativi possono indurre all'omissione di un adeguato trattamento medico
 - in presenza di valori totali di IgE superiori o uguali a 2500 UI/ml, una risposta con bassi livelli di IgE allergene specifiche va interpretata con cautela
 - eseguendo la procedura del saggio in totale conformità con le istruzioni per l'uso del prodotto e in osservanza delle procedure per un buon controllo di qualità, si ottengono risultati affidabili e riproducibili
 - è stato osservato che la contaminazione con candeggina interferisce con il test. Lavare accuratamente con acqua distillata o deionizzata la strumentazione di laboratorio contaminata con soluzioni di candeggina
- NOTA: l'uso di soluzioni alcoliche per disinfettare la postazione di lavoro provoca fenditure nella plastica e il suo cedimento prematuro.**

13 Valori attesi

Si raccomanda che ciascun laboratorio stabilisca il proprio intervallo di valori attesi in riferimento alla popolazione di interesse. Il valore di soglia tra risultati negativi e positivi è stato definito come tre deviazioni standard sopra il valore medio di una popolazione normale.

10 Controllo di qualità

A. Pozzetti per il controllo interno

Ciascuna camera test contiene un controllo positivo della procedura e un controllo negativo in bianco, che svolgono il ruolo di indicatori interni per ciascuna camera test.

Controllo positivo della procedura: il controllo positivo della procedura verifica la performance dei reagenti del kit. Il controllo positivo della procedura deve fornire una lettura maggiore o uguale a 243 UL nel luminometro CLA-1.

Controllo negativo in bianco: il controllo negativo in bianco compensa l'eventuale legame non specifico dell'IgE. Il controllo negativo in bianco deve fornire una lettura uguale o inferiore a 69 LU nel luminometro CLA-1.

Risultati inaccettabili del controllo interno: se un risultato di uno dei controlli interni è al di fuori dei limiti accettabili definiti sopra, è necessario:

- riposizionare la camera test nel caricatore (assicurandosi che la camera test sia inserita completamente) e ripetere la lettura qualora i risultati fossero ancora inaccettabili, consultare le sezioni 6 e 7

B. Sieri di controllo IgE-positivi e negativi

Hitachi Chemical Diagnostics consiglia di sottoporre ogni nuovo lotto di kit di reagenti e di camere test utilizzato per l'esecuzione del saggio per le IgE allergene-specifiche OPTIGEN a un test con due tipi di siero di controllo: siero di controllo IgE positivo e siero di controllo IgE negativo.

Gli organismi regolatori possono richiedere un utilizzo più frequente dei sieri di controllo positivi e negativi. Richiedere informazioni dettagliate agli organismi regolatori locali.

È possibile acquistare i sieri di controllo IgE positivi e negativi OPTIGEN da Hitachi Chemical Diagnostics, Inc. che li spedisce con il tabulato dei valori attesi. I sieri di controllo vengono spediti congelati e devono rimanere congelati fino all'utilizzo.

Per poter considerare i risultati attendibili i controlli interni e il siero di controllo devono essere conformi alle specifiche

11 Risultati

14 Caratteristiche di performance per la procedura standard

A. Precisione⁵

Intra-saggio: sono state eseguite dieci ripetizioni di siero in un lotto. Il coefficiente medio di variazione è stato calcolato per classe

Classe	% CV
1	31
2	16
3	16
4	5

Inter-saggio: sono state eseguite dieci repliche di un campione di siero in cinque giorni differenti. Il coefficiente medio delle risposte di tutti gli allergeni è stato calcolato per classe

Classe	% CV
1	25
2	15
3	9
4	1

B. Limite di determinazione⁵

Il limite di determinazione del saggio è compreso tra 12 e 26 UL ed è allergene-dipendente.

C. Specificità analitica⁵

Non esiste reattività crociata determinabile con le immunoglobuline IgA, IgM, IgG o IgD del siero umano ai normali livelli fisiologici.

D. Confronto tra i metodi in vitro per lo studio delle allergie⁵

In media, la concordanza (calcolata come efficienza) tra ciascun saggio in vitro per allergeni CLA e il test alternativo *in vitro* è del 90% circa; l'intervallo delle concordanze è compreso tra l'83% il 98%.

Nota: non sono disponibili allergeni di riferimento standardizzati per il confronto tra i metodi, né per la grande maggioranza degli allergeni di rilevanza clinica.

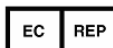
15 Bibliografia

1. Safety Management No. CDC-22, *Decontamination of laboratory sink drains to remove azide salts*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control, April 30, 1976.
2. 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.
3. Richardson SH, Barkley WE, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. 2nd ed. Washington, DC: US Dept of Health and Human Services, 1988.
4. Federal OSHA Standard 1910.1030. *Bloodborne pathogens*. 29 CFR 1910.1030.
5. Dati disponibili su richiesta.

Per l'assistenza tecnica, contattare Hitachi Chemical Diagnostics. Al di fuori degli Stati Uniti, contattare il rappresentante locale di 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
Regno Unito
Tel. +44 (0) 1628 585 590
Fax. +44 (0) 1628 585 594

©2010, Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
OPTIGEN è un marchio registrato di Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

Fabbricato in base a uno o più dei seguenti brevetti USA n.: 3,941,876, 4,031,197, 4,459,360 (e corrispondenti brevetti rilasciati in Canada, Australia, Giappone, Spagna, Francia, Germania, Italia, Svezia e Gran Bretagna), 4,510,393, 4,558,013, 5,567,149 (e corrispondenti brevetti rilasciati in Canada, Australia, Giappone, Spagna, Francia, Germania, Italia, Svezia, Svizzera, Austria, Belgio, Paesi Bassi, Lussemburgo e Gran Bretagna), 4,568,184, 285,485, 4,743,541 (e corrispondenti brevetti rilasciati in Canada, Australia, Giappone, Francia, Germania, Svezia, Svizzera e Gran Bretagna) e 5,082,768 (e corrispondente brevetto rilasciato in Giappone).