

HITACHI

 Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

NOTICE INTERNATIONALE POUR LE TEST ALTERNATIF DE DILUTION AP 1800 CLA® DES IgE ALLERGÈNE- SPECIFIQUES

Uniquement pour une utilisation de diagnostic *in vitro*

Doc.No 0716
DCO 9680 Rev.: 03
Rev. Date: 4/20/09

1 Utilisation prévue

Le test AP 1800 CLA® des IgE Allergène-Spécifiques est un test *in vitro* conçu pour déterminer semi-quantitativement les concentrations d'IgE allergènes-spécifiques dans le sérum humain, au moyen de l'automate AP 1800. La méthode de dilution a été développée ; elle peut être utilisée quand le volume disponible de l'échantillon du patient est insuffisant pour permettre le test sans dilution. La méthode intègre une modification des seuils décrite plus loin. Une fois ce changement de seuils mis en œuvre, seuls les échantillons dilués peuvent être utilisés sur l'instrument. Les méthodes de dilution entraîneront une baisse de la sensibilité et/ou de la spécificité comme indiqué dans la section 13.

2 Principe de la procédure

Le test AP 1800 CLA® des IgE allergène-spécifiques utilise une cuve en plastique appelé Chambre de Test qui permet d'exposer le sérum du patient simultanément à un certain nombre d'allergènes ou de mélanges d'allergènes. La Chambre de Test contient des petits segments de fil de cellulose, chacun étant lié de façon covalente à un allergène ou à un mélange d'allergènes. Chaque Chambre de Test contient aussi un Contrôle positif de la procédure, un Contrôle négatif blanc ainsi qu'un Contrôle indicateur de sérum.

Le test CLA® des IgE allergène-spécifiques est réalisé avec l'AP 1800, qui remplit une Chambre de Test avec le sérum du patient. L'échantillon doit être utilisé exactement comme défini dans la notice du test, doc n° 0665. Une autre procédure est disponible dans laquelle l'échantillon de sérum du patient peut être dilué au 1/2, c'est à dire que l'échantillon du patient et le diluant d'échantillon AP1800 sont en quantités égales. Cette procédure ne doit être utilisée que lorsqu'il n'y a pas assez d'échantillon du patient pour effectuer le test sans dilution. Les IgE présentes dans le sérum se lient aux allergènes recouvrant les fils de cellulose pendant l'incubation. La Chambre de Test est alors automatiquement lavée avec un tampon pour éliminer tous les éléments du sérum qui ne sont pas liés. Un anticorps anti-IgE marqué avec un enzyme est alors ajouté à la chambre et se fixe sur les IgE sériques liées aux fils. Après un deuxième lavage, la Chambre de Test est remplie avec un mélange de photoréactifs qui réagit avec les anticorps marqués pour produire une émission de lumière. La quantité de lumière émise par chaque fil est directement proportionnelle à la quantité d'IgE allergène-spécifiques présentes dans le sérum du patient.

3 Réactifs/Composants

Trousse de diluant d'échantillon AP 1800 :
Conserver à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation. Ne pas congeler.

Produits nécessaires :

Trousse de diluant d'échantillon AP1800 : 3 flacons, 100 ml
Solution contenant :

sérum physiologique et tampon phosphate 0,01 M,
3% polyéthylène glycol,
sérum de cheval 10 %, surfactant, agent de conservation
et colorant jaune.

4 Précautions

- Le test AP 1800 CLA® des IgE allergène-spécifiques est destiné au diagnostic *in vitro*.
- Ne pas utiliser les éléments de la trousse après la date limite d'utilisation. La date limite d'utilisation est imprimée sur chaque composant.
La trousse de réactifs du test AP 1800 CLA® des IgE allergène-spécifiques est universelle et peut être utilisée avec différents types de pipettes.
- Inverser doucement la bouteille de diluant d'échantillon plusieurs fois pour bien la mélanger

5 Instructions pour la conservation

- Conserver les éléments de la trousse à 2-8 °C. S'ils sont conservés comme indiqué, les éléments peuvent être utilisés jusqu'aux dates limites d'utilisation imprimées sur les étiquettes de chacun des éléments.
- Ne pas congeler les éléments de la trousse.
- Ne pas utiliser les éléments de la trousse s'ils présentent des signes de détérioration. Les signes de détérioration comprennent une odeur inhabituelle, et autres indicateurs d'une contamination.

6 Préparation des échantillons et des Chambres de Test

Manipuler tous les échantillons des patients et les éléments de la trousse comme cela est recommandé pour tout prélèvement sérologique ou sanguin potentiellement infectieux. Suivre les précautions universelles ou toute autre recommandation établie par votre institution pour la manipulation des échantillons provenant de patients¹⁻³.

Le volume minimum de sérum humain nécessaire pour chaque Chambre de Test ayant un embout jetable est le suivant :

| |
|--|
| 1,5 ml de sérum pour une Chambre de Test à 33 allergènes |
| 1,4 ml de sérum pour une Chambre de Test à 28 allergènes |
| 1,1 ml de sérum pour une Chambre de Test à 18 allergènes |

Le protocole suivant devra être utilisé lors du prélèvement, de la préparation et de la conservation du sérum destiné à un test d'allergie AP 1800 CLA :

- Prélever du sang veineux dans un tube de séparation du sérum de 10 ml ou dans un tube à bouchon rouge. Il n'est pas nécessaire que le patient soit à jeun. Aucune préparation spéciale n'est nécessaire.

REMARQUE : Un sérum hémolysé ou lipémique peut avoir un impact négatif sur les performances du test AP 1800 CLA® des IgE allergène-spécifiques.

- Laisser le sang coaguler dans le tube pendant 1 heure à température ambiante.
- Centrifuger le sang coagulé pendant 10 à 20 minutes à 2000-3000 g ou 2500-3600 rpm.

REMARQUE : L'utilisation du frein de la centrifugeuse peut provoquer un déplacement du culot et aboutir à des résultats erronés avec un bruit de fond important. Enlever le frein de la centrifugeuse avant de centrifuger les échantillons de sérum.

4. Transférer le sérum dans un tube de conservation en plastique, propre et étiqueté de façon appropriée.
5. Les échantillons de sérum peuvent être conservés à 2-8 °C pendant une semaine maximum. Pour des durées plus longues, congeler les échantillons à -20 °C.

REMARQUE : Il faut éviter de répéter des cycles de congélation/décongélation des échantillons de sérum. Les échantillons congelés qui ont été décongelés doivent être soigneusement mélangés avant la centrifugation.

6. Sortir les Chambres de Test du sac en plastique. Refermer hermétiquement le sac en plastique et remettre le matériel non utilisé au réfrigérateur.
7. Essuyer l'humidité présente à l'extérieur de chaque Chambre de Test. Tapoter doucement l'extrémité de la Chambre de Test sur du papier absorbant pour éliminer tout liquide résiduel de l'intérieur de la Chambre de Test.

7 Dilution de l'échantillon de sérum

Cette procédure ne doit être utilisée que lorsque le volume de l'échantillon du patient est insuffisant pour utiliser le protocole normal. La sensibilité observée avec cette méthode sera plus faible comme indiqué à la Section 13.

1. Déterminer le volume de sérum nécessaire conformément à ce qui est indiqué à la Section 6.
2. Préparez une dilution au 1/2 du sérum en ajoutant en quantités égales l'échantillon de sérum du patient et le diluant d'échantillon AP1800 dans un tube propre.
3. Mélanger et ajouter les sérums dilués aux coupelles d'échantillons à usage unique.
4. Suivez la procédure normale.
5. Sinon, contactez votre distributeur pour mettre en œuvre les modifications de seuils de la classe dans le logiciel AP1800DMS

NOTE : Une fois les modifications des seuils de classe mis en œuvre, seuls les échantillons dilués peuvent être analysés.

8 Procédure du test

Se reporter au Guide de l'utilisateur AP 1800 pour des instructions détaillées sur le test AP 1800 CLA® des IgE allergène-spécifiques et l'appareil AP 1800.

9 Contrôle de la qualité

A. Fils de contrôle interne

Chaque Chambre de Test contient un contrôle positif de la procédure, un contrôle négatif blanc ainsi qu'un contrôle indicateur de sérum. Ces fils fonctionnent comme indicateurs internes pour chaque Chambre de Test.

Contrôle positif de la procédure : le contrôle positif de la procédure vérifie la performance des réactifs de la trousse. Le contrôle positif de la procédure doit générer un résultat supérieur ou égal à 243 UL dans l'AP 1800.

Contrôle négatif blanc : le contrôle négatif blanc compense toute liaison d'IgE non spécifiques qui aurait pu survenir. Le contrôle négatif blanc doit générer un résultat inférieur ou égal à 9 UL dans l'AP 1800.

Contrôle indicateur de sérum : le contrôle indicateur de sérum sert à prouver que le sérum du patient a été aspiré au sommet de la

Chambre de Test. Par mesure de précaution, si le sérum n'atteint pas le sommet de la Chambre, l'AP 1800 ne donnera pas les résultats du test.

B. Sérums de contrôle positif et négatif pour les IgE

Hitachi Chemical Diagnostics recommande que chaque nouvel ensemble de réactifs du Test AP 1800 CLA® des IgE allergène-spécifiques et de Chambres de Test soit testé avec deux niveaux de contrôle : le réactif de contrôle positif AP 1800 et le réactif de contrôle négatif AP 1800. Pour des instructions concernant leur utilisation et l'acceptabilité des résultats, se reporter à la notice présente dans l'emballage des réactifs de contrôle positifs et négatifs AP 1800. Les agences réglementaires peuvent demander que les contrôles positifs et négatifs soient utilisés plus fréquemment. Renseignez-vous auprès de votre agence réglementaire pour les détails spécifiques.

10 Résultats

L'AP 1800 mesure la quantité de lumière émise par les fils présents dans les Chambres de Test. L'AP 1800 mesure les émissions lumineuses en unités de luminescence (UL). Pour calculer la réponse des IgE du patient, l'appareil soustrait automatiquement le niveau d'émission du contrôle négatif blanc du niveau d'émission de chaque fil spécifique d'IgE. Les valeurs de classe CLA sont fixées de 0 à 6, en fonction de la quantité de lumière émise par chaque fil de la Chambre de Test. Ces valeurs constituent le système de score allergique des Classes CLA du test AP 1800 CLA des IgE Allergène-Spécifiques. Un autre système de score a été développé et validé pour la méthode de dilution. Les quantités d'IgE associées aux valeurs de Classe CLA et aux résultats donnés par l'appareil sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Système de score allergique des classes CLA avec méthode de dilution pour l'AP1800 :

| Classe CLA | UL nettes | Concentration d'IgE allergènes-spécifiques |
|------------|-----------|--|
| 0 | 0-49 | Indétectable |
| 1 | 50-70 | Basse |
| 2 | 71-300 | moyenne |
| 3 | 301-1000 | Élevée |
| 4 | 1001-1400 | Très élevée |
| 5 | 1401-1650 | Très élevée |
| 6 | >1650 | Très élevée |

Les valeurs de Classe CLA égales ou supérieures à 1 représentent les concentrations progressivement croissantes d'anticorps spécifiques des allergènes. La Classe CLA 0 représente une absence ou un taux indétectable d'anticorps spécifiques des allergènes.

11 Limites de la procédure

- Un sérum hémolysé ou lipémique peut avoir un effet négatif sur les performances du test AP 1800 CLA® des IgE allergène-spécifiques.
- Un diagnostic clinique définitif et/ou le schéma d'administration d'une immunothérapie ne doit/doivent pas être uniquement basé(s) sur les résultats d'un test diagnostique unique, mais doit/doivent être décidé(s) par le médecin après une évaluation de l'ensemble des résultats cliniques et biologiques.
- Le test AP 1800 CLA® des IgE allergène-spécifiques fournit des résultats semi-quantitatifs. La méthode ne dispose d'aucune norme de référence absolue et les niveaux de classification lui ont été attribués de façon arbitraire.
- Dans la mesure où la capacité de liaison des anticorps IgE spécifiques peut varier selon l'allergène, la même classification utilisée pour les différents allergènes n'implique pas pour autant une équivalence sur le plan clinique.
- Lors de tests pour allergies alimentaires, les anticorps IgE circulants peuvent ne pas être détectés s'ils sont dirigés contre des formes modifiées d'allergènes (par exemple, cuits, traités ou digérés) ; les formes modifiées ne sont pas présentes dans la même forme que les allergènes alimentaires utilisés dans ce test. Les résultats faux-positifs chez des personnes testées pour allergies alimentaires

peuvent conduire à des restrictions alimentaires inappropriées tandis que les résultats faux-négatifs chez des personnes réagissant à la nourriture peuvent déboucher sur des réactions anaphylactiques de degré variable.

- Lors de l'étude d'allergies respiratoires, les résultats faux-positifs peuvent conduire à un traitement inapproprié de ces personnes. Des résultats faux-négatifs peuvent conduire à l'absence de traitement médical adapté.
- Le contrôle indicateur de sérum sert à prouver que le sérum du patient a été aspiré au sommet de la Chambre de Test. Il ne permet pas de s'assurer que la Chambre de Test a été complètement remplie avec le sérum du patient.
- Si les taux des IgE totales sont supérieurs à 1 000 UI/ml, une réponse faible des IgE allergène-spécifiques doit être interprétée avec prudence.
- Des résultats fiables et reproductibles seront obtenus si la procédure de test est menée en suivant rigoureusement le mode d'emploi du produit et en adhérant aux bonnes procédures de contrôle de la qualité.
- La contamination à l'eau de Javel interfère avec le test. Le matériel de laboratoire décontaminé avec une solution d'eau de Javel doit être abondamment rincé avec de l'eau distillée ou déminéralisée.

Italie, Suède et Grande-Bretagne), 4 510 393, 4 558 013, 5 567 149 (et brevets correspondants délivrés dans les pays suivants : 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 délivrés dans les pays suivants : Canada, Australie, Japon, France, Suède, Suisse, et Grande-Bretagne), et 5 082 768 (brevet correspondant délivré au Japon).

12 Valeurs attendues

Les Classes AP 1800 CLA® ont été déterminées à l'origine grâce à des études scientifiques visant à établir les courbes de calibrage au moyen de sérums contenant des anticorps IgE spécifiques contre de multiples allergènes.

13 Caractéristiques des performances

Comparaison du test d'allergie *in vitro* pour la méthode de dilution avec modification du seuil de classe

Les attentes en termes de performances sont : une sensibilité d'environ 80 % et une spécificité d'environ 98 % calculée par rapport à la méthode sans dilution⁴. Une sensibilité d'environ 85 % et une spécificité d'environ 95 % calculée par rapport à une autre méthode d'allergie *in vitro*.

Remarque : Il n'existe pas d'allergènes standardisés de référence permettant une comparaison entre les méthodes; il n'y en a pas non plus pour la grande majorité des allergènes d'intérêt clinique.

14 Références

1. 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.
2. Richardson SH, Barkley WE, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. 2nd ed. Washington, DC: US Dept of Health and Human Services, 1988.
3. Federal OSHA Standard 1910.1030. *Bloodborne pathogens*. 29 CFR 1910.1030.
4. Données disponibles sur demande.

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

Bureau des États-Unis
Hitachi Chimiques Diagnostics, Inc.
630 Clyde Court
Mountain View, California 94043
United States of America
Tél. (650) 961-5501
Fax : (650) 969-2745

Bureau européen
Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
Hitachi Europe Ltd.
Whitebrook Park
Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire SL6 8YA
Royaume-Uni
Tel 44 (0) 1628 585 590
Fax 44 (0) 1628 585 594

©2008, Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
CLA est une marque déposée de Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

Fabriqué sous un ou plusieurs numéros de brevets aux États-Unis : 3 941 876, 4 031 197, 4 459 360 (et brevets délivrés dans les pays suivants : Canada, Australie, Japon, Espagne, France, Allemagne,