

HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

NOTICE INTERNATIONALE POUR LE TEST AP 1800 CLA® Des IgE SPECIFIQUES

Pour une utilisation unique pour diagnostic *in vitro*

1 Utilisation prévue

Le test AP 1800 CLA® des IgE Spécifiques est un test *in vitro* pour la détermination semi-quantitative des concentrations sériques d'IgE spécifiques des allergènes circulantes chez les humains, au moyen de l'appareil automatisé AP 1800.

2 Principe de la procédure

Le test AP 1800 CLA® des IgE Spécifiques utilise un petit dispositif en plastique appelé Chambre de Test qui permet d'exposer simultanément le sérum du patient à un certain nombre d'allergènes ou de mélanges d'allergènes. Chaque Chambre de Test contient des petits segments de fil de cellulose, à chacun desquels un allergène ou un mélange d'allergènes est lié de manière covalente. 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 Spécifiques est réalisé avec l'AP 1800, qui remplit une Chambre de Test avec le sérum du patient. 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 constituants sériques qui ne sont pas liés. Un anticorps anti-IgE marqué avec un enzyme est alors ajouté à la chambre et il se fixe aux 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 de la chimioluminescence. La quantité de lumière émise par chaque fil est directement proportionnelle à la quantité d'IgE spécifiques des allergènes présente dans le sérum du patient.

3 Réactifs/Composition

Test AP 1800 CLA® des IgE Spécifiques

Conservé à 2-8°C jusqu'à la date de péremption. Ne pas congeler.

REMARQUE: Chaque kit de réactifs AP 1800 suffit pour une série de cinquante (50) chambres de tests.

Suivez les instructions du système de gestion des données (AP DMS) pour régler le volume des réactifs et du tampon de lavage nécessaire pour le nombre de chambres de tests de la série.

Matériels nécessaires :

Kit Pette:

Chambres de Test*

Allergènes spécifiques ou mélanges d'allergènes liés de manière covalente aux fils de cellulose

Chaque kit de test contient :

50 Chambres de Test

Kit de réactifs :

Tampon de lavage concentré Quatre flacons de 50 mL chacun
Solution qui, une fois diluée, contient une solution saline tamponnée au phosphate 0,01 M, du Tween 20 0,1 %, et de l'azide de sodium 0,001 % en tant qu'agent de conservation

Anticorps IgE

Un flacon, 100 mL

Solution contenant :

une solution de couleur bleue contenant des anticorps de chèvre anti-IgE humaines marquées avec une enzyme, 0,01 M une solution saline tamponnée au phosphate 0,01 M, pH 7,2, des stabilisateurs de protéines, Proclin® 0,1% en tant qu'agent de conservation.

Photoreactif I

Un flacon, 50 mL

Solution contenant :

3-aminophthalhydrazide (luminol) 15 M 4-[2'-(4'-méthyl)thiazolyl]phénol 11,5 µM tampon borate 0,025 M, pH 9,4

Photoreactif II

Un flacon, 50 mL

Solution de couleur rouge contenant :

orange d'éthyle 0,00125 M peroxyde d'hydrogène 0,0035 M

*Disponible dans différentes configurations de kits. Contacter votre représentant local Hitachi Chemical Diagnostics pour plus de détails.

Appareil AP 1800 :

AP 1800 Consommables

Godets pour échantillons à usage unique

Embouts Pette à usage unique

Éléments divers :

Eprouvette cylindrique ou flacon gradué(e), 1 L, pour la préparation du tampon de lavage ;

Eau distillée ou déminéralisée ;

Tubes de séparation du sérum ou tubes à bouchon rouge, 10 mL, pour le prélèvement des échantillons ;

Centrifugeuse pouvant tourner à 2000-3000 g ou 2500-3600 tr/min ;

Tubes de stockage propres, en plastique, pour la préparation des échantillons ;

papier absorbant ;

lingettes propres, non pelucheuses

4 Précautions

- Le test AP 1800 CLA® des IgE Spécifiques est destiné au diagnostic *in vitro*.
- Le Tampon de lavage concentré contient de l'azide de sodium en tant qu'agent de conservation. L'azide de sodium est connu pour réagir avec les canalisations en cuivre ou en plomb et former des azides métalliques potentiellement explosifs. Par conséquent, la prudence est de mise lors de l'élimination de ce réactif et il faut toujours rincer avec une quantité suffisante d'eau pour éviter l'accumulation d'azides métalliques dans la tuyauterie.¹
- Ne pas utiliser les éléments du kit après la date de péremption. La date de péremption est imprimée sur chaque élément. Le Kit de réactifs du test AP 1800 CLA® des IgE Spécifiques est universel et peut être utilisé avec différents kits Pette.
- La contamination à l'eau de Javel interfère avec le test.

5 Préparation des réactifs

Tampon de lavage :

- Laisser le Tampon de lavage concentré atteindre la température ambiante. Vérifier que tous les cristaux de sel sont dissous. S'il reste des cristaux, placer le flacon de Tampon de lavage concentré, hermétiquement fermé, dans un bœcher d'eau chaude jusqu'à leur dissolution complète.
- Rincer le flacon de Tampon de lavage avec de l'eau distillée.
- Inverser doucement le flacon de tampon de lavage concentré plusieurs fois pour le mélanger.
- Ajouter le contenu du flacon de Tampon de lavage concentré (50 mL) à 950 mL d'eau distillée ou déminéralisée dans une éprouvette cylindrique ou flacon gradué(e) et propre de 1 litre. Mélanger vigoureusement.
- Transférer la solution dans le flacon de tampon de lavage.
- Une fois préparée, la solution de Tampon de lavage peut être utilisée pendant une période pouvant atteindre 1 mois si elle est conservée à température ambiante (20-25 °C) ou réfrigérée (2-8 °C).

6 Instructions pour la conservation

- Conservé les éléments du kit à 2-8 °C. S'ils sont stockés comme indiqué, les éléments peuvent être utilisés jusqu'aux dates de péremption imprimées sur leurs étiquettes.
- Ne pas congeler les éléments du kit.
- Les Chambres de Test sont conditionnées dans un sac en plastique avec une éponge humide. S'assurer que le sac en plastique est correctement scellé avant et après utilisation. Si l'éponge sèche, l'humidifier avec du tampon de lavage et refermer hermétiquement le sac. Lorsqu'elles sont stockées dans un sac hermétiquement fermé à 2-8°C, les Chambres de Test peuvent être utilisées jusqu'à la date de péremption imprimée

- Ne pas utiliser les éléments du kit s'ils présentent des signes de détérioration. Les signes de détérioration comprennent une odeur inhabituelle, un aspect trouble et autres indicateurs de contamination.

7 Préparations des échantillons et des Chambres de Test

Manipuler tous les échantillons des patients et les éléments du kit utilisés tel que ceci est recommandé pour tout prélèvement sérique ou sanguin potentiellement infectieux. Respecter les Précautions Universelles ou toute autre recommandation émise par votre établissement pour la manipulation des échantillons provenant de patients²⁻⁴.

Le volume minimum de sérum humain nécessaire pour chaque Chambre de Test 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 observé lors du prélèvement, de la préparation et de la conservation du sérum devant être utilisé dans un test d'allergie AP 1800 CLA:

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

REMARQUE: Un sérum hémolysé ou lipémique peut affecter négativement les performances du test AP 1800 CLA® des IgE 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 2000-3000g ou 2500-3600 tr/min.

REMARQUE: L'utilisation du frein de la centrifugeuse peut entraîner un déplacement du culot et provoquer un fort bruit de fond et des résultats erronés. Arrêter le frein de la centrifugeuse avant de centrifuger les échantillons de sérum.

4. Transférer le sérum dans un tube de conservation approprié, en plastique, propre.
5. Les échantillons de sérum peuvent être conservés à 2-8 °C pendant une période pouvant atteindre une semaine. Pour conserver les échantillons plus longtemps, les congeler à -20°C.

REMARQUE Eviter de répéter la congélation/décongélation des échantillons de sérum. Les échantillons congelés qui ont été décongelés doivent être vigoureusement mélangés avant la centrifugation.

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

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 Spécifiques et l'appareil AP 1800.

9 Contrôle 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 des indicateurs internes pour chaque Chambre de 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 un résultat supérieur ou égal à 243 UL avec l'AP 1800.

Contrôle négatif blanc: le Contrôle négatif blanc compense toute liaison non spécifique aux IgE ayant pu survenir. Le Contrôle négatif blanc doit générer un résultat inférieur ou égal à 9 UL avec l'AP 1800.

Contrôle indicateur de sérum: le Contrôle indicateur de sérum sert à s'assurer 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 haut du tube, l'AP 1800 ne donnera pas les résultats du test.

B. Sérums de contrôle IgE Positif et Négatif

Hitachi Chemical Diagnostics recommande que chaque nouveau lot de réactifs du test AP 1800 CLA® des IgE allergène-spécifiques et des 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 d'utilisation des réactifs de contrôle positifs et négatifs AP 1800. Les Agences réglementaires pourront demander que les contrôles positifs et négatifs soient utilisés plus fréquemment. Renseignez-vous auprès de votre Agence réglementaire compétente 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 Fil de Contrôle négatif blanc du niveau d'émission de chaque fil spécifique des 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 Spécifiques. Les quantités d'IgE associées aux valeurs des Classes et aux résultats de l'appareil apparaissent dans la liste proposée dans le tableau ci-dessous.

Classe CLA	UL nettes	Concentration d'IgE spécifiques des allergènes
0	0-40	Indétectable
1	41-93	Basse
2	94-389	Moyenne
3	390-1237	Élevée
4	1238-1674	Très élevée
5	1675-1868	Très élevée
6	> 1868	Très élevée

Les valeurs de Classe CLA supérieures ou égales à 1 représentent des 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 affecter négativement les performances du test AP 1800 CLA® des IgE Spécifiques.
- Un diagnostic clinique définitif et/ou les régimes posologiques d'une immunothérapie ne doit/doivent pas être uniquement basé(s) sur les résultats d'un seul test diagnostique, 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 Spécifiques fournit des résultats semi-quantitatifs. La méthode ne dispose d'aucun étalon absolu et les niveaux de classification lui ont été attribués de façon arbitraire.
- Etant donné que la capacité de liaison des anticorps anti-IgE spécifiques peut varier d'un allergène à l'autre, des classifications similaires d'allergènes différents n'implique pas pour autant une équivalence sur le plan clinique.
- Lors de tests pour allergies alimentaires, les anticorps circulants anti-IgE peuvent n'être pas détectés s'ils sont dirigés contre des formes altérées d'allergènes (par exemple, cuits, traités ou digérés) ; les formes altérées ne sont pas présentes sous la même forme que celle des allergènes alimentaires utilisés dans ce test. Les résultats faux-positifs chez des personnes chez qui l'on recherche des allergies alimentaires peuvent conduire à des restrictions alimentaires inappropriées tandis que les résultats faux-négatifs chez des personnes réagissant à la nourriture peuvent aboutir à des réactions anaphylactiques de gravité variable.
- Lors de l'étude d'allergies respiratoires, les résultats faux-positifs peuvent conduire à un traitement médicamenteux inapproprié de ces personnes. Des résultats faux-négatifs peuvent conduire à l'absence de traitement médical adapté.
- Le Contrôle indicateur de sérum sert à s'assurer 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 d'IgE totales sont supérieurs à 1 000 UI/mL, une réponse faible des IgE spécifiques des allergènes 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 respectant les bonnes procédures de contrôle 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.

12 Valeurs attendues

A l'origine, les Classes AP 1800 CLA® ont été déterminées par des études scientifiques destinées à établir les courbes d'étalonnage en utilisant du sérum contenant des anticorps anti-IgE spécifiques dirigés contre de multiples allergènes. Le seuil limite entre les résultats positifs et négatifs a été établi statistiquement à trois écarts-types au-dessus de la valeur moyenne pour la population normale.

13 Caractéristiques de performance pour la procédure standard

A. Précision

Intra-test : cinq réplicats de trois échantillons de sérum ont été traités pendant quatre jours. La moyenne du coefficient de variation moyen de tous les allergènes testés, calculés en UL nets, était de 11,7 %.

Inter tests : trois échantillons de sérum et un test par sérum ont été traités pendant quatre jours. La moyenne du coefficient de variation moyen de tous les allergènes testés, calculés en UL nets, était de 13,7 %.

B. Sensibilité

La limite de détection du test est de 41 UL.

C. Spécificité

Aucune réactivité croisée n'a été détectée avec les immunoglobulines sériques humaines IgA, IgM, IgG, ou IgD aux taux physiologiques normaux.

D. Comparaison des méthodes de tests d'allergie *in vitro*

Les attentes en termes de performance sont une sensibilité ³ de 85 % et une spécificité ³ de 80 % par rapport à un autre système de test d'allergie. Dans une grande étude clinique (2700 entrées de données), on a montré que le dosage de l'IgE spécifique de l'allergène AP-1800 CLA avait une sensibilité de 88 %, une spécificité de 89 % et une concordance de 88 %.⁵

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 Bibliographie

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. Donnée accessible sur demande.

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

Bureau aux États-Unis

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc
630 Clyde Court
Mountain View, California 94043
Tel. (650) 961-5501
Fax (650) 969-2745

Bureau Européen et

Autorisé Le Représentant

(Mandataire)
Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
Hitachi Europe Ltd.
Whitebrook Park
Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire SL6 8YA
United Kingdom
44 (0) 1628 585 590

©2004, 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 correspondants délivrés dans les pays suivants : Canada, Australie, Japon, Espagne, France, Allemagne, 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, Allemagne, Suède, Suisse, et Grande-Bretagne), et 5 082 768 (et brevet correspondant délivré au Japon).