

HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

FOGLIO ILLUSTRATIVO PER LA CONFEZIONE INTERNAZIONALE PER IL SAGGIO CLA® PER IgE ANTI-ALLERGENI SPECIFICI



Per uso singolo diagnostico *in vitro*

Doc.No. 0625-04
Rev.: 05
Rev. Date: 0209

1 Applicazioni

Il Saggio CLA® per IgE anti-Allergeni Specifici è un test *in vitro* da usarsi per la determinazione semiquantitativa delle concentrazioni di IgE specifiche per allergeni circolanti nel siero umano.

2 Sommario e Spiegazione del Test

L'allergia atopica è una condizione di ipersensibilità immunologica mediata da una distinta classe di anticorpi del siero chiamate reagine che alla metà degli anni '60 fu identificata nelle Immunoglobuline E (IgE).^{1,2} I linfociti B immunocompetenti, quando sono stimolati da un allergene specifico, producono anticorpi IgE specifici per quell'allergene. L'anticorpo IgE si lega, attraverso la sua regione Fc, ai recettori sulla superficie dei mastociti e dei leucociti basofili.³ L'interazione successiva dell'allergene con l'IgE specifica legata alla cellula induce la degranolazione della cellula e il rilascio di ammine vasomotorie, causando la contrazione dei muscoli lisci, prurito, gonfiore e l'infiltrazione attraverso la mucosa di fluidi extracellulari. Le comuni manifestazioni cliniche del processo biologico sono febbre da fieno, asma, dermatite, orticaria e shock anafilattico. L'accertamento in un paziente del livello di IgE per vari allergeni è importante per la diagnosi e il trattamento dell'allergia atopica.^{4,5}

Il Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici è basato su una modificazione non isotopica del metodo originale RAST e permette la determinazione simultanea in un paziente del livello di IgE per un molteplice numero di allergeni specifici.⁶ I risultati semiquantitativi sono riportati usando un sistema di classificazione simile a quello usato nel test RAST. Tutti i pannelli di allergeni CLA hanno incorporato delle caratteristiche interne di controllo per accertare il rendimento del saggio e compensare le interazioni non specifiche nei campioni di siero di un paziente. Il Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici combina la specificità e la sensibilità dei metodi RAST con la convenienza e la semplicità di un saggio non isotopico che testa molteplici allergeni contemporaneamente.⁷

3 Principio della Procedura

Il Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici utilizza un piccolo dispositivo di plastica chiamato Camera Test per esporre il siero del paziente contemporaneamente a vari allergeni o a miscele di allergeni. La Camera Test contiene segmenti distinti di un filamento di cellulosa, ognuno con un allergene o una miscela di allergeni legati ad essa covalentemente. Ogni Camera Test contiene anche un Controllo Negativo Bianco e un Controllo Positivo della Procedura.

Il Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici è effettuato riempiendo una Camera Test con il siero del paziente. L'IgE nel siero si lega a filamenti di cellulosa ricoperti di allergeni durante l'incubazione. La Camera Test viene poi lavata con un tampone per rimuovere le componenti del siero

non legate. Anti-IgE marcate con un Enzima sono poi aggiunte alla camera e interagiscono con le IgE del siero legandosi ai filamenti. Dopo un secondo lavaggio, la Camera Test viene riempita con una miscela di fotoreagenti che reagisce con l'anticorpo marcato per produrre chemiluminescenza. L'intensità di luce emessa da ogni filamento è direttamente proporzionale alla quantità di IgE specifica per un allergene presente nel siero del paziente.

4 Reagenti/Componenti

Saggio CLA® per IgE anti Allergeni Specifici*

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

Descrizione Componenti

Ogni Kit da 20 Test Include

Camera Test Allergeni specifici o miscele di allergeni covalentemente legati a filamenti di cellulosa	20 camere test
Tampone di Lavaggio Concentrato Soluzione che una volta diluita contiene salina tamponata con fosfato 0,01 M, 0,1% Tween 20, e 0,001% sodio azide come conservante	Due bottiglie, 50 mL ognuna
Anticorpo IgE Soluzione contenente: Soluzione di colore blu contenente IgE anti-umana di capra marcata con Enzima, salina tamponata con fosfato 0,01 M, pH 7,2, stabilizzatori di proteine, 0,1% Proclin® come conservante.	Una bottiglia, 32 mL
Fotoreagente A Soluzione contenente: 14-30 mM 3-aminofalidrazide (luminolo)	Una bottiglia, 8 mL
Fotoreagente B Soluzione contenente: tampone borato 0,05 M, pH 9,4	Una bottiglia, 8 mL
Fotoreagente C Soluzione di colore rosso contenente: arancio di etile 0,0025 M	Una bottiglia, 8 mL
Fotoreagente D Soluzione contenente: perossido di idrogeno 0,004 M	Una bottiglia, 8 mL
Tappi di Gomma per le Camere Test (neri) Per la parte superiore delle Camere Test	55 tappi
Tappi di Gomma per le Camere Test (bianchi) Per la parte inferiore delle Camere Test	55 tappi

*Disponibile in varie configurazioni del kit. Contattare il vostro rappresentante locale della Hitachi Chemical Diagnostics per dettagli.

5 Precauzioni

- Il Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici è inteso per l'uso diagnostico *in vitro*.
- Il Tampone Concentrato di Lavaggio contiene sodio azide come conservante. È stato riportato che la sodio azide reagisce con il piombo o il rame delle tubazioni per formare delle azidi metalliche potenzialmente esplosive. Pertanto, fare attenzione quando si elimina questo reagente, e risciacquare sempre con un volume adeguato di acqua per prevenire l'accumulo di azidi metalliche nel sistema idraulico.⁸
- Non usare le componenti del kit dopo la data di scadenza. La data di scadenza è stampata su ogni componente.
- I reagenti che compongono i kit del Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici vengono forniti appaiati. Non mischiarli con lotti di reagenti di altri kit.
- La contaminazione con una soluzione di candeggina può interferire con il test.

6 Preparazione dei Reagenti

Tampone di Lavaggio:

- Lasciare che il Tampone Concentrato di Lavaggio raggiunga la temperatura ambiente. Controllare che tutti i cristalli salini si siano

sciolti. Se i cristalli permangono, mettere la bottiglia ben chiusa del Tampone Concentrato di Lavaggio in un becher con acqua tiepida finché tutti i cristalli si sono disciolti.

- Sciacquare l'Erogatore di Tampone di Lavaggio e i tubi con acqua distillata.
- Invertire delicatamente la bottiglia di Tampone Concentrato di Lavaggio alcune volte per miscelare.
- Aggiunge il contenuto della bottiglia di Tampone Concentrato di Lavaggio (50 mL) a 950 mL di acqua distillata o deionizzata in un cilindro graduato da 1 L o una beuta puliti. Miscelare completamente.
- Trasferire la soluzione nell'Erogatore di Tampone di Lavaggio.
- Dopo la preparazione, il Tampone di Lavaggio può essere usato fino a 1 mese quando è conservato a temperatura ambiente (20-25°C) o refrigerato (2-8°C).

Reagente Anticorpale:

- Lasciare che il Reagente Anticorpale raggiunga la temperatura ambiente prima dell'uso.
- Invertire delicatamente la Bottiglia di Reagente Anticorpale prima dell'uso.
- Il Reagente Anticorpale può essere usato fino alla data di scadenza se tenuto refrigerato (2-8°C) quando non viene usato.

NOTA: Una bottiglia di Reagente Anticorpale è sufficiente per venti (20) Camere Test da 36 allergeni.

Miscela di Fotoreagenti:

Preparare la Miscela di Fotoreagenti appena prima dell'uso.

- Lasciare che i Fotoreagenti A, B, C e D raggiungano la temperatura ambiente.
- Usando una micropipetta con puntali monouso, miscelare **parti uguali** dei Fotoreagenti A, B, C e D in un contenitore. Per ogni Camera Test usata sono necessari un minimo di **350 µL di ogni** Fotoreagente, cioè **1,4 mL** di Miscela di Fotoreagenti per Camera Test.

NOTA: Per evitare la contaminazione dei reagenti, usare un nuovo puntale monouso per ogni reagente.

- Roteare gentilmente il contenitore per miscelare.

NOTA: La Miscela di Fotoreagenti deve essere usata entro 60 minuti dalla miscelazione.

7 Istruzioni per la Conservazione

- Conservare i componenti del kit a 2-8°C. Se conservati come indicato, i componenti possono essere usati fino alla data di scadenza stampata sulle etichette dei singoli componenti.
- Non congelare i componenti del kit.
- Le Camere Test sono confezionate in un sacchetto di plastica con una spugnetta umida. Assicurarsi che il sacchetto di plastica sia correttamente sigillato prima e dopo l'uso. Se la spugnetta si essicca, inumidirla con il Tampone di Lavaggio e risigillare il sacchetto. Se conservate in sacchetti sigillati a 2-8°C, le Camere Test possono essere usate fino alla data di scadenza stampata.
- Non usare i componenti del kit se sono presenti segni di deterioramento. Segni di deterioramento includono odore inusuale, apparenza torbida e altre indicazioni di contaminazione.

8 Raccolta e Preparazione dei Campioni

Maneggiare tutti i campioni dei pazienti e usare i componenti del kit come raccomandato per ogni campione di sangue o siero umani potenzialmente infettivi. Seguire le Precauzioni Universali o altre linee guida come stabilito dalla vostra istituzione quando si maneggiano i campioni di pazienti.⁹⁻¹¹

Il volume minimo di siero umano necessario per una **singola** Camera Test è il seguente:

- Una Camera Test da 36 allergeni, 1,4 mL di siero
- Una Camera Test da 16 allergeni o meno, 0,8 mL di siero

Il protocollo seguente dovrebbe essere usato quando si raccoglie, prepara e conserva il siero da usare con il test per le allergie CLA:

1. Raccogliere un campione di sangue venoso in un tubo da 10 mL per la separazione del siero o in tubo con il tappo rosso. Non è necessario mettere il paziente a digiuno. Non sono necessarie preparazioni speciali.

NOTA: Un siero emolizzato o lipemico può influire negativamente sul rendimento del Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici.

2. Lasciar coagulare il sangue in un tubo per **1 ora** a temperatura ambiente.
3. Centrifugare il sangue coagulato per 10-20 minuti a 2000-3000 x g o 2500-3600 rpm.
4. Trasferire il siero in un tubo di plastica pulito, appropriatamente marcato per la conservazione.
5. I campioni di siero possono essere conservati a 2-8°C fino ad una settimana. Per periodi più lunghi, conservare i campioni congelati a -20°C.

NOTA: Evitare il congelamento e scongelamento ripetuto dei campioni di siero. I campioni congelati che sono stati scongelati dovrebbero essere miscelati completamente prima della centrifugazione.

9 Procedura del Saggio

Fare riferimento alla *Guida per l'Utilizzatore e Manuale Procedurale* per le istruzioni dettagliate sul funzionamento del test.

Materiali Forniti

- Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici (vedere la sezione 4, REAGENTI/COMPONENTI)

Materiali Necessari Ma Non Forniti

- Kit di apparecchiature CLA, comprendenti:
 - Rastrelliera per la postazione di lavoro, che contiene fino a 40 Camere Test
 - Serbatoio per la postazione di lavoro
 - Bottiglia per la distribuzione del Tampone di Lavaggio, 2 L
 - Micropipetta e puntali
 - Vaschette monouso per reagenti, 50 mL
 - Siringa da 3 cc
- Cilindro graduato o beuta, 1 L, per preparare il Tampone di Lavaggio
- Acqua deionizzata o distillata
- Tubi di separazione del siero o tubi con tappo rosso, 10 mL, per la raccolta dei campioni
- Centrifuga capace di velocità di 2000-3000 x g o 2500-3600 rpm
- Tubi in plastica puliti per conservare la preparazione dei campioni
- Salviette di carta assorbente
- Panni puliti che non si sfilacciano
- Sistema Luminometro CLA-1

Preparazione delle Camere Test e dei Campioni dei Pazienti

1. **Ri-centrifugare i campioni di siero** per 10-20 minuti a 2000-3000 x g o 2500-3600 rpm immediatamente prima dell'uso.

NOTA: L'uso del freno della centrifuga può provocare il distacco del pellet che risulterebbe in alti valori di fondo e risultati erranei. Disattivare il freno della centrifuga prima di centrifugare i campioni di siero.

2. Prendere le Camere Test (uno per campione) dal sacchetto di plastica. Risigillare il sacchetto di plastica e rimettere le Camere test non utilizzate nel frigorifero.
3. Asciugare l'umidità dall'esterno di ogni Camera Test.
4. Rivolgendo la griglia colorata verso il basso, marcare ogni Camera test con l'identificazione appropriata del paziente.
5. Registrare i numeri del lotto del kit, i numeri del lotto del pannello e le identificazioni del paziente.
6. Picchiare delicatamente la punta della Camera Test su un panno di carta assorbente per eliminare il liquido residuo dall'interno della camera test.

Procedura Standard

A. Riempire la Camera Test con il Siero:

1. Collegare la siringa da 3 cc alla parte superiore della Camera Test.
2. Inserire la parte inferiore della Camera Test nel tubo contenente il siero del paziente. **Evitare la formazione di precipitati e/o strati lipidici.**

3. Lentamente ritirare lo stantuffo della siringa per aspirare il siero nella Camera Test finché il filamento superiore è coperto.

Assicurarsi che il filamento superiore sia completamente coperto dal siero. Questo limiterà la formazione di bolle d'aria, che potrebbero interferire con i risultati del test.

B. Tappare e incubare le Camere Test:

1. Con la siringa ancora collegata alla parte superiore della Camera Test, inserire un tappo bianco nella parte inferiore della Camera Test.
2. Rimuovere la siringa e inserire un tappo nero nella parte superiore della Camera Test.

NOTA: I tappi devono essere completamente inseriti per evitare perdite.

3. Porre le Camere Test riempite di siero in posizione diritta nella rastrelliera nella postazione di lavoro.
4. Incubare a temperatura ambiente per **16-24 ore**, annotando l'ora d'inizio dell'incubazione.

C. Preparare il Tampone di Lavaggio come indicato nella Sezione 6, PREPARAZIONE DEI REAGENTI.

D. Rimuovere il Siero:

1. Rimuovere il tappo inferiore da ogni Camera Test e rimettere la Camera Test nella rastrelliera nella postazione di lavoro.
2. Rimuovere il tappo superiore da ogni Camera Test, lasciando che il siero scoli nel serbatoio della postazione di lavoro. Annotare l'ora della fine dell'incubazione.

E. Lavare le Camere Test:

1. Preparare l'erogatore del Tampone di Lavaggio in modo che tutte le bolle d'aria siano rimosse.
2. Collegare l'estremità del tubo dell'erogatore aperto alla parte superiore della prima Camera Test.
3. Lavare in sequenza ogni Camera Test una volta con 10 mL di Tampone di Lavaggio premendo sulla pompa dell'erogatore una volta con forza moderata.

NOTA: Lasciare che ogni Camera test sia completamente drenata prima di procedere al prossimo punto.

4. Ripetere il punto 3 altre due volte, per un totale di tre lavaggi.

NOTA: Le Camere Test devono essere riempite con il Reagente Anticorpale immediatamente dopo il lavaggio per evitare l'essiccamento dei filamenti.

F. Riempire le Camere Test con il Reagente Anticorpale:

1. Delicatamente picchiettare la parte inferiore della Camera Test su un panno di carta assorbente per eliminare tutto il Tampone di Lavaggio rimanente.
2. Collegare la siringa da 3 cc all'estremità superiore della Camera Test.
3. Porre la parte inferiore della Camera Test nel contenitore del Reagente Anticorpale. Usare la vaschetta monouso per tenere il Reagente Anticorpale.
4. Lentamente ritirare lo stantuffo della siringa per aspirare il Reagente Anticorpale nella Camera Test finché il filamento superiore è coperto.

NOTA: Assicurarsi che il filamento superiore sia completamente coperto dal Reagente Anticorpale. Questo limiterà la formazione di bolle d'aria, che potrebbero interferire con i risultati del test.

G. Tappare e Incubare le Camere Test:

1. Inserire un tappo bianco nella Camera Test con la siringa ancora collegata alla parte superiore della Camera Test.
2. Rimuovere la siringa e inserire il tappo nero nella parte superiore.
3. Porre in posizione diritta le Camere Test riempite di reagente nella rastrelliera nella postazione di lavoro. Incubare a temperatura ambiente per **4 ore ± 15 minuti**, annotando l'ora d'inizio dell'incubazione.

H. Rimuovere il Reagente Anticorpale:

1. Rimuovere il tappo inferiore da ogni Camera Test e rimettere la Camera Test nella rastrelliera nella postazione di lavoro.
2. Rimuovere il tappo superiore da ogni Camera Test, lasciando che il liquido scoli nel serbatoio della postazione di lavoro. Annotare l'ora della fine dell'incubazione.

I. Lavare le Camere Test tre (3) volte come descritto dal Punto E1 all'E4.

J. Preparare la Miscela di Fotoreagenti come indicato nella Sezione 6, PREPARAZIONE DEI REAGENTI.

NOTA: Le Camere Test devono essere riempite con la Miscela dei Fotoreagenti immediatamente dopo il lavaggio per evitare l'essiccamento dei filamenti.

K. Riempire le Camere Test con la Miscela dei Fotoreagenti:

1. Delicatamente picchiettare la parte inferiore della Camera Test su un panno di carta assorbente per eliminare tutto il Tampone di Lavaggio rimanente.
2. Collegare la siringa all'estremità superiore della Camera Test.
3. Porre la parte inferiore della Camera Test nella vaschetta monouso contenente la Miscela dei Fotoreagenti.
4. Lentamente ritirare lo stantuffo della siringa per aspirare la Miscela dei Fotoreagenti nella Camera Test finché la Camera Test è completamente riempita. Questo limiterà la formazione di bolle d'aria, che potrebbero interferire con i risultati del test.

L. Tappare le Camere Test:

1. Inserire un tappo bianco nella Camera Test con la siringa ancora collegata alla parte superiore della Camera Test.
2. Rimuovere la siringa e inserire un tappo nero nella parte superiore.
3. Controllare che non ci siano perdite dalle Camere Test tappate.
4. Eliminare tutta la Miscela dei Fotoreagenti dall'esterno delle Camere Test con un panno pulito, umido e che non si sfilaccia.

M. Incubare tutte le Camere Test per 10 minuti prima della lettura al Luminometro. La lettura di tutte le Camere Test deve essere fatta entro 60 minuti dall'introduzione del fotoreagente.

N. Per la lettura dei risultati fare riferimento alla Guida per l'Utilizzatore e Manuale Procedurale.

Procedura Alternativa (In Giornata)

NOTA: Studi interni hanno dimostrato riduzioni significative della sensibilità con la procedura condotta in giornata. Ogni laboratorio deve determinare la fattibilità della Procedura Alternativa per il proprio uso specifico.¹²

Necessita del Kit Rotore CLA, comprendente:

- Apparato principale con cavo d'alimentazione
- Rastrelliera per le Camere Test
- Istruzioni operative
- Pipetta Statpet, 750 µL

A. Riempire la Camera Test con il Siero:

1. Collegare la Statpet (dal Kit Rotore) alla parte superiore della Camera Test.
2. Inserire la parte inferiore della Camera Test nel tubo contenente il siero del paziente. **Evitare la formazione di precipitati e/o strati lipidici.**
3. Premere e rilasciare lentamente lo stantuffo della Statpet per aspirare il siero nella Camera Test. La Camera Test dovrebbe essere riempita solo fino a metà con il siero.

NOTA: Premere lo stantuffo della Statpet prima di inserire l'estremità della Camera Test nei campioni di siero. L'iniezione di aria nel campione di siero può disgregare il precipitato sul fondo del tubo.

B. Tappare le Camere Test, caricarle nel Rotore e far ruotare:

1. Con la Statpet ancora collegata alla parte superiore della Camera Test, inserire il tappo bianco inferiore nella parte inferiore della Camera Test.
2. Rimuovere la Statpet e inserire il tappo nero nella parte superiore della Camera Test.

NOTA: I tappi devono essere completamente inseriti per evitare perdite.

3. Per coprire tutti i filamenti con i sieri, invertire ad un angolo di 45° e picchiettare gentilmente un'estremità della Camera Test tappata alcune volte finché il siero scorre all'estremità inferiore. Poi invertire e picchiettare di nuovo finché il siero scorre all'estremità opposta.
4. Caricare le Camere Test nella Rastrelliera del Rotore CLA.
5. Ruotare le Camere Test come segue:
 - a. Programmare il timer per **3 ore** e iniziare la rotazione. Annotare le ore di inizio e di fine dell'incubazione in rotazione del siero.

- b. Controllare il flusso del siero in ogni Camera Test, mentre il Rotore è in movimento.
- c. Se il siero non scorre agevolmente da un'estremità all'altra della Camera Test:
 - i. Fermare il rotore, togliere la Camera Test e picchiettarla sulla superficie del banco.
 - ii. Rimettere la Camera Test nella rastrelliera del Rotore.
 - iii. Ricominciare la rotazione, osservare il flusso del siero.
 - iv. Ripetere se necessario.

Classi CLA	LU Nette	Concentrazione di IgE Specifiche per un Allergene
4	>242	Livelli molto alti di anticorpi rilevati
3	143-242	Livelli alti di anticorpi rilevati
2	66-142	Livelli moderati di anticorpi rilevati
1	27-65	Livelli bassi di anticorpi rilevati
1/0	12-26	Livelli molto bassi di anticorpi rilevati
0	0-11	Anticorpi non rilevati

C fino a G. Eseguire i punti come descritto nella Procedura Standard.

H. Tappare e Incubare le Camere Test:

1. Inserire un tappo bianco nella Camera Test con la siringa ancora collegata alla parte superiore.
2. Rimuovere la siringa e inserire un tappo nero nella parte superiore.
3. Porre in posizione dritta le Camere Test riempite di reagente nella rastrelliera nella postazione di lavoro. Incubare a temperatura ambiente per **3 ore ± 15 minuti**, annotando l'ora d'inizio dell'incubazione.

Nota: Non ruotare la Camera Test durante l'incubazione con il Reagente Anticorpale.

I fino a N. Eseguire i punti come descritto nella Procedura Standard.

10 Controllo di Qualità

A. Filamenti di Controllo Interno

Ogni Camera Test contiene un Controllo Procedurale Positivo e un Controllo Bianco Negativo. Questi filamenti funzionano da indicatori interni per ogni Camera Test.

Controllo Procedurale Positivo: Il Controllo Procedurale Positivo verifica il rendimento dei reagenti del kit. Il Controllo Procedurale Positivo deve generare una lettura maggiore o uguale a 243 LU nel Luminometro CLA-1.

Controllo Bianco Negativo: Il Controllo Bianco Negativo compensa ogni legame non specifico delle IgE che possa accadere. Il Controllo Bianco Negativo deve generare una lettura inferiore o uguale a 33 LU nel Luminometro CLA-1.

Risultati inaccettabili dei Controlli Interni: Se il risultato di uno dei controlli interni non è all'interno dei limiti accettabili definiti sopra, agire come segue:

- Ri-esporre la Camera Test nella Cassetta Pette (assicurarsi che la Camera Test sia completamente inserita) e rileggere.
- Se i risultati sono ancora inaccettabili, fare riferimento alle Sezioni 6 e 7 della *Guida per l'Utilizzatore e Manuale Procedurale*.

B. Sieri di Controllo Positivi e Negativi per le IgE

La Hitachi Chemical Diagnostics raccomanda che ogni nuovo lotto di reagenti del Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici e di Camere Test sia testata con due livelli di sieri di controllo: il Siero di Controllo CLA Positivo per le IgE e il Siero di Controllo CLA Negativo per le IgE. Per le istruzioni sul loro uso e l'accettabilità dei risultati, fare riferimento al Foglio Illustrativo della Confezione dei Sieri di Controllo CLA Positivi e Negativi per le IgE. Gli Enti di controllo potrebbero richiedere un utilizzo più frequente dei Sieri di Controllo Positivi e Negativi. Controllare con il vostro ente di controllo per i dettagli specifici.

11 Risultati

Il Luminometro CLA-1 misura l'intensità della luce emessa dai filamenti nella Camera Test. Il luminometro misura l'emissione di luce in unità di luminescenza (LU). Per calcolare la risposta delle IgE del paziente, lo strumento sottrae automaticamente il livello di emissione del Filamento di Controllo Bianco Negativo dal livello di emissione di ogni filamento di IgE specifico. I valori delle Classi CLA variano da 0 a 4 sulla base dell'intensità di luce emessa dai singoli filamenti nella Camera Test. Questi valori costituiscono il Sistema di Punteggio dell'Allergia nelle Classi CLA del Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici. Le quantità di IgE associate con i valori delle Classi CLA e con le letture dello strumento sono elencate nella tabella seguente.

I valori delle Classi CLA uguali o maggiori a 1/0 rappresentano concentrazioni progressivamente crescenti di anticorpi specifici per un allergene. La Classe CLA 0 rappresenta l'assenza o livelli non rilevabili degli anticorpi specifici per un allergene.

12 Limiti della Procedura

- Il siero emolizzato o lipemico può influire negativamente sul rendimento del Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici.
- La diagnosi clinica definitiva e/o i dosaggi per l'immunoterapia non dovrebbero essere basati solo sui risultati di un qualunque test diagnostico, ma il medico dovrebbe farli dopo che tutti i risultati clinici e di laboratorio sono stati valutati.
- Il Saggio CLA per IgE anti-Allergeni Specifici fornisce risultati semiquantitativi. Il metodo non ha uno standard assoluto e ad esso sono stati assegnati livelli arbitrari di classificazione.
- Siccome la capacità di legame di anticorpi IgE specifici può variare da allergene ad allergene, classificazioni simili di diversi allergeni non implicano necessariamente un'equivalenza clinica.
- Quando si testa l'allergia da cibo, gli anticorpi IgE in circolazione potrebbero non essere rilevati se sono diretti contro forme alterate di allergeni (per esempio cotti, trattati o digeriti) e la forma alterata non è presente nella stessa forma degli allergeni usati in questo test. Risultati falsi positivi del test in persone che vengono testate per le allergie da cibo possono portare a restrizioni dietetiche inappropriate, mentre i risultati falsi negativi in persone sensibili al cibo possono risultare in reazioni anafilattiche di varia severità.
- Quando si testano allergie per sostanze inalanti, i risultati falsi positivi possono portare a medicazioni improprie per quelle persone. Risultati falsi negativi del test possono portare alla mancanza di trattamento medico appropriato.
- Se i valori totali di IgE sono maggiori o uguali a 500 IU/mL, bassi livelli della risposta delle IgE specifiche per un allergene dovrebbero essere interpretati con cautela.
- Risultati affidabili e riproducibili vengono ottenuti quando la procedura del saggio è condotta in completo accordo con le istruzioni per l'uso del prodotto e l'aderenza alle procedure per il controllo della buona qualità.
- La contaminazione con una soluzione di candeggina può interferire con il test.
Il materiale da laboratorio che è stato decontaminato con una soluzione di candeggina deve essere risciacquata completamente con acqua distillata o deionizzata.

NOTA: L'uso di soluzioni a base di alcol per disinfettare la postazione di lavoro può produrre incrinature nella plastica e la prematura rottura della postazione di lavoro.

13 Valori Attesi

Le Classi CLA vennero determinate originariamente attraverso studi scientifici per stabilire le curve di calibratura usando un siero contenente anticorpi IgE specifici per la Betulla Bianca. Il valore limite tra i risultati positivi e negativi è stato stabilito statisticamente in due deviazioni standard al di sopra del valore medio della popolazione normale.⁶

Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento per la popolazione di interesse.

14 Caratteristiche di Rendimento per la Procedura Standard

A. Precisione¹²

Test Interno al Saggio: Cinque repliche di quattro campioni di sieri vennero testati in un gruppo. Il coefficiente medio della variazione delle risposte di tutti gli allergeni testati, quando calcolati come LU netti, era 11.7%.

Test tra Saggi: Cinque repliche di quattro campioni di sieri vennero testati in quattro giorni diversi. Il coefficiente medio della variazione delle risposte di tutti gli allergeni testati, quando calcolati come LU netti, era 11.6%.

B. Sensibilità¹²

Il limite di rilevazione del saggio è 10 LU.

C. Specificità¹²

Non c'è reattività incrociata rilevabile con le immunoglobuline del siero umano IgA, IgM, IgG o IgD ai normali livelli fisiologici.

D. Confronto fra i Metodi In Vitro per lo studio dell'Allergia¹²

In media, la concordanza (calcolata come efficienza) tra ogni saggio in vitro per allergeni CLA e quelli alternativi è approssimativamente 95%; l'intervallo di concordanza è 86% - 100%.

Nota: Non sono disponibili allergeni di riferimento standardizzati per il confronto tra metodi, né per la gran maggioranza degli allergeni clinicamente rilevanti.

15 Bibliografia

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. Dati disponibili su richiesta.

Per l'assistenza tecnica, siete pregati di contattare la Hitachi Chemical Diagnostics. Fuori degli Stati Uniti, siete pregati di contattare il vostro rappresentante locale della Hitachi Chemical Diagnostics.

Ufficio negli Stati Uniti

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

Ufficio Europeo e

**Rappresentante
autorizzato (Mandatario)**
Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
Hitachi Europe Ltd.
Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire SL6 8YA
United Kingdom
44 (0) 1628 585 590

©2000, Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
CLA è un marchio di fabbrica della Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

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