

HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

INTERNATIONALE PACKUNGSBEILAGE FÜR DEN OPTIGEN® TEST



Nur für die Einzelanwendung in der *in vitro* Diagnostik

Doc.No. 0649-GER
Rev.: 02

1 Verwendungszweck

Der OPTIGEN Test ist ein *in vitro* Test zur semiquantitativen Bestimmung der Konzentration zirkulierender allergenspezifischer IgE-Antikörper in Humanserum.

2 Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Immunglobuline vom Typ E sind Serumantikörper, die Hypersensitivitätsreaktionen vom Typ 1, auch bekannt als atopische Allergie, vermitteln. Werden immunkompetente B-Lymphozyten durch Kontakt mit einem Antigen (Allergen) stimuliert, können sie allergenspezifische IgE-Antikörper produzieren, die an Rezeptoren auf der Oberfläche von Mastzellen und basophilen Leukozyten binden. Gelangt dasselbe Antigen durch Einatmen, Verschlucken oder Hautkontakt nochmals in das System, wird es von den zellgebundenen IgE-Antikörpern gebunden. Die Folge ist eine Degranulierung von Zellen und eine Ausschüttung vasoaktiver Amine in die umliegenden Gewebe. Vasoaktive Amine, zu denen auch Histamin zählt, führen zur Kontraktion der glatten Bronchialmuskulatur, Hautjucken, lokale Schwellungen und transmurales Austritt von extrazellulärer Flüssigkeit, typische Reaktionen einer Hypersensitivität vom Typ 1.

Die häufigsten klinischen Manifestationen von Hypersensitivitätsreaktionen vom Typ 1 sind Sinusitis, Asthma, Dermatitis, Nesselausschlag und in seltenen Fällen anaphylaktischer Schock.

Die Bestimmung des Spiegels allergenspezifischer IgE-Antikörper im Serum eines Patienten in Verbindung mit einer klinischen Untersuchung auf der Grundlage der Krankengeschichte des Patienten kann die Diagnose einer atopischen Allergie unterstützen und wichtige Hinweise in Bezug auf die Behandlung des Patienten geben.

3 Testprinzip

Der OPTIGEN Assay verwendet eine kleine Plastikvorrichtung, die Pette bzw. Testkammer, um das Patientenserum gleichzeitig mit einer Reihe von Allergenen bzw. Allergenmischungen in Kontakt zu bringen. Die Pette enthält eine Festphase aus Polystyrol und integrierte Linsen, sowie eine negative Leerwertkontrolle und eine positive Verfahrenskontrolle.

Der OPTIGEN Assay wird durchgeführt, indem eine Pette nach einem Vorwasch-Schritt mit Patientenserum befüllt wird. Während der Inkubation bindet das IgE im Serum an die allergenbeschichteten Kammern. Danach wird die Pette mit Puffer gewaschen, um ungebundene Serumbestandteile zu entfernen.

Als nächstes wird ein enzymmarkierter Anti-IgE-Antikörper in die Pette gegeben. Der Antikörper bindet an das in den Kammern gebundene IgE. Nach einem zweiten Waschschritt wird die Pette mit einer Photoreagenz-Mischung gefüllt, die an den enzymmarkierten Anti-IgE-Antikörper bindet und dabei durch eine chemische Reaktion Licht (d.h. Chemilumineszenz) erzeugt. Die von jeder Kammer emittierte Lichtmenge ist direkt proportional zu der Menge an allergenspezifischem IgE im Serum des Patienten.

4 Reagenzien/Bestandteile

OPTIGEN Test

Bis zum Verfalldatum bei 2-8°C aufbewahren. Nicht einfrieren.

<u>Beschreibung der Bestandteile des Kits</u>	<u>Jeder Kit mit 20 Tests enthält</u>
Testkammern Jede Pette enthält eine Festphase aus Polystyrol und integrierte Linsen, jeweils mit einem Allergen oder einer Allergenmischung.	20 Petten
Waschpufferkonzentrat Enthält nach Verdünnung 0,01 M phosphatgepufferte Salzlösung, 0,1% Tween 20 und 0,001% Natriumazid als Konservierungsmittel.	Eine Flasche, 50 ml
Antikörperreagenz Blaue Lösung mit enzymmarkiertem Ziege-Anti-Human IgE, 0,01 M 0,01 M phosphatgepufferte Salzlösung pH 7,2, Protein stabilisatoren, 0,1% Proclin® als Konservierungsmittel.	Eine Flasche, 16 ml
Photoreagenz AB 7-15 mM 3-Aminophthalhydrazid (Luminol), 5-25 µM Enhancer und 0,025 M Boratpuffer, pH 9,4	Eine Flasche, 8 ml
Photoreagenz CD 0,00125 M Ethyl-Orange, 0,002 M Wasserstoffperoxid	Eine Flasche, 8 ml
Stopfen (oben) Schwarze Stopfen für die obere Öffnung der Pette.	22 Stück
Stopfen (unten) Weiße Stopfen für die untere Öffnung der Pette.	22 Stück

5 Vorsichtsmaßnahmen

- Der OPTIGEN Test ist nur für die Verwendung in der *in vitro* Diagnostik bestimmt.
- Das Waschpufferkonzentrat enthält Natriumazid als Konservierungsmittel. Natriumazid reagiert nachweislich mit Blei- oder Kupferrohren, was zur Bildung von potenziell explosiven Metallaziden führt. Beim Entsorgen dieses Reagenz ist daher vorsichtig vorzugehen und es sollte stets mit viel Wasser nachgespült werden, um die Ablagerung von Metallaziden im Rohrsystem zu verhindern.¹
- Die Bestandteile des Kits nur bis zum jeweils aufgedruckten Verfalldatum verwenden.
- Die Bestandteile (d.h. die Reagenzien und die Petten) des OPTIGEN Tests sind genau aufeinander abgestimmt und dürfen daher nicht mit Bestandteilen anderer Produktlinien gemischt werden.
- Der Test wird durch Verunreinigung mit Bleichmitteln beeinträchtigt.

6 Herstellung der Reagenzien

Waschpuffer:

- Lassen Sie das Waschpufferkonzentrat Raumtemperatur annehmen und stellen Sie sicher, dass sich alle Salzkristalle, die sich evtl. während der Aufbewahrung im Kühlschrank gebildet haben, auflösen. Die festverschlossene Pufferflasche kann dazu in ein Becherglas mit warmem Wasser gestellt werden, bis sich alle Kristalle aufgelöst haben.
- Spülen Sie den Waschpuffer-Dispenser und die Schläuche mit destilliertem Wasser.
- Drehen Sie die Flasche mit Waschpufferkonzentrat zum Mischen einige Male vorsichtig um.

- Geben Sie den Inhalt der Flasche mit Waschpufferkonzentrat (50 ml) in einen Waschpuffer-Dispenser mit 2 l-Fassungsvermögen.
- Füllen Sie den Waschpuffer-Dispenser bis zur 1000 ml-Marke mit destilliertem bzw. entionisiertem Wasser.
- Gut mischen.
- Der fertige Waschpuffer ist bei Aufbewahrung bei Raumtemperatur (20-25°C) oder gekühlt (2-8°C) bis zu einem Monat lang haltbar.

(Fortsetzung der Herstellung der Reagenzien:)

Antikörperreagenz:

- Lassen Sie die Antikörperreagenz vor dem Gebrauch Raumtemperatur annehmen.
- Drehen Sie die Flasche mit dem Antikörperreagenz einige Male vorsichtig um.
- Das Antikörperreagenz ist bis zum Verfallsdatum haltbar, wenn es gekühlt (2-8°C) aufbewahrt wird.
- Eine Flasche mit Antikörperreagenz ist ausreichend für zwanzig (20) OPTIGEN Petten.

Photoreagenzmischung:

Photoreagenzmischung erst unmittelbar vor dem Gebrauch herstellen.

- Lassen Sie die Photoreagenzien AB und CD vor dem Gebrauch Raumtemperatur annehmen.
- Mischen Sie Photoreagenz AB und CD mithilfe einer Mikropipette mit Einwegspitzen **zu gleichen Teilen**. Ziehen Sie aus jeder Flasche mit Photoreagenz AB oder CD je 250 µl pro Pette auf und geben Sie die Photoreagenzien in einen Einwegbehälter.
HINWEIS: Verwenden Sie für jedes Photoreagenz eine neue Spitze, um eine Kontamination der Reagenzien zu vermeiden.
- Schwenken Sie den Behälter vorsichtig, um den Inhalt zu mischen.
HINWEIS: Für optimale Ergebnisse Photoreagenzmischung sofort nach der Herstellung verwenden.

7 Aufbewahrung

- Bewahren Sie die Bestandteile des Kits bei 2-8°C auf. Bei ordnungsgemäßer Aufbewahrung sind die Bestandteile bis zum jeweils auf den Etiketten aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.
- Frieren Sie die Bestandteile des Kits nicht ein.
- Die Petten sind mit Trockenmittel verpackt und müssen auch nach Gebrauch wieder fest verschlossen werden. Bei Aufbewahrung im verschlossenen Beutel bei 2-8°C sind die Petten bis zum jeweils auf den Etiketten/der Kitschachtel aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.
- Verwenden Sie keine Kitbestandteile, die Anzeichen einer Qualitätsminderung zeigen, z.B. ungewöhnlicher Geruch, Trübungen oder andere Anzeichen einer Kontamination.

8 Probenabnahme und Vorbereitung

Alle Patientenproben und gebrauchte Kitbestandteile entsprechend den Empfehlungen für potenziell infektiöses Humanserum bzw. Blutproben handhaben. Beim Umgang mit Patientenproben allgemein gültige Vorsichtsmaßnahmen bzw. andere Richtlinien vor Ort beachten.²⁻⁴

Für jede Pette wird das folgende Mindestvolumen an Humanserum benötigt:

- 500 µl für eine Pette mit 36 Allergenen
- 300 µl für eine Pette mit 20 Allergenen

Bei der Abnahme, Vorbereitung und Aufbewahrung von Serum zur Verwendung im OPTIGEN-Allergietest sollte das folgende Protokoll angewandt werden:

1. Geben Sie eine venöse Blutprobe in ein 5ml-Serumtrennröhrchen bzw. Röhrchen mit rotem Deckel. Der Patient braucht nicht zu fasten. Es sind keine besonderen Vorkehrungen zu beachten.
HINWEIS: Serumtrennröhrchen enthalten ein nicht reaktives Material, das das Serum bei der Zentrifugation von den Zellen trennt. Die Performance des OPTIGEN Allergietests kann durch Hämolyse negativ beeinflusst werden.
2. Drehen Sie die Serumsammelröhrchen vorsichtig drei- bis fünfmal um.

3. Beschriften Sie die Probenröhrchen mit dem Namen des Patienten und dem Datum der Blutabnahme.
4. Lassen Sie das Blut im Original-Stopperbehälter bis zu 2 Stunden bei Raumtemperatur oder bis zum Eintritt der Koagulation gerinnen.
5. Zentrifugieren Sie das geronnene Blut 10-20 Minuten bei 2000-3000 x g oder 2500-3600 rpm im Original-Stopperbehälter.
6. Überführen Sie das Serum aus dem Zentrifugenröhrchen in ein entsprechend beschriftetes, sauberes Plastikröhrchen zur Aufbewahrung.
7. Serumproben können bis zu 1 Woche bei 2-8°C aufbewahrt werden. Für längere Zeiträume sollten die Proben bei -20°C eingefroren werden.

HINWEIS: Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Serumproben sollte vermieden werden. Gefrorene Proben, die aufgetaut werden, sollten vor der Zentrifugation gründlich gemischt werden. Nach der Entnahme aus dem Aufbewahrungsort und vor der Durchführung des Tests sollten Serumproben jeweils 10-20 Minuten bei 2000-3000 x g oder 2500-3600 rpm zentrifugiert werden.

9 Testverfahren

Eine ausführliche Beschreibung der Testdurchführung finden Sie im Kapitel **OPTIGEN** im **Technischen Handbuch** und im **Verfahrenshandbuch**.

Geliefertes Material

- OPTIGEN Test (siehe Kapitel 4, REAGENZIEN/BESTANDTEILE)

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Material

- CLA-Ausrüstungskit mit:
 - Gestell für bis zu 40 Testkammern
 - Auffangwanne
 - Waschpuffer-Dispenser mit 2 Liter Fassungsvermögen und Graduierung.
 - Einwegbehälter für Reagenzien, 10 ml.
 - 3 ml Luer-Lock-Spritze
 - Elektronische oder manuell zu bedienende Pipette mit Fixvolumen (optional).
- 1 Liter Messzylinder oder -behälter zur Herstellung des Waschpuffers
- Entionisiertes oder destilliertes Wasser
- 10 ml oder 5 ml Serumtrennröhrchen bzw. Serumröhrchen mit roten Deckel zur Probenabnahme,.
- Zentrifuge mit Geschwindigkeiten von 2000-3000 x g oder 2500-3600 rpm.
- Saubere Plastikröhrchen zur Vorbereitung der Proben.
- Saugtücher aus Papier
- Saubere, fussselfreie Tücher
- CLA-1 Luminometer-System

Vorbereitung der Pette und der Patientenproben

1. Zentrifugieren Sie die Serumproben nochmals unmittelbar vor dem Gebrauch (siehe Kapitel 8, Probenabnahme und Vorbereitung).
2. Nehmen Sie die Petten aus dem Beutel (eine Pette je Patient).
3. Verschließen Sie den Beutel wieder und legen Sie den Kit wieder in den Kühlschrank.
4. Beschriften Sie jede Pette mit dem Patientennamen; das Sichtfenster zeigt dabei nach unten.
HINWEIS: Den Kit bei 2-8°C aufbewahren.

Standardvorgehensweise

A. Stellen Sie den Waschpuffer wie in Kapitel 6 „Herstellung der Reagenzien“ beschrieben her.

B. Rehydrieren Sie die Pette.

1. Primieren Sie den Waschpuffer-Dispenser in den Abguss oder in die Auffangwanne, bis alle Luftblasen entfernt sind.
2. Verbinden Sie den Sperrhahn mit der oberen Öffnung der ersten Pette.
3. Waschen Sie jede Pette einmal mit 10 ml Waschpuffer, indem die Dispenser-Pumpe einmal mäßig stark drücken.
HINWEIS: Entleeren Sie jede Pette komplett, bevor Sie zum nächsten Schritt übergehen.

C. Ziehen Sie das Serum in die Pette.

1. Klopfen Sie die Pette auf Saugpapier aus, um Restflüssigkeit zu entfernen.

2. Schließen Sie die 3ml-Spritze oben an die Pette an.
3. Setzen Sie die Unterseite der Pette in den Behälter mit dem Patientenserum ein.

HINWEIS: Vermeiden Sie das Präzipitat und/oder die Lipidschicht.

4. Ziehen Sie den Spritzenkolben **LANGSAM** zurück, um Serum in die Pette zuziehen, bis der Füllstand zur Oberkante des Fensters reicht. **Achten Sie auf Luftblasen.**

HINWEIS: Stellen Sie sicher, dass das Sichtfenster der Positivkontrolle ganz mit Serum gefüllt ist.

D. Verschließen Sie die Petten mit den Stopfen und inkubieren Sie die Petten

1. Verschließen Sie die untere Öffnung der Pette mit einem weißen Stopfen während die Spritze noch mit der oberen Öffnung der Testkammer verbunden ist.
2. Entfernen Sie die Spritze und verschließen Sie die obere Öffnung der Pette oben mit einem schwarzen Stopfen.
HINWEIS: Die Stopfen müssen ganz eingedrückt werden, damit keine Flüssigkeit austritt.
3. Stellen Sie die serumbefüllten Petten aufrecht in ein Reagenzgestell.
4. Inkubieren Sie die Petten **zwei Stunden** bei Raumtemperatur.

E. Lassen Sie das Serum aus der Pette laufen

1. Entfernen Sie von jeder Pette den unteren Stopfen und stellen Sie die Pette zurück in das Reagenzgestell.
2. Entfernen Sie von jeder Pette den oberen Stopfen und lassen Sie das Serum in die Auffangwanne ablaufen.
3. Trocknen Sie die Stopfen ab und bewahren Sie die Stopfen für spätere Schritte auf.

F. Waschen Sie die Petten

1. Primer Sie den Waschpuffer-Dispenser, bis alle Luftblasen entfernt sind.
2. Verbinden Sie den Sperrhahn mit der oberen Öffnung der ersten Pette.
3. Waschen Sie jede Pette einmal mit 10 ml Waschpuffer, indem Sie die Dispenser-Pumpe einmal mäßig stark drücken.
HINWEIS: Entleeren Sie jede Pette komplett, bevor Sie zum nächsten Schritt übergehen.

G. Füllen Sie die Petten mit Antikörperreagenz.

1. Lesen Sie die Reagenzien vor dem Gebrauch Raumtemperatur annehmen.
2. Mischen Sie die Flasche mit dem Antikörper vor dem Gebrauch vorsichtig.
3. Um das Antikörperreagenz nicht zu kontaminieren, überführen Sie die benötigte Menge in einen Einwegbehälter.
4. Klopfen Sie die Unterseite der Pette vorsichtig auf Saugpapier aus.
5. Schließen Sie die 3ml-Spritze oben an die Pette an.
6. Setzen Sie die Unterseite der Pette in den Einwegbehälter mit dem Antikörperreagenz ein.
7. Ziehen Sie den Spritzenkolben **LANGSAM** zurück, um das Antikörperreagenz in die Pette zuziehen, bis der Füllstand zur Oberkante des Fensters reicht.
HINWEIS: Stellen Sie sicher, dass das Sichtfenster der Positivkontrolle ganz mit Antikörperreagenz gefüllt ist. Damit wird die Bildung von Luftblasen eingeschränkt, die die Testergebnisse beeinträchtigen könnten.

H. Verschließen Sie die Petten mit dem Stopfen und inkubieren Sie die Petten

1. Verschließen Sie die untere Öffnung der Pette mit dem weißen Stopfen während die Spritze noch mit der oberen Öffnung der Testkammer verbunden ist.
2. Entfernen Sie die Spritze und verschließen Sie die obere Öffnung der Pette mit dem schwarzen Stopfen.
3. Stellen Sie die reagenzgefüllten Petten aufrecht in ein Reagenzgestell. Inkubieren Sie die Petten **zwei Stunden** bei Raumtemperatur und notieren Sie die Startzeit der Inkubation auf dem Arbeitsblatt notieren.
HINWEIS: Bewahren Sie die Kits bei 2-8°C auf.

I. Lassen Sie das Antikörperreagenz aus der Pette laufen

1. Entfernen Sie von jeder Pette den unteren Stopfen und stellen Sie die Pette zurück in das Reagenzgestell.

2. Entfernen Sie von jeder Pette den oberen Stopfen und lassen Sie die Flüssigkeit in die Auffangwanne ablaufen. Notieren Sie den Zeitpunkt der Beendigung der Inkubation auf dem Arbeitsblatt.
3. Trocknen Sie die Stopfen ab und bewahren Sie die Stopfen für spätere Schritte auf.

J. Waschen Sie die Petten

1. Primer Sie den Waschpuffer-Dispenser, bis alle Luftblasen entfernt sind.
2. Verbinden Sie den Sperrhahn mit der oberen Öffnung der ersten Pette.
3. Waschen Sie jede Pette einmal mit 10 ml Waschpuffer, indem Sie die Dispenser-Pumpe einmal mäßig stark drücken.
HINWEIS: Entleeren Sie jede Pette komplett, bevor Sie zum nächsten Schritt übergehen.

K. Stellen Sie Photoreagenzmischung her

1. Stellen Sie die Photoreagenzmischung wie in Kapitel 6 „Herstellung der Reagenzien“ beschrieben her.
HINWEIS: Lassen Sie die Photoreagenzien vor dem Gebrauch Raumtemperatur annehmen.
HINWEIS: Verwenden Sie die Photoreagenzmischung für optimale Ergebnisse sofort nach der Herstellung.

L. Füllen Sie die Pette mit der Photoreagenzmischung

1. Klopfen Sie die untere Öffnung der Pette vorsichtig auf Saugpapier aus, um den Waschpuffer in der Pette ganz zu entfernen.
2. Schließen die Spritze oben an die Pette an.
3. Setzen Sie die untere Öffnung der Pette in den Behälter mit der Photoreagenzmischung ein.
4. Ziehen Sie den Spritzenkolben **LANGSAM** zurückziehen, um die Photoreagenzmischung in die Pette zuziehen, bis die Pette ganz gefüllt ist.
HINWEIS: Stellen Sie sicher, dass das Sichtfenster der Positivkontrolle ganz mit Photoreagenzmischung gefüllt ist.

M. Verschließen Sie die Petten mit den Stopfen

1. Verschließen Sie die untere Öffnung der Pette unten mit dem weißen Stopfen während die Spritze noch mit der oberen Öffnung der Testkammer verbunden ist.
2. Entfernen Sie die Spritze und verschließen Sie die obere Öffnung der Pette mit dem schwarzen Stopfen.
3. Prüfen Sie die verschlossene Petten auf Undichtigkeiten.
4. Entfernen Sie die Photoreagenzreste mit einem sauberen, feuchten, fusselfreien Tuch.

N. Lassen Sie die gefüllte Petten 10 Minuten stehen

1. Sobald die erste Pette mit der Photoreagenzmischung gefüllt ist, stellen Sie eine Stoppuhr auf 10 Minuten und befüllen Sie die restlichen Petten. Lassen Sie die Petten stehen, bis die Stoppuhr abgelaufen ist.
2. Weitere Informationen über die Bedienung des Luminometers finden Sie im Abschnitt "Messen der Testergebnisse".

O. Messen der Testergebnisse mit dem CLA-1 Luminometer

- HINWEIS: Öffnen Sie niemals das Gehäuse des CLA-1 Luminometers. Bei Nichtbeachten VERFÄLLT die Garantie des Gerätes, das CLA-1 Luminometer wird funktionsunfähig und macht werkseitigen Neueinstellungen notwendig, außerdem besteht für den Bediener das Risiko einer schweren Verletzung.**
1. Stellen Sie die Pette in die Kassettenhalter.
 - a. Stellen Sie die Petten in der auf dem Arbeitsschemas des CLA-1 Luminometers angegebenen Reihenfolge in die Pettenkassette.
 - b. Schieben Sie die Pette mit dem schwarzen Stopfen zuerst und den Fenstern nach oben zeigt bis zum Ende des Pettenkassettenhalters.
 - c. Überprüfen Sie die eingesetzte Pette auf Undichtigkeiten. Wischen Sie die Pette mit einem sauberen, feuchten, fusselfreien Tuch ab.
 2. Laden Sie die Kassette mit der Pette in das CLA-1 Luminometer.
 - a. Drücken Sie die Taste „OPEN/CLOSE“ (Öffnen/Schließen) am CLA-1 Luminometer einmal, um die Transportklappe zu öffnen.
 - b. Halten Sie die Kassette am Griff und lassen Sie den Halter mit der Kassette in die Transportschiene einrasten.

- c. Drücken Sie die die Taste „OPEN/CLOSE“ (Öffnen/Schließen) nocheinmal. Nun wird die Kassette automatisch in das CLA-1 Luminometer transportiert und die Klappe schließt sich.
3. Programmieren Sie die Arbeitsliste (Load List) in das CLA-1 Luminometer.
 - a. Bestimmen Sie mithilfe des Arbeitsschemas des Luminometers, welche Panels sich in den 5 Positionen der Kassette befinden.
 - b. Drücken Sie die Tasten „UP“ (nach oben) bzw. „DOWN“ (nach unten), um durch die Panelauswahl zu blättern.
 - c. Drücken Sie die Eingabetaste „Enter“, wenn die richtige Anzeige für die aufgeführte Kassettenposition im Display erscheint.
 - d. Wiederholen Sie die obigen Schritte, bis alle Petten in der Kassette richtig in das CLA-1 Luminometer einprogrammiert sind.
4. Messen Sie die Proben und drucken Sie die Ergebnisse aus.
 - a. Nachdem alle 5 Positionen der Kassette programmiert worden sind, erscheint auf dem Display des CLA-1 Luminometers eine entsprechende Arbeitsliste („LOAD LIST“). Stimmt diese Liste mit den Petten in der Kassette überein, drücken Sie die Eingabetaste „ENTER“, um mit der Analyse zu beginnen.
 - b. Das CLA-1 Luminometer druckt die Testergebnisse nach etwa 1 Minute aus.
 - c. Vermerken Sie den Namen des Patienten auf dem Ausdruck mit den Testergebnissen und legen Sie den Ausdruck dem Testbericht des CLA-1 Luminometers bei.

Lichtmenge, die von den einzelnen Allergenen in der Pette emittiert wird. Diese Werte bilden die Grundlage für das CLA-System zur Klassifizierung einer allergischen Reaktion (CLA Class Allergy Scoring System) des OPTIGEN allergenspezifischen IgE-Tests. Die mit den Werten der CLA-Klassen assoziierten IgE-Konzentrationen und die Instrumentenmesswerte sind in der folgenden Tabelle angegeben.

CLA-Klasse	Netto LE	Konzentration der allergenspezifischen IgE-Antikörper
4	>242	sehr hohe Antikörper-konzentration
3	143-242	hohe Antikörper-konzentration
2	66-142	moderate Antikörper-konzentration
1	27-65	niedrige Antikörper-konzentration
0	0-26	es wurden keine Antikörpererkannt

CLA-Klassen von 1 oder höher entsprechen progressiv ansteigenden Konzentrationen von allergenspezifischen Antikörpern. Die CLA-Klasse 0 entspricht einem Nichtvorhandensein nachweisbarer Mengen an allergenspezifischen Antikörpern.

10 Qualitätskontrolle

A. Kammern zur internen Kontrolle

Jede Pette enthält eine positive Verfahrenskontrolle und eine negative Leerwertkontrolle. Diese Kontrollen dienen als interne Indikatoren für jede Pette.

Positive Verfahrenskontrolle: Die positive Verfahrenskontrolle prüft die Leistung der Kitreagenzien. Die positive Verfahrenskontrolle muss im CLA-1 Luminometer einen Messwert von mindestens 243 LE ergeben.

Negative Leerwertkontrolle: Die negative Leerwertkontrolle kompensiert etwaige unspezifische IgE-Bindung. Die negative Leerwertkontrolle darf im CLA-1 Luminometer einen Messwert von höchstens 69 LE ergeben.

Nicht akzeptable Ergebnisse der internen Kontrolle: Liegt ein Ergebnis einer internen Kontrolle nicht im oben definierten Akzeptanzbereich, sind folgende Maßnahmen durchzuführen

- Repositionieren Sie die Pette in der Kassette (vergewissern Sie sich, dass die Testkammer ganz eingesetzt ist) und wiederholen Sie die Messung.
- Liegen die Ergebnisse noch immer nicht im Akzeptanzbereich, beachten Sie bitte Abschnitt 6 und 7.

B. IgE Positive and Negative Control Sera

Hitachi Chemical Diagnostics empfiehlt, jede neue Charge der Reagenzien und der Petten im OPTIGEN allergenspezifischen IgE-Test mit zwei Arten von Serumkontrollen zu testen: mit dem IgE-positiven und dem IgE-negativen Kontrollserum.

Vorgaben von Seiten der Zulassungsbehörden können es erforderlich machen, dass die IgE-positiven und -negativen Kontrollseren häufiger verwendet werden müssen. Einzelheiten erfahren Sie von den für Sie zuständigen Zulassungsbehörden.

IgE-positive und -negative OPTIGEN-Kontrollseren sind von Hitachi Chemical Diagnostics Inc. erhältlich. Die Produkte werden mit einem Ausdruck verschickt, auf dem die erwarteten Messwerte angegeben sind. Kontrollseren werden eingefroren verschickt und müssen bis zum Gebrauch gefroren aufbewahrt werden.

11 Ergebnisse

Das CLA-1 Luminometer misst die Menge an Licht, die von den Allergenen in den Testkammern emittiert wird. Diese Messung erfolgt in Lumineszenzeinheiten (LE). Zur Berechnung der IgE-Response eines Patienten subtrahiert das Gerät automatisch die Emission der negativen Leerwertkontrolle von der Emission eines jeden spezifischen Allergens. Die Vergabe der Werte 0 bis 4 für die CLA-Klassen beruht auf der

12 Verfahrenseinschränkungen

- Hämolyisiertes oder lipämisches Serum kann die Qualität der Bestimmung mit dem OPTIGEN-Assay beeinträchtigen.
- Die endgültige klinische Diagnose und/oder das Dosierungsschema der Immuntherapie sollten nicht ausschließlich auf den Ergebnissen eines einzelnen diagnostischen Tests beruhen, sondern sollten vom Arzt und unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde und Laborbefunde gestellt bzw. angepasst werden.
- Der OPTIGEN-Assay liefert semiquantitative Ergebnisse. Das Verfahren enthält keinen absoluten Standard, sondern ordnet die Ergebnisse willkürlich zugewiesenen Klassifikationsstufen zu.
- Da sich die Bindungskapazität eines spezifischen IgE-Antikörpers je nach Allergen unterscheiden kann, ist durch eine ähnliche Klassifikation unterschiedlicher Allergene nicht notwendigerweise eine klinische Äquivalenz gegeben.
- Beim Testen von Nahrungsmittelallergien sind zirkulierende IgE-Antikörper möglicherweise nicht nachweisbar, wenn sie gegen veränderte Formen von Allergenen (beispielsweise gegen gekochte, verarbeitete oder verdaute Formen dieser Allergene) gerichtet sind und diese veränderten Formen nicht in derselben Form vorliegen, wie die Nahrungsmittelallergene, die in diesem Test verwendet werden. Falsch positive Ergebnisse bei Personen, die auf Nahrungsmittelallergien getestet werden, können unangebrachte Ernährungseinschränkungen nach sich ziehen, während falsch negative Ergebnisse bei nahrungsmittelempfindlichen Personen zu anaphylaktischen Reaktionen unterschiedlichen Schweregrades führen können.
- Beim Testen von Inhalationsallergenen können falsch positive Ergebnisse zu einer falschen Medikation dieser Personen führen. Falsch negative Ergebnisse können zu einem Ausbleiben der richtigen medizinischen Behandlung führen.
- Entspricht die IgE-Gesamtkonzentration einem Wert von 2500 IE/ml oder höher, sollten niedrige, allergenspezifische IgE-Reaktionen nur unter Vorbehalt interpretiert werden.
- Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse werden erhalten, wenn das Testverfahren genau nach Gebrauchsanleitung des Produktes und in Übereinstimmung mit geeigneten Maßnahmen zur Qualitätskontrolle durchgeführt wird.
- Kontamination mit Bleichmittel beeinträchtigt das Testverfahren. Laborartikel, die mit Bleichlösung dekontaminiert worden sind, sollten gründlich mit destilliertem oder entionisiertem Wasser gespült werden.

HINWEIS: Die Verwendung von Lösungen auf Alkoholbasis zur Desinfektion der Workstation führt zur Bildung von Rissen im Plastikmaterial und zu einem frühzeitigen Ausfall der Workstation.

13 Leistungsmerkmale des Standardverfahrens

- A. **Genauigkeit⁵**
In gleichem Test: Es wurden 10 Replikate von vier Serumproben in einer Charge gemessen. Der durchschnittliche mittlere

Variationskoeffizient der Reaktionen aller getesteten Allergene lag bei Berechnung der Netto-LE im gesamten dynamischen Bereich des Tests bei 14%.

Zwischen unterschiedlichen Tests: Es wurden 10 Replikate einer Serumprobe an 5 verschiedenen Tagen gemessen. Der mittlere Variationskoeffizient der Reaktionen aller getesteten Allergene lag bei Berechnung der Netto-LE im gesamten dynamischen Bereich des Tests bei 14%.

B. Nachweisgrenze⁵

Die Nachweisgrenze des Tests liegt bei 26 LE.

C. Analytische Spezifität⁵

Es liegt keine nachweisbare Kreuzreaktivität mit normalen physiologischen Konzentrationen von IgA-, IgM-, IgG- oder IgD-Immunglobulinen in Humanserum vor.

D. Vergleich zwischen In-Vitro-Methoden zur Einstufung einer Allergie⁵

Die Konkordanz (berechnet als Effizienz) zwischen jedem CLA-Allergen und alternativen In-vitro-Tests liegt durchschnittlich bei zirka 90%; der Konkordanzbereich liegt zwischen 83% und 98%.

Hinweis: Weder für den Vergleich verschiedener Verfahren noch für die überwiegende Mehrzahl klinisch relevanter Allergene stehen standardisierte Referenzallergene zur Verfügung.

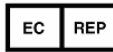
14 LITERATUR

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. Daten auf Anfrage erhältlich.

Technische Unterstützung erhalten Sie von Hitachi Chemical Diagnostics. Außerhalb der Vereinigten Staaten wenden Sie sich bitte an den örtlichen Vertreter von Hitachi Chemical Diagnostics.



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



Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
Hitachi Europe Ltd.
Whitebrook Park
Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire SL6 8YA
United Kingdom
Tel. +44 (0) 1628 585 590
Fax. +44 (0) 1628 585 594

©2010, Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
CLA ist ein eingetragenes Warenzeichen der Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

Hergestellt unter einem oder mehreren der folgenden US-Patentschriften Nr.: 3,941,876, 4,031,197, 4,459,360 (und entsprechenden in Kanada, Australien, Japan, Spanien, Frankreich, Deutschland, Italien, Schweden und Großbritannien angemeldeten Patenten), 4,510,393, 4,558,013, 5,567,149 (und entsprechenden in Kanada, Australien, Japan, Spanien, Frankreich, Deutschland, Italien, Schweden, der Schweiz, Österreich, Belgien, den Niederlanden, Luxemburg und Großbritannien angemeldeten Patenten), 4,568,184, 285,485, 4,743,541 (und entsprechenden in Kanada, Australien, Japan, Frankreich, Deutschland, Schweden, der Schweiz und Großbritannien angemeldeten Patenten) und 5,082,768 (und entsprechend dem in Japan angemeldeten Patent).