

IVD CAPSULE Aeroallergens

REF P02.00022



Italian

Uso previsto

L'IVD CAPSULE Aeroallergens è un test diagnostico in vitro rapido e monouso per la determinazione quantitativa delle immunoglobuline E (IgE) circolanti specifiche per i componenti allergenici Phl p 1 + Phl p 5 (combinati), Der p 1 + Der p 2 (combinati), Alt a 1, Fel d 1 e Can f 1, in un campione di sangue capillare umano non coagulato raccolto dalla punta del dito del paziente.

La IVD CAPSULE Aeroallergens deve essere utilizzata con il sistema di test diagnostici in vitro **abioSCOPE 2.0**. Il sistema è destinato all'uso professionale in ambienti di laboratorio clinico o al punto di cura (PoC), compresi i test vicino al paziente. L'IVD CAPSULE Aeroallergens viene utilizzato per identificare la sensibilizzazione a un determinato allergene o gruppo di allergeni e, insieme ad altre valutazioni cliniche e ai risultati di laboratorio, per aiutare nella diagnosi di disturbi allergici mediati dalle IgE.

Riassunto

Un terzo della popolazione mondiale soffre di allergia e la prevalenza mondiale è in aumento¹. Le malattie allergiche si manifestano con vari sintomi, come eruzioni cutanee, rinite, prurito alla gola, al naso e alle orecchie e nausea, con conseguente peggioramento della qualità della vita e della capacità lavorativa¹.

Gli allergeni sono molecole che producono una risposta immunitaria anormale nei pazienti allergici. Gli anticorpi che appartengono alla classe E delle immunoglobuline legate al loro allergene cognato innescano il rilascio immediato di mediatori attivi. Questi mediatori, come l'istamina e il leucotriene, agiscono sui tessuti circostanti e causano i sintomi dell'allergia².

Gli esami ematici in vitro delle IgE allergene-specifiche permettono di valutare lo spettro di sensibilizzazione di un paziente senza alcun rischio di reazioni avverse. La presenza di IgE specifiche per un dato allergene è indicativa di una sensibilizzazione potenzialmente clinicamente rilevante.

Principio del test

Il campione di sangue viene mescolato con una soluzione contenente anticorpi marcati con fluorescenza e reattivi alle IgE umane. Il campione di sangue, che ora contiene il complesso di anticorpi rilevatori delle IgE, viene caricato sulla capsula del kit. Il materiale del paziente viene aspirato attraverso la capsula per azione capillare e passa attraverso

un separatore incorporato che esclude cellule e particelle dall'area di misurazione. Dopo essere passato attraverso il separatore, il complesso IgE-anticorpo viene legato dagli allergeni immobilizzati sull'area di lettura della capsula. La concentrazione del complesso IgE allergene-specifico catturato è proporzionale alla fluorescenza generata sulla superficie del sensore dal fluoroforo coniugato all'anticorpo segnale. Pertanto, il segnale di fluorescenza misurato è proporzionale alla concentrazione di IgE allergene-specifiche nel campione. Il segnale di fluorescenza misurato è riportato in kU_A/l, secondo le classi del test radioallergologico (RAST):

IgE conc. [kU _A /l]	Commento
<0.7	Livello assente, basso o non rilevabile di IgE specifiche all'allergene
0.7 – 3.4	Livello moderato di IgE -specifiche all'allergene
3.5 – 17	Alto livello di IgE specifiche all'allergene
18 – 49	Livello molto alto di IgE specifiche all'allergene Very high level of allergen-specific IgE
50 – 100	Livello ultra-alto di IgE specifiche all'allergene
> 100	Livello estremamente alto di IgE specifiche all'allergene

Tavola 1 | Intervalli del test radioallergico IgE (RAST) e loro significato.

Reagenti

La IVD CAPSULE Aeroallergens contiene i seguenti test sierologici IgE:

Tests	Interpretazione
Phl p 1 + Phl p 5	Principali allergeni del polline di erba timotea (<i>Phleum pratense</i>)
Der p 1 + Der p 2	Principali allergeni delle specie degli acari della polvere (<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>)
Alt a 1	Principale allergene della muffa (<i>Alternaria alternata</i>)
Fel d 1	Principale allergene ai peli di gatto
Can f 1	Principale allergene ai peli di cane

Tabella 2 | Gli allergeni sono purificati dalla loro fonte naturale (Can f 1, Der p 1 e Phl p 1) o sono proteine ricombinanti (Fel d 1, Alt a 1, Phl p 5 e Der p 2).

Ogni kit contiene una fiala riempita con 50 µl di reagente **abioMIX**. Il reagente **abioMIX** è composto dall'anticorpo anti-IgE umane marcato con fluorescenza, sciolto in una soluzione salina tamponata con Tris integrata con Tween-20. Il reagente **abioMIX** contiene un conservante (tabella 3).

IVD CAPSULE Aeroallergens

REF P02.00022



Materiale	Conc.
Anticorpo anti-IgE marcato in fluorescenza	2.50 µg/ml
Tween 20 (CAS numero 005-64-5)	1.0% (v/v)
Tris(hydroxymethyl)aminomethane (CAS numero 77-86-1)	24.8 mM
Sodium Chloride (CAS numero 7647-14-5)	137mM
Potassium Chloride (CAS numero 7447-40-7)	2.7 mM
Tripotassium-Ethylenediaminetetra acetic acid (CAS numero 65501-24-8)	7.23 mM
ProClin300 (CAS numero 55965-84-9)	0.04% (v/v)

Tabella 3 | Composizione del reagente abioMIX.

Materiali inclusi

- 1x capsula con un pannello di test sierologici IgE
- 1x fiala di reagente **abioMIX**
- 1x collettore di sangue capillare **abioPIPETTE**
- 1x sacchetto essiccante

Procedure di test

1. Utilizzare l'**abioPIPETTE** in dotazione per raccogliere 50 µl di sangue intero dal polpastrello del paziente.
2. Prendere la fiala di **abioMIX** e scuoterla per spostare l'**abioMIX** sul fondo prima dell'uso. Forare il tappo con l'**abioPIPETTE** riempito e inserirlo completamente nella fiala senza spingere lo stantuffo. Una volta inserito completamente, ruotare lo stantuffo di un quarto di giro in senso orario e spingere sullo stantuffo di **abioPIPETTE** per dispensare l'intero campione di sangue nella fiala di reagente **abioMIX**. Mantenere la pressione sullo stantuffo della **abioPIPETTE**, quindi rimuovere la **abioPIPETTE** e rilasciare lo stantuffo all'esterno della fiala.
3. Battere la fiala almeno 10 volte su una superficie dura per mescolare accuratamente la soluzione sangue-**abioMIX**. Un campione miscelato avrà un colore omogeneo.
4. Incubare il campione di sangue miscelato con il reagente **abioMIX** per 5 minuti prima di caricarlo sulla capsula.
4. All'esterno della fiala, spingere completamente verso il basso lo stantuffo e mantenere la pressione.
5. Inserire l'**abioPIPETTE** nella fiala. Rilasciare lo stantuffo per riempire completamente l'**abioPIPETTE** con la miscela e rimuovere l'**abioPIPETTE**. Premere delicatamente lo stantuffo per depositare la miscela in modo uniforme sull'intera superficie della membrana (area bianca) al centro della capsula. La miscela deve essere erogata lentamente per consentire alla soluzione di penetrare nella capsula. Fare attenzione a non raschiare la membrana con la punta della pipetta. La capsula riempita deve essere misurata immediatamente.

5. Piegare il coperchio per chiudere la capsula. Tenere la capsula solo per i bordi. Fare attenzione a non toccare il lato inferiore della capsula.
6. Per iniziare la misurazione, toccare il pulsante "measure" sul lettore. Il vassoio si aprirà automaticamente.
7. Posizionare la capsula sul vassoio secondo la posizione guidata della capsula sullo schermo, quindi toccare il pulsante "chiudere il vassoio".

Per misurare il campione, fare riferimento al manuale utente di **abioSCOPE 2.0**.

Conservazione e stabilità

Conservare la **IVD CAPSULE Aeroallergens** a 2-8 °C fino all'utilizzo. Il kit è stabile fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta. Il reagente **abioMIX** è pronto all'uso. Lasciare che il reagente **abioMIX** si riscaldi a temperatura ambiente prima dell'uso. Utilizzare il reagente **abioMIX** entro 4 ore dal riscaldamento.

Tracciabilità e calibrazione

L'**IVD CAPSULE Aeroallergens** è calibrato dal produttore utilizzando, per ogni test del pannello, un pool di campioni clinici ben caratterizzati con una concentrazione definita di IgE in una matrice di sangue intero. I calibratori IgE sono riconducibili alla terza preparazione internazionale di riferimento (11/234) di immunoglobuline E del siero umano dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS)³. Ogni lotto di **IVD CAPSULE Aeroallergens** viene calibrato utilizzando un metodo di riduzione dei dati con adattamento logistico a 5 parametri ponderati. Lo strumento calcola automaticamente la concentrazione di ciascun campione e la visualizza sullo schermo dello strumento. Lo strumento legge automaticamente i dati di calibrazione specifici del lotto che sono incorporati nel chip della capsula, eliminando la necessità di calibrazione da parte dell'utente. I valori IgE allergene-specifici assegnati ai controlli e ai materiali di calibrazione sono direttamente riconducibili a un lotto master del calibratore.

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, utilizzare l'**IVD CAPSULE IgE Control** (non fornito). Seguire le normative e le linee guida locali applicabili per il controllo di qualità.

Gli intervalli di controllo devono essere adattati alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nell'intervallo target definito. Ogni laboratorio deve stabilire le misure correttive da adottare se i valori non rientrano negli intervalli definiti.

IVD CAPSULE Aeroallergens

REF P02.00022



Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico in vitro.

- Le **CAPSULE IVD Aeroallergens** devono essere tenute refrigerate fino all'utilizzo.
- Non congelare.
- Lasciare che la fiala di reagente **abioMIX** raggiunga la temperatura ambiente prima dell'uso.
- Le **IVD CAPSULE Aeroallergens** devono essere utilizzate entro 4 ore dalla rimozione dalla refrigerazione.
- Questo prodotto richiede la manipolazione di campioni umani. Si raccomanda di considerare potenzialmente infettivo tutto il materiale di origine umana. Per la manipolazione e lo smaltimento dei materiali durante e dopo il test, si devono utilizzare le precauzioni universali applicabili alla propria struttura⁴.

Deterioramento dei reagenti

Le seguenti osservazioni indicano un deterioramento del reagente:

- Presenza di torbidità nella fiala **abioMIX**.
- Valori costantemente alti o bassi dai kit di analisi dello stesso lotto.

Limitazioni

- I risultati dei test devono essere interpretati all'interno del quadro clinico completo. La diagnosi definitiva e/o la decisione clinica non dovrebbe essere basata solo sui risultati di un singolo test diagnostico, ma fatta dopo aver valutato tutti i risultati clinici e di laboratorio.
- Tutti i materiali del test sono monouso e non possono essere riutilizzati.
- Questo test utilizza anticorpi di origine murina (topo). Il materiale del paziente reattivo alle proteine del topo può dare risultati anomali. Gli anticorpi eterofili nel sangue umano possono interferire con i test immunologici in vitro. I pazienti esposti abitualmente ad animali o a prodotti ematici animali possono essere soggetti a questa interferenza. L'impatto degli anticorpi eterofili, dei fattori reumatoidi umani (RF) e degli anticorpi umani anti-mouse (HAMA) sulle misurazioni non sono stati valutati.
- Il basso livello di IgE allergene-specifiche deve essere valutato con cautela quando i valori di IgE totali sono superiori a 1500 kU/l, poiché un livello di IgE totali clinicamente elevato può portare a una sovrastima del livello di IgE allergene-specifiche.
- La **IVD CAPSULE Aeroallergens** contiene componenti allergenici. Le discrepanze con i test sierologici IgE

basati sull'estratto o i prick test cutanei possono essere causate dal fatto che i componenti allergenici possono essere presenti in quantità molto basse nell'estratto naturale, o che quel paziente è sensibilizzato ai componenti allergenici presenti nell'estratto naturale e non nell'**IVD CAPSULE Aeroallergens**

Valori attesi

I donatori di sangue non allergici hanno IgE contro il pannello di allergeni dell'**IVD CAPSULE Aeroallergens** inferiori a 0.7 kU_A/l. Le buone pratiche di laboratorio raccomandano che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento previsto per la popolazione che serve.

Valori superiori a 0.7 kU_A/l indicano anticorpi IgE specifici verso un allergene, o un gruppo di allergeni, rilevati dal sistema del test. Valori inferiori a 0.7 kU_A/l indicano un livello non rilevabile o l'assenza di IgE specifiche all'allergene.

Range di misurazione: 0.70 - 100 kU_A/l

Precisione

Componenti di varianza between-run e between-day

Le componenti di varianza between-run e between-day dei diversi test del pannello dell'**IVD CAPSULE Aeroallergens** su **abioSCOPE 2.0** sono state determinate in uno studio progettato secondo la linea guida CLSI EP05-A3⁵. Tre campioni con valori di IgE specifici all'allergene nel range da basso a moderato di ciascun test sono stati misurati durante 10 giorni, con due serie di duplicati al giorno. I risultati dello studio sono rappresentati nella tabella 4.

sgE test	Media[kU _A /l]	Between-run CV [%]	Between-day CV [%]
Phl p 1 + Phl p 5	10.1	< 1	10
	8.2	< 1	14
	45.0	9	< 1
Der p 1 + Der p 2	4.5	16	< 1
	5.9	< 1	5
	16.4	7	19
Alt a 1	5.4	2	15
	4.8	< 1	8
	17.0	7	4
Fel d 1	2.4	20	20
	6.1	4	< 1
	20.1	10	< 1
Can f 1	5.6	< 1	25
	5.3	16	16
	19.5	< 1	20

Tabella 4 | Valori di precisione dello studio di precisione tra le sessioni e tra i giorni. CV: coefficiente di variazione.

Componenti della varianza della precisione da utente a utente, da lotto a lotto, da dispositivo a dispositivo

È stato condotto uno studio seguendo il disegno 3x3x5⁵, dove "3" era l'utente, il lotto o i dispositivi, e i "5" erano i giorni e le misurazioni replicate al giorno. Per ogni test IgE allergene-specifico sono stati valutati due campioni, uno nel range basso (≤ 5.0 kU_A/l) e uno nel range alto (≥ 20 kU_A/l). Per la componente di varianza della precisione da utente a utente, l'imprecisione media (coefficiente di variazione, CV) era dell'8.5% (deviazione standard (SD): 6.4; intervallo: 2.0-23%). Per la componente di varianza della precisione da lotto a lotto, l'imprecisione media era del 13.5% (SD: 5.1; range: da <1.0 a 18%). Per la componente di varianza della precisione da dispositivo a dispositivo, l'imprecisione media era del 10.7% (SD: 7.1; range: da <1.0 a 19%).

Selettività analitica

L'impatto delle sostanze interferenti potenziali comuni è stato valutato secondo la linea guida EP07⁶ del CLSI. Lo studio è stato condotto sul test sierologico Fel d 1 IgE con due campioni, uno nel range basso (4.0 kU_A/l) e uno nel range alto (40 kU_A/l) del test. Non sono state riscontrate distorsioni rilevanti fino alle seguenti concentrazioni:

- Trigliceridi: 500 mg/dl*
- Bilirubina libera: 40 mg/dl §
- Bilirubina coniugata: 40 mg/dl §
- Emoglobina: 1.0 g/dl §

* Una distorsione negativa di più del 20% è stata trovata a 1500 mg/dl; § dosi più alte testate.

Comparabilità e accordo tra i metodi

La comparabilità dei risultati dei test tra l'IVD CAPSULE Aeroallergens sul dispositivo **abioSCOPE 2.0** e il metodo di riferimento di laboratorio Phadia Laboratory System "ImmunoCAP" (ThermoFisher Scientific, Uppsala, Svezia) è stata valutata in uno studio progettato secondo la linea guida CLSI EP09c7. Tutti i campioni clinici sono stati valutati come sangue intero venoso sull'**abioSCOPE 2.0** e plasma venoso sul Phadia Laboratory System (ThermoFisher Scientific). È stata utilizzata una regressione lineare non pesata di Deming per determinare la pendenza e l'intercetta nell'intervallo da 0.7 a 100 kU_A/l (tabella 5). L'estensione della correlazione lineare era valutato con il coefficiente semplice di Pearson r e il suo valore al quadrato (R²).

slgE test	Slope (95% CI)	Intercept (95% CI)	r; R ²
Phl p 1 + Phl p 5	0.6 (0.3 to 0.8)	2.4 (-2.1 to 7.0)	0.93; 0.86
Der p 1 + Der p 2	0.9 (0.8 to 1.1)	1.7 (-0.6 to 4.0)	0.96; 0.93
Alt a 1	1.5 (0.6 to 2.4)	-8.2 (-19.3 to 2.8)	0.92; 0.85
Fel d 1	1.0 (0.7 to 1.3)	-7.4 (-14.7 to 0.0)	0.94; 0.88
Can f 1	1.0 (-0.8 to 1.2)	-3.8 (-9.1 to 1.5)	0.88; 0.77

Tabella 5 | Pendenza e intercette con il loro 95% CI determinato dalla regressione non pesata di Deming, e il coefficiente semplice di Pearson (r) e il suo valore quadratico (R²) determinato dalla regressione dei minimi quadrati. * A causa del basso numero di campioni positivi, la regressione lineare è stata eseguita utilizzando la statistica di regressione dei minimi quadrati e ha coperto l'intervallo da 0.0 a 100 kU_A/l. CI: intervallo di confidenza.

Espressi come accordi interclasse (analisi semi-quantitativa), i risultati dei test raggruppati sono stati divisi tra le diverse classi RAST (Tabella 6).

		ImmunoCAP RAST Class scoring					
		0-1	2	3	4	5	6
IgE assay on abioSCOPE 2.0	0-1	38	11	7			
	2	13	13	4	1		
	3		3	16	7		
	4			1	19	5	
	5				1	8	1
	6					1	1

Tabella 6 | Divisione interclasse dei risultati dei test tra i due metodi (tutti i risultati dei test messi insieme).

Anche l'accordo di ogni test con il metodo di laboratorio di riferimento è stato calcolato come classificazione binaria, cioè un risultato del test < 0.7 kU_A/l è stato considerato "negativo" e un risultato del test ≥ 0.7 kU_A/l è stato considerato "positivo" (valutazione qualitativa) (tabella 7).

slgE test	PPA (%)	NPA (%)	OPA (%)
Phl p 1 + Phl p 5	100	45	80
Der p 1 + Der p 2	100	80	93
Alt a 1	90	70	83
Fel d 1	80	80	80
Can f 1	40	100	60
All	82	75	79

Table 7 | Accordo inter-metodo espresso in percentuale. Per ogni dosaggio sierologico delle IgE, sono stati valutati 30 campioni con entrambi i metodi. PPA: accordo percentuale positivo, NPA: accordo percentuale negativo, OPA: accordo percentuale complessivo.

Referenze

1. Global Atlas of Allergy; published by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI), 2014
2. Molecular Allergology, User's Guide; published by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI), 2016
3. WHO International Standard Immunoglobulin E (IgE), human serum, NIBSC code 11/234. National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), "Protection of Laboratory Workers From Occasionally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition." CLSI Document M29-A4. Wayne, PA: CLSI; 2014.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), "Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition." CLSI Document EP05-A3. Wayne, PA: CLSI; 2014.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), "Interference Testing in Clinical Chemistry. Third Edition." CLSI Document EP07. Wayne, PA: CLSI; 2018.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), "Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples - Third Edition." CLSI Document EP09c. Wayne, PA: CLSI; 2018.

IVD CAPSULE, abioMIX e abioSCOPE sonomarchi di Abionic.

© 2021, Abionic SA



CE marking



Abionic SA, Biopôle Alanine Building, Route de la Corniche 5
CH-1066 Epalinges, Switzerland



Utilizzare con sangue capillare normale (non coagulato)