

N.B. The calibrator (Standard #) values are found in the quality control certificate (SIN283.QC). Calibrator values on **Page 1** should be entered in ascending order, i.e. the lowest value first. **IMPORTANT:** the analyser will only update the calibrator values providing the **Auto Fill** button is pressed after typing the value for calibrator 5 on Page: 1. The assay utilises an extrapolated calibration curve therefore the Auto Rerun Range (Result) (Page 3) and Out-of-Range (Page 4) tables must be manually updated using values supplied in the Quality Control certificate (SIN283.QC)

8.4.2 Control volumes

Transfer 150µL of control fluid into a sample cup and place onto the rack.

8.5 Measuring range

The range of this assay is approximately 30 - 1007 IU/mL. In the event of a rerun the upper limit of the assay range is extended to 1500 IU/mL. These values are dependent on the lot specific value of the calibrator in use.

SPAPLUS analyser dilution	Approximate measuring range (IU/mL)
1/1	30 – 1007
1/10	300 - 1500

9 QUALITY CONTROL

The controls provided should be included in all assay runs. The IgE concentration is stated on the accompanying Quality Control certificate (SIN283.QC). Sample results obtained should only be accepted if the control results are within $\pm 20\%$ of the concentration(s) stated.

10 LIMITATIONS

- 10.1 These kits are not suitable for the measurement of lipaemic or haemolysed samples due to the unpredictable degree of non-specific scatter these sample types may generate. Unexpected results should be confirmed using an alternative assay method.
- 10.2 Customers are strongly advised to run all controls with every batch of samples being assayed. Should a control value be out of range against a stored curve, it is recommended that the control is re-assayed using the same calibration curve. If the control value is still out of range the curve should be recalibrated and the controls re-assayed. If control values are out of range against the new calibration curve check the instrument and parameters entered before repeating the assay. If problems persist, refer to the supplier.
- 10.3 Diagnosis cannot be made and treatment must not be initiated on the basis of IgE measurements alone. Clinical history and other laboratory findings must also be taken into account.
- 10.4 Potential occurrences of antigen excess cannot be completely excluded; in rare cases samples with monoclonal IgE present may give falsely low results due to antigen excess. Where this is possible or suspected, it is recommended that the sample is re-assayed at a higher dilution to confirm the result.

11 EXPECTED VALUES

REFERENCE RANGE^{3,4}

The concentration of IgE in non-atopical subject's serum varies according to age.

Age group	Upper limit of the normal range (95th percentile)
New born	1.5 IU/mL
Up to 1 year	15.0 IU/mL
Children 1 - 5 years	60.0 IU/mL
Children 6 - 9 years	90.0 IU/mL
Children 10 - 15 years	200.0 IU/mL
Adults	100 IU/mL

It is recommended that each laboratory establish its own reference range to reflect the age, sex, diet and geographical location of the population.

For diagnostic purposes IgE results should be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings.

12 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

12.1 Precision

IgE precision summary						
	n	Mean (IU/mL)	Intra-assay		Total precision	
			SD	CV %	SD	CV %
Serum 1	80	115.08	3.83	3.3%	6.25	5.4%
Serum 2	80	378.64	8.00	2.1%	11.56	3.1%
Serum 3	80	497.14	9.73	2.0%	14.56	2.9%

12.2 Comparison

This method (Y) was compared with another commercially available method (X) and the following Passing & Bablok equation obtained:

$$y = 1.01x - 8.49$$

and a correlation coefficient of $r = 0.998$

73 patient samples were analysed spanning the range 31.1 to 932.8 IU/mL.

12.3 Analytical sensitivity

The Limit of Quantitation (LoQ), the Limit of Detection (LoD) and the Limit of Blank (LoB) were determined consistent with CLSI guidelines EP17-A2. LoQ is the smallest concentration that can be detected reliably. LoD is the smallest concentration that can be detected to determine the presence or absence of IgE. LoB is the highest concentration that is likely to be observed in a blank sample.

	IgE concentration IU/mL
Limit of Blank	4.92
Limit of Detection	10.29
Limit of Quantitation	30

12.4 Linearity

The method is linear up to an IgE concentration of 911.3 IU/mL.

This gave a regression plot of:

$$y = 1.01x + 3.17; r = 0.995$$

(y = measured IgE concentration, x = theoretical concentration)

12.5 Interference

The analytes below were tested up to the following levels and were found not to interfere:

Haemoglobin 1000 mg/dL
 Intralipid 1000 mg/dL
 Free Bilirubin 60 mg/dL
 Conjugated Bilirubin 60 mg/dL
 Triglycerides 2000 mg/dL

12.6 Antigen excess

Antigen excess effects are not noted until levels approach 16000 IU/mL.

13 BIBLIOGRAPHY

1. Kjellman NIM, Johansson SGD, Roth A. Clinical Allergy 1976; 6: 51-59.
2. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. Philadelphia, Pa: WB Sanders, 1995:442-444.
3. Ringel KP, Dati F, Buchholz E. IgE-Normalwerte bei Kindern. Laboratoriumsblätter 1982; 32: 26 – 34.
4. Dati F, Ringel KP. Reference values for serum IgE in healthy non-atopic children and adults. Clin Chem 1982; 28:1556.

IgE (Human) zur Verwendung auf dem SPAPLUS® Analyser

Nur zur *in-vitro* Diagnostic

Bestell-Nr.: LK014.S

The Binding Site Group Ltd, 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, U.K.
www.bindingsite.co.uk

Vertrieb in Deutschland, Österreich und Schweiz durch:
The Binding Site GmbH, Robert-Bosch-Straße 2A
D-68723 Schwetzingen, Deutschland
Telefon: +49 (0) 6202 92 62 0
Fax: +49 (0) 6202 92 62 222
e-mail: office@bindingsite.de

SPAPLUS® ist in Europa und USA ein eingetragenes Warenzeichen von The Binding Site Group Ltd, Birmingham, UK.



1 Verwendungszweck

Dieser Kit dient zur quantitativen *in-vitro* Bestimmung von Immunglobulin E (IgE) in humanem Serum oder Plasma unter Verwendung des SPAPLUS Analysers.

2 Einführung

IgE, mit einem ungefähren Molekulargewicht von 190.000 Da, gehört zu den Immunglobulinen und wird im Blut nur in Spuren gefunden. IgE wird zur Unterstützung der Allergie-Diagnostik bestimmt.¹

3 PRINZIP

Eine Agglutination findet auf Grund einer Antigen-Antikörper-Reaktion zwischen IgE und Anti-IgE-Antikörpern, die an Latexpartikel gekoppelt sind, statt. Hierdurch kommt es zu einer Absorptionsänderung bei 570nm, die proportional zur IgE-Konzentration in der Probe ist.

4 REAGENZIE

- 4.1 R1. IgE-Reaktionspuffer enthält Glycinpuffer 0,17M, Natriumchlorid 0,1M, Natrium-Ethylendiamintetraacetat (EDTA) 0,05M, Natriumazid ≤0,09%w/v.
- 4.2 R2. IgE-Reagenz Latexpartikel mit monoklonalen anti-human IgE-Antikörpern beschichtet. 0,125%, enthält Glycinpuffer 0,17M, Natriumchlorid 0,1M, Natriumazid ≤0,09%w/v.
- 4.3 IgE-Kontrollen geliefert in 3 Konzentrationen: 'Low', 'Medium' und 'High'. Zielwerte und Vertrauensbereiche sind auf dem Kalibrator-/Kontroll-Datenblatt angegeben. Gebrauchsfertig.
- 4.4 IgE-Kalibratoren 0-5 Zielwerte wurden unter Verwendung einer immunoturbidimetrischen Methode, die gegen die 2. Internationale Referenzpräparation 75/502 standardisiert ist, ermittelt. Kalibratoren liegen lyophilisiert vor.

5 WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN

Nur für die *in vitro* Diagnostik zu verwenden. Nicht mit dem Mund pipettieren. Führen Sie die üblichen Vorsichtsmaßnahmen aus, die für den Umgang mit Reagenzien im Labor erforderlich sind.

Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage verfügbar.

Alle biologischen und chemischen Materialien sollten entsprechend den lokalen Richtlinien entsorgt werden.

Dieser Test sollte nur für den angegebenen Verwendungszweck von entsprechend geschultem Laborpersonal und unter angemessenen Laborbedingungen durchgeführt werden.

6 LAGERUNG UND STABILITÄT

R1. IgE-Reaktionspuffer
Gebrauchsfertig. Bei lichtgeschützter Lagerung bei 2–8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Der IgE Reaktionspuffer (*IgE Reaction Buffer*) kann ohne Deckel bis zu 30 Tage im Gerät gelagert werden, vorausgesetzt der Hauptschalter (linke Seite hinten) wird nicht ausgeschaltet.

R2. IgE-Reagenz
Gebrauchsfertig. Bei lichtgeschützter Lagerung bei 2–8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Vor Gebrauch mehrmals schwenken, Schaumbildung vermeiden. Das IgE-Latexreagenz (*IgE Reagent*) kann ohne Deckel bis zu 30 Tage im Gerät gelagert werden, vorausgesetzt der Hauptschalter (linke Seite hinten) wird nicht ausgeschaltet.

IgE-Kontrollen
GEÖFFNET: Kühl lagern (2-8°C). Im Originalgefäß bei geschlossenem Deckel aufbewahrt, ist das Kontrollmaterial bei 2-8°C 30 Tage haltbar, vorausgesetzt es ist frei von Kontamination. Es sollte immer nur die erforderliche Menge entnommen werden. Nach Gebrauch sollte übriges Material NICHT in das Originalgefäß ÜBERFÜHRT WERDEN.

UNGEÖFFNET: Kühl lagern (2-8°C). Bis zum auf dem Fläschchen gedruckten Verfallsdatum haltbar.

IgE-Kalibratoren 0-5
Die IgE Kalibratoren sind bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar, wenn bei 2-8°C gelagert. Nach Rekonstitution sind sie 4 Wochen stabil, wenn bei 2 - 8 °C gelagert.

7 PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

Serum mit Standard-Entnahmeröhrchen sammeln. Für die Entnahme von Plasmaproben (K-EDTA oder Li-Heparin) die entsprechenden Entnahmeröhrchen verwenden. Sofort messen oder bei 2-8°C für bis zu 72 Stunden oder 6 Monate bei -20°C oder tieferen Temperaturen lagern.²

8 TESTDURCHFÜHRUNG

8.1 Gelieferte Materialien

- 8.1.1 1 x 100 Tests IgE Reagent SPAPLUS (Latexreagenz)
8.1.2 1 x 100 Tests IgE-Reaction Buffer SPAPLUS (Reaktionspuffer)
8.1.3 1 x IgE SPAPLUS Calibrator 0-5 (6 x 1,0mL IgE-Kalibratorset, lyophilisiert)
8.1.4 1 x 1,0mL IgE SPAPLUS Low Control (Kontrolle, Low Level)
8.1.5 1 x 1,0mL IgE SPAPLUS Medium Control (Kontrolle, Medium Level)
8.1.6 1 x 1,0mL IgE SPAPLUS High Control (Kontrolle, High Level)

8.2 Benötigte, nicht im Kit enthaltene Materialien

- 8.2.1 Laborausstattung zum Sammeln und Vorbereiten der Proben (Probenröhrchen, Zentrifugen etc.).
8.2.2 Einen vollausgestatteten und funktionsfähigen SPAPLUS Analyser.
8.2.3 Aktuelle Geräte-Bedienungsanleitung: SPAPLUS Bedienungsanleitung (FIN012).
8.2.4 Probendiluens (99: Dil 1), Binding Site Bestell-Nr.: SN080.S

8.3 Vorbereitung der Reagenzien

- 8.3.1 Das Kalibratorset wird in lyophilisierter Form geliefert. Vor dem Gebrauch muss jeder Kalibrator mit 1,0mL destilliertem Wasser rekonstituiert werden. 30 Minuten lang vorsichtig schwenken, dabei die Bildung von Schaum oder Luftblasen vermeiden.
8.3.2 Reagenzien vorsichtig schwenken bevor sie ins Gerät gestellt werden. Dabei Schaum- und Blasenbildung vermeiden, da dies Störungen beim Pipettieren verursachen kann.

8.4 Testdurchführung

Der Anwender sollte mit dem SPAPLUS vertraut sein, bevor der Test durchgeführt wird. Das Gerät, wie im Handbuch des Herstellers beschrieben, vorbereiten. Die Testparameter werden wie nachfolgend aufgeführt eingegeben.

Eine ausführliche Beschreibung entnehmen Sie der SPAPLUS Bedienungsanleitung (FIN012), die mit dem Gerät geliefert wird.

Hinweis. Für diesen Test wird ein Null-Kalibrator für die Leerwertmessung (Blank-Messung) verwendet. Hierzu bei Durchführung einer Kalibration 150µL von Kalibrator 0 in ein SPAPLUS-Probengefäß pipettieren und in Position B1 oder B2 auf dem Kalibrationsrack platzieren.

8.4.1 Testparameter

Die Testparameter werden unter Item-Nummer 47 angegeben

Item Name 47 IgE	
DATA INFORMATION	
Units	IU/mL
Decimals	2
ANALYSIS	
Type	End ▼
Main W.Length 1	570 ▼
Sub W.Length	800 ▼
CORR.	
Y =	1 X + 0
CALIBRATION	
Type	Logit 3 ▼
Standard	Auto Fill
1 #	4 #
2 #	5 #
3 #	6 #
NORMAL RANGE	
Method	MALE FEMALE
	LOW HIGH LOW HIGH
Serum	[] [] [] []
Urine	[] [] [] []
Plasma	[] [] [] []
CSF	[] [] [] []
Dialysis	[] [] [] []
Other	[] [] [] []
Page : 1	Print Hard Copy Next Page Save Return

Item Name 47 IgE	
DATA PROCESS	
ASPIRATION	
KIND	Single Double
VOLUME	5
SAMPLE REAGENT1 VOL	200 µL
REAGENT2 VOL	100
FACTOR	
Blank correction	Reaction Check
ENDPOINT LIMIT	2
LINEAR CHECK (%)	0
Third mix	OFF ON
Blank	Water - Blank
DILUTION	
Diluent	99: Dil 1 100: Dil 2
Pre Dilution Rate	10
Auto Rerun Dilution Rate High	10
Auto Rerun Dilution Rate Low	10
MONITOR	
0 LEVEL SPAN 1	3
SPAN	3
PROZONE CHECK	
FIRST	[] [] [] []
SECOND	[] [] [] []
THIRD	[] [] [] []
Min dOD [0]	
Page : 2 Print Prev Page Next Page Save Return	

*Automatisch berechnet

Item Name 47 IgE	
Auto Rerun SW	
On Off	
Auto Rerun Range (Result)	
On Off On Off	
Lower Higher	
Serum	# #
Urine	# #
Plasma	# #
CSF	# #
Dialysis	# #
Other	# #
Bottle Size (ml)	
24 Items	36 Items
Reagent1 60	Reagent 1 0
Reagent2 R1 21.0	Reagent2 R1 0
Reagent2 R2 11.0	Reagent2 R2 0
Auto Rerun Condition (Absorbance)	
Absorbance Range	
Lower On Off	
Higher On Off	
Prozone Range	
On Off	
Page : 3 Print Prev Page Next Page Save Return	

Item Name 47 IgE						
Out-of-Range Table						
	NEAT		Pre Dilution		Auto-rerun Dilution (*10)	
	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW
	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6
Serum	#	#	#	#	#	#
Urine	#	#	#	#	#	#
Plasma	#	#	#	#	#	#
CSF	#	#	#	#	#	#
Dialysis	#	#	#	#	#	#
Other	#	#	#	#	#	#
Page : 4	Prev Page		Save		Return	

Hinweis. Die Kalibratorkonzentrationen (Standard #) sind auf dem Kalibrator/Kontroll-Datenblatt (SIN283.QC) angegeben. Die Kalibratorkonzentrationen auf **Page 1** müssen in aufsteigender Reihenfolge eingegeben werden, d.h. der niedrigste Wert zuerst. **WICHTIG:** Das Gerät wird die Kalibratorkonzentrationen erst aktualisieren, wenn die **Auto Fill** Taste gedrückt wurde, nachdem der 5. Kalibratorwert auf Page 1 eingegeben wurde. Da dieser Test mit einer extrapolierten Kurve arbeitet, müssen die „Auto Rerun Range (Result)“ (Page 3) und die „Out-of-Range-“ (Page 4) Tabellen manuell anhand der Werte, die im Kalibrator/Kontroll-Datenblatt (SIN283.QC) angegeben sind, aktualisiert werden.

8.4.2 Kontrollvolumina

Unter Verwendung eines SPAPLUS Probengefäßes, das auf dem Rack platziert wird, reichen 150µL Kontrollvolumen aus.

8.5 Messbereich

Der Messbereich dieses Tests beträgt ungefähr 30 - 1007 IU/mL. Im Falle einer Wiederholungsmessung erweitert sich die obere Grenze des Messbereichs auf 1500 IU/mL. Diese Werte sind chargenspezifisch und abhängig von dem in Gebrauch befindlichen Kalibrator.

SPAPLUS Geräteverdünnung	Ungefährer Messbereich (IU/mL)
1/1	30 – 1007
1/10	300 - 1500

9 QUALITÄTSKONTROLLE

Die mitgelieferten Kontrollen sollten in allen Testläufen verwendet werden. Die IgE-Konzentration ist auf dem im Kit befindlichen Kalibrator/Kontroll-Datenblatt (SIN283.QC) angegeben. Gemessene Probenergebnisse sollten nur verwendet werden, wenn die Kontrollergebnisse sich innerhalb des ±20% Vertrauensbereichs befinden.

10 GRENZEN DES TESTS

- 10.1 Dieser Test ist nicht für die Bestimmung von lipämischen oder hämolytischen Proben, oder Proben, die zirkulierende Immunkomplexe (CIC) enthalten, geeignet, da diese Proben einen nicht vorhersagbaren Anteil an unspezifischer Trübung erzeugen können. Ungewöhnliche Ergebnisse sollten mit einer alternativen Methode überprüft werden.
- 10.2 Es wird dringend angeraten alle Kontrollen in jedem Testlauf mitzuführen. Liegt eine Kontrolle außerhalb des Vertrauensbereichs und wurde eine gespeicherte Kalibrationskurve verwendet, so wird empfohlen den Test neu zu kalibrieren. Liegt die Kontrolle auch nach der neuen Kalibration außerhalb des Vertrauensbereichs sollten das Gerät und die programmierten Testparameter überprüft werden. Lässt sich das Problem nicht lösen, wenden Sie sich bitte an Ihre Lieferfirma.
- 10.3 Die Diagnose und die Einleitung einer Therapie dürfen nicht ausschließlich auf der IgE-Bestimmung basieren. Das klinische Bild und andere Labor-Befunde müssen ebenfalls berücksichtigt werden.
- 10.4 Ein mögliches Auftreten von Antigenüberschuss kann nicht vollständig ausgeschlossen werden; Proben, die monoklonales IgE enthalten, können in seltenen Fällen durch das Vorliegen einer Antigenüberschuss-Situation zu falsch niedrigen Ergebnissen führen. Wenn diese Möglichkeit oder der Verdacht besteht, ist es empfohlen die Probe in einer höheren Verdünnung nachzumessen, um das Ergebnis zu überprüfen.

11 ERWARTETE WERTE

REFERENZBEREICHE ^{3,4}

Die IgE-Konzentration im Serum bei Personen ohne Atopie ist altersabhängig.

Altersgruppe	Obergrenze des Normalbereichs (95. Perzentile)
Neugeborene	1,5 IU/mL
Bis 1 Jahr	15,0 IU/mL
Kinder 1 - 5 Jahre	60,0 IU/mL
Kinder 6 - 9 Jahre	90,0 IU/mL
Kinder 10 - 15 Jahre	200,0 IU/mL
Erwachsene	100 IU/mL

Es wird empfohlen, dass jedes Labor einen Normalbereich ermittelt, um die geographische Lage, das Alter, Geschlecht und die Ernährungsgewohnheiten der Bevölkerung widerzuspiegeln.

Es wird empfohlen, dass für diagnostische Zwecke die IgE Resultate im Zusammenhang mit dem klinischen Befunden und Untersuchungsergebnissen bewertet werden.

12 LEISTUNGSDATEN

Folgende Leistungsdaten wurden unter Verwendung eines SPAPLUS Systems ermittelt.

12.1 Präzision

IgE Präzisions-Zusammenfassung						
	n	Mittelwert (IU/mL)	Intra-assay		Gesamt-Präzision	
			SD	VK %	SD	VK %
Serum 1	80	115,08	3,83	3,3%	6,25	5,4%
Serum 2	80	378,64	8,00	2,1%	11,56	3,1%
Serum 3	80	497,14	9,73	2,0%	14,56	2,9%

12.2 Methodenvergleich

Diese Methode (Y) wurde mit einer anderen kommerziell erhältlichen Methode (X) verglichen; dabei wurden folgende Passing & Bablok Regressionsgleichung ermittelt:

$$y = 1,01x - 8,49$$

und Korrelationskoeffizient $r = 0,998$

73 Proben wurden in einem Bereich von 31,1 bis 932,8 IU/mL gemessen.

12.3 Analytische Sensitivität

Die Bestimmungs-, Nachweis- und Leerwertgrenzen wurden einheitlich gemäß der CLSI Richtlinie EP17-A2 bestimmt. Die Bestimmungsgrenze ist die kleinste Konzentration, die zuverlässig bestimmt werden kann. Die Nachweisgrenze bezeichnet die kleinste Konzentration mit welcher der IgE gerade noch nachgewiesen werden kann. Die Leerwertgrenze ist die höchste Konzentration, die wahrscheinlich in der Leerwertprobe beobachtet werden kann.

	IgE-Konzentration IU/mL
Leerwertgrenze	4,92
Nachweisgrenze	10,29
Bestimmungsgrenze	30

12.4 Linearität

Die Methode ist bis zu einer IgE-Konzentration von 911,3 IU/mL linear.

Folgende lineare Regressionsgleichung wurde ermittelt:

$$y = 1,01x + 3,17; r = 0,995$$

(y = gemessene IgE-Konzentration, x = theoretische Konzentration).

12.5 Interferenz

Folgende Analyte wurden bis zu den angegebenen Konzentrationen getestet und verursachten keine Interferenzen:

Hämoglobin 1000 mg/dL
Intralipid 1000 mg/dL
Freies Bilirubin 60 mg/dL
Konjugiertes Bilirubin 60 mg/dL
Triglyceride 2000 mg/dL

12.6 Antigenüberschuss

Bis zu einer Konzentration von 16000 IU/mL wurden keine Antigenüberschuss-Effekte beobachtet.

13 REFERENZEN

1. Kjellman NIM, Johansson SGD, Roth A. Clinical Allergy 1976; 6: 51-59.
2. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. Philadelphia, Pa: WB Sanders, 1995:442-444.
3. Ringel KP, Dati F, Buchholz E. IgE-Normalwerte bei Kindern. Laboratoriumsblätter 1982; 32: 26 – 34
4. Dati F, Ringel KP. Reference values for serum IgE in healthy non-atopic children and adults. Clin Chem 1982; 28:1556

Coffret IgE pour utilisation sur SPAPLUS®

Pour un usage en diagnostic *in-vitro*

Référence : LK014.S

The Binding Site Group Ltd, 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, U.K.
www.bindingsite.co.uk

Distribués en France par la société :
The Binding Site France, 14 rue des Glairaux, CS 30026, 38522 Saint Egrève Cedex.
Téléphone : 04.38.02.19.19
Fax : 04.38.02.19.20
E-mail : info@bindingsite.fr

En Europe et aux USA, SPAPLUS® est une marque déposée de The Binding Site Group Ltd, Birmingham, RU.



1 INDICATIONS

Le coffret IgE est destiné à la quantification *in vitro* de la concentration en immunoglobuline E (IgE) dans le sérum ou le plasma humain en utilisant le turbidimètre SPAPLUS de Binding Site.

2 PRESENTATION GENERALE

Les IgE sont des immunoglobulines d'un poids moléculaire de 190 000 Da, présentes en quantité infime dans le sang. La quantification des IgE est utilisée dans l'aide au diagnostic des allergies¹.

3 PRINCIPE

L'agglutination a lieu du fait d'une réaction antigène-anticorps entre les IgE de l'échantillon et les anticorps anti-IgE coatés sur des particules de latex. La variation d'absorbance qui en résulte à 570nm est proportionnelle à la concentration en IgE dans l'échantillon.

4 REACTIFS

- 4.1 **Tampon de réaction IgE R1** contenant glycine (0,17 M), chlorure de sodium (0,1M), sel disodique d'acide éthylènediamine tétra-acétique de sodium déshydraté (0,05M), azide de sodium ($\leq 0,09$ % p/v).
- 4.2 **Réactif IgE R2** Particules Latex recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-IgE humaines (0,125%), contenant glycine (0,17M), chlorure de sodium (0,1M), azide de sodium ($\leq 0,09$ % p/v).
- 4.3 **Contrôles IgE** fournis à trois niveaux, bas, moyen et haut. Les valeurs cibles et intervalles de valeurs attendus sont indiqués dans le certificat de contrôle qualité. Prêts à l'emploi.
- 4.4 **Calibrateurs 0 à 5 IgE** les valeurs ont été assignées en utilisant une méthode immunoturbidimétrique standardisée contre la deuxième Préparation de Référence Internationale 75/502. Les calibrateurs sont lyophilisés.

5 PRECAUTIONS

Pour un usage en diagnostic *in vitro* seulement. Ne pas pipeter à la bouche. Respecter les précautions requises classiques pour la manipulation des réactifs de laboratoire.

Les Fiches de Données de Sécurité sont disponibles sur demande.

Veillez éliminer tous les matériaux biologiques et chimiques selon les recommandations locales en vigueur.

Les réactifs doivent être utilisés uniquement pour l'usage préconisé, par un personnel de laboratoire qualifié, dans des conditions de laboratoire appropriées.

6 STOCKAGE ET STABILITE

Tampon de réaction IgE R1

Prêt à l'emploi. Stable jusqu'à la date de péremption si stocké entre 2 et 8°C à l'abri de la lumière. Le tampon de réaction IgE (*IgE Reaction Buffer*) peut être stocké non fermé, jusqu'à 30 jours sur l'automate, à condition que l'interrupteur principal (situé à l'arrière, du côté gauche) reste sous tension.

Réactif IgE R2

Prêt à l'emploi. Stable jusqu'à la date de péremption si stocké entre 2 et 8°C à l'abri de la lumière. Mélanger par inversion plusieurs fois avant utilisation en évitant la formation de bulles. Le réactif IgE (*IgE Reagent*) peut être stocké non fermé, jusqu'à 30 jours sur l'automate, à condition que l'interrupteur principal (situé à l'arrière, du côté gauche) reste sous tension.

Contrôles IgE

APRES OUVERTURE : Conserver au réfrigérateur (2-8°C). Stables jusqu'à 30 jours à 2-8°C à condition d'être conservés dans les flacons d'origine bouchés, exempts de contamination. Seule la quantité de produit requise doit être prélevée. Après utilisation, NE PAS REMETTRE de produit restant dans le flacon d'origine.

AVANT OUVERTURE : Conserver au réfrigérateur (2-8°C). Stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur chaque flacon.

Calibrateurs 0 à 5 IgE

Les calibrateurs IgE sont stables jusqu'à la date de péremption si stockés entre 2 et 8°C. Après reconstitution, les calibrateurs sont stables jusqu'à 4 semaines si stockés entre 2 et 8°C.

7 PRELEVEMENT ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON

Collecter le sérum en utilisant des tubes de prélèvement standard et le plasma (K-EDTA ou Li-héparine) en utilisant des tubes appropriés. Analyser immédiatement ou conserver pendant 72 heures à 2-8°C ou 6 mois à -20°C ou moins.²

8 METHODOLOGIE

8.1 Matériels fournis

- 8.1.1 1 x 100 tests *IgE Reagent SPAPLUS* (Réactif IgE SPAPLUS)
- 8.1.2 1 x 100 tests *IgE Reaction Buffer SPAPLUS* (Tampon de Réaction IgE SPAPLUS).
- 8.1.3 1 x *IgE SPAPLUS Calibrator 0-5* (6 x 1,0mL) (Ensemble de calibrateurs IgE lyophilisés SPAPLUS).
- 8.1.4 1 x 1,0 mL *IgE SPAPLUS Low Control* (Contrôle bas IgE SPAPLUS).
- 8.1.5 1 x 1,0 mL *IgE SPAPLUS Medium Control* (Contrôle moyen IgE SPAPLUS).
- 8.1.6 1 x 1,0 mL *IgE SPAPLUS High Control* (Contrôle haut IgE SPAPLUS).

8.2 Matériels requis mais non fournis

- 8.2.1 Matériel nécessaire au prélèvement et à la préparation des échantillons : tubes, centrifugeuse, etc.
- 8.2.2 Un automate SPAPLUS opérationnel et équipé.
- 8.2.3 Instructions de fonctionnement à jour de l'automate : SPAPLUS Guide de référence (référence FIN012).
- 8.2.4 Coffret de diluant échantillon 1 SPAPLUS (99 : Dil 1), Référence : SN080.S

8.3 Préparation de l'ensemble des Calibrateurs et du Réactif

- 8.3.1 L'ensemble de calibrateurs est fourni sous forme lyophilisé. Reconstituer chaque flacon avec 1,0mL d'eau distillée et mélanger doucement pendant 30 minutes, en évitant la formation de bulles.
- 8.3.2 Avant de charger le réactif, le mélanger doucement par inversion et veiller à ce qu'aucune mousse ou bulle ne soit générée ou laissée à la surface car cela pourrait interférer avec l'aspiration du réactif.

8.4 Procédure de test

L'utilisateur doit être familiarisé avec le maniement de l'automate SPAPLUS avant de lancer la procédure de test. L'appareil doit être préparé selon les recommandations du fabricant et le protocole doit être saisi de la façon suivante.

Pour plus de détails sur les opérations pour l'automate, se référer au guide de référence du SPAPLUS (FIN012) fourni avec la machine.

N.B. Le Calibrateur zéro est utilisé pour la lecture du blanc pour ce dosage. Transférer 150µL du Calibrateur 0 dans une cupule échantillon et placer la cupule en position B-1 ou B-2 du Rack Calibrateur pour le lancement d'une calibration.

8.4.1 Paramètres de test

Les paramètres du test sont entrés sous le numéro d'item 47.

Item Name	47	IgE
DATA INFORMATION		
Units	IU/mL	
Decimals	2	
ANALYSIS		
Type	End	
Main W.Length	570	
Sub W.Length	800	
NORMAL RANGE		
Method		
Serum	[]	[]
Urine	[]	[]
Plasma	[]	[]
CSF	[]	[]
Dialysis	[]	[]
Other	[]	[]
CORR.		
Y =	SLOPE	INTER
	1	0
Page : 1 Print Hard Copy		

Item Name	47	IgE
DATA PROCESS		
ASPIRATION		
KIND	Single	Double
VOLUME	5	
SAMPLE		
REAGENT1 VOL	200	µL
REAGENT2 VOL	100	
FACTOR		
Blank correction	*	
ENDPOINT LIMIT	2	
LINEAR CHECK (%)	0	
DILUTION		
Diluent	99: Dil 1	100: Dil 2
Pre Dilution Rate		
Auto Rerun Dilution Rate High	10	
Auto Rerun Dilution Rate Low		
MONITOR		
0 LEVEL SPAN	1	
SPAN	3	
PROZONE CHECK		
FIRST	[]	[]
SECOND	[]	[]
THIRD	[]	[]
Page : 2 Print Prev Page Next Page Save Return		

* Calculé automatiquement

Item Name	47	IgE
Auto Rerun SW		
On	Off	
Auto Rerun Range (Result)		
On	Off	On
Lower	Higher	
Serum	#	#
Urine	#	#
Plasma	#	#
CSF	#	#
Dialysis	#	#
Other	#	#
Bottle Size (ml)		
24 Items		36 Items
Reagent1	60	Reagent 1 0
Reagent2 R1	21.0	Reagent2 R1 0
Reagent2 R2	11.0	Reagent2 R2 0
Page : 3 Print Prev Page Next Page Save Return		

Item Name 47 IgE						
Out-of-Range Table						
	NEAT		Pre Dilution		Auto-rerun Dilution (*10)	
	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW
	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6
Serum	#	#	#	#	#	#
Urine	#	#	#	#	#	#
Plasma	#	#	#	#	#	#
CSF	#	#	#	#	#	#
Dialysis	#	#	#	#	#	#
Other	#	#	#	#	#	#
Page : 4	Prev Page		Save		Return	

N.B. Les valeurs des calibrateurs (Standard #) à entrer en Page : 1 se trouvent sur le Certificat de Contrôle Qualité (SIN283.QC) et doivent être saisies par ordre croissant, en commençant donc par la valeur la plus faible. **IMPORTANT:** L'automate ne mettra à jour les valeurs des calibrateurs que si le bouton **Auto Fill** est pressé après avoir entré la valeur du calibrateur 5 sur la Page : 1. Le test utilise une courbe de calibration extrapolée. Ainsi, les tables Auto Rerun Range (Résultat) (Page 3) et Out-of-Range (Page 4) doivent être mises à jour manuellement en utilisant les valeurs indiquées dans le Certificat de Contrôle Qualité (SIN283.QC).

8.4.2 Volumes des contrôles

Transférer 150µL de contrôle dans une cupule échantillon et la placer sur le portoir.

8.5 Gamme de mesure

La gamme de mesure approximative de ce test s'étend de 30 à 1007 UI/mL. Dans le cas d'une repasse, la valeur haute de la gamme de mesure du test passe à 1 500 UI/mL. Ces valeurs sont spécifiques du lot de calibrateurs utilisé.

Dilution SPAPLUS	Gamme de mesure approximative (UI/mL)
1/1	30 – 1 007
1/10	300 - 1 500

9 CONTROLE QUALITE

Les contrôles fournis doivent être inclus dans chaque série. Les concentrations des contrôles IgE sont indiquées sur le Certificat de Contrôle de Qualité (SIN283.QC). Les résultats obtenus pour les échantillons ne doivent être acceptés que si les résultats des contrôles de la série sont dans une gamme de +/- 20% par rapport aux valeurs cibles.

10 LIMITES

- 10.1 Ce coffret n'est pas approprié pour le dosage des échantillons lipidiques ou hémolysés, du fait du degré imprévisible de déviation non spécifique que ce type d'échantillons peut générer. Des résultats inattendus doivent être confirmés en utilisant une méthode alternative.
- 10.2 Il est vivement conseillé aux utilisateurs de passer tous les contrôles avec chaque série d'échantillons à tester. Si la valeur d'un contrôle est en dehors des limites acceptables en utilisant une courbe en mémoire, il est recommandé de repasser le contrôle en utilisant la même courbe de calibration. Si la valeur du contrôle est toujours en dehors des limites acceptables, établir une nouvelle calibration et repasser les contrôles. Si après cette calibration, les valeurs des contrôles sont toujours en dehors des limites, l'appareil et les paramètres du protocole doivent être vérifiés et le test répété. Si les problèmes persistent, contacter le fournisseur.
- 10.3 Le diagnostic ne peut être fait, et le traitement ne peut être initié, uniquement sur les mesures d'IgE. L'historique clinique et les autres résultats de laboratoire doivent être pris en compte.
- 10.4 Un excès d'antigène possibles ne peut pas être complètement écarté; dans de rares cas des échantillons avec une IgE monoclonale peuvent donner des résultats faussement bas à cause d'un excès d'antigène. Lorsque ceci est possible ou suspecté, il est recommandé que l'échantillon soit testé à nouveau à une dilution supérieure pour confirmer le résultat.

11 VALEURS ATTENDUES

GAMME DE REFERENCE^{3,4}.

La concentration en IgE dans le sérum de sujets non atopiques varie selon l'âge.

Groupe d'âge	Limite haute des valeurs normales (95 percentile)
Nouveau nés	1,5 UI/mL
Jusqu'à 1 an	15,0 UI/mL
Enfants âgés de 1 à 5 ans	60,0 UI/mL
Enfants âgés de 6 à 9 ans	90,0 UI/mL
Enfants âgés de 10 à 15 ans	200,0 UI/mL
Adultes	100 UI/mL

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales de façon à refléter la localisation géographique, l'âge, le sexe et le régime alimentaire de la population locale.

À des fins diagnostiques, les résultats des dosages des IgE doivent être évalués en conjonction avec les antécédents médicaux du patient, l'examen clinique et les autres résultats.

12 PERFORMANCES

12.1 Précision

Résumé des précisions IgE						
	n	Moyenne (UI/ml)	Intra-essais		Totale	
			Ecart-type (UI/mL)	CV %	Ecart-type (UI/mL)	CV %
Sérum 1	80	115,08	3,83	3,3 %	6,25	5,4 %
Sérum 2	80	378,64	8,00	2,1 %	11,56	3,1 %
Sérum 3	80	497,14	9,73	2,0 %	14,56	2,9 %

12.2 Comparaison

Cette méthode (Y) a été comparée à une méthode commerciale alternative (X) et l'équation de régression Passing & Bablok suivante a été obtenue :

$$y = 1.01x - 8.49$$

et un coefficient de corrélation $r = 0,998$

73 échantillons de patients ont été testés, couvrant la gamme 31,1 à 932,8 UI/mL

12.3 Sensibilité analytique

Les limites de quantification (LoQ), de détection (LoD) et du blanc (LoB) ont été déterminées, conformément aux recommandations du CLSI EP17-A2. LoQ est la plus petite concentration qui peut être détectée de manière fiable. LoD est la plus petite concentration qui peut être détectée pour déterminer la présence ou l'absence de IgE. LoB est la concentration la plus élevée qui est susceptible d'être observée dans un échantillon témoin (blanc).

	Concentration IgE IU/mL
Limite du blanc	4,92
Limite de detection	10,29
Limite de quantification	30

12.4 Linéarité

La linéarité de cette méthode a été testée jusqu'à une concentration en IgE de 911,3 UI/mL, donnant l'équation de régression linéaire suivante :

$$y = 1,01x + 3,17 \text{ UI/mL } r = 0,995$$

(y = concentration en IgE mesurée ; x = concentration en IgE théorique).

12.5 Interférence

Aucune interférence significative n'a été observée avec les concentrations suivantes d'analytes :

- 1000 mg/dL d'hémoglobine
- 1 000 mg/dL de lipides
- 60 mg/dL de bilirubine libre
- 60 mg/dL de bilirubine conjuguée
- 2 000 mg/dL de triglycérides

12.6 Excès d'antigène

Aucun excès d'antigène n'a été observé jusqu'à une concentration d'approximativement 16 000 UI/mL.

13 BIBLIOGRAPHIE

- Kjellman NIM, Johansson SGD, Roth A. Clinical Allergy 1976; 6: 51-59.
- Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. Philadelphia, Pa: WB Sanders, 1995:442-444.
- Ringel KP, Dati F, Buchholz E. IgE-Normalwerte bei Kindern. Laboratoriumsblätter 1982; 32: 26 – 34
- Dati F, Ringel KP. Reference values for serum IgE in healthy non-atopic children and adults. Clin Chem 1982; 28:1556

Item Name 47 IgE						
Out-of-Range Table						
	NEAT		Pre Dilution		Auto-rerun Dilution (*10)	
	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW
	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6
Serum	#	#	#	#	#	#
Urine	#	#	#	#	#	#
Plasma	#	#	#	#	#	#
CSF	#	#	#	#	#	#
Dialysis	#	#	#	#	#	#
Other	#	#	#	#	#	#
Page : 4 Prev Page Save Return						

N.B. Los valores de comprobación del calibrador (# Estándar) se encuentran en el certificado de control de calidad (SIN283.QC). Los valores del calibrador en **Page 1** se deben introducir en orden ascendente, el valor más bajo en primer lugar. **IMPORTANTE:** el analizador sólo actualizará los valores del calibrador siempre y cuando se pulse el botón **Auto Fill** tras introducir el valor del calibrador 5 en Page: 1. El ensayo utiliza una curva de calibración extrapolada, por lo tanto las tablas Auto Rerun Range (Result) (Page 3) y Out-of-Range (Page 4) se deben actualizar manualmente con los valores indicados en el certificado de control de calidad (SIN283.QC)

8.4.2 Volúmenes de control

Transfiera 150µL de fluido de control a una copa de muestras y colóquelo en el rack.

8.5 Rango de medición

El rango aproximado de medición de este ensayo es de 30 - 1007 IU/mL. En caso de redilución, el límite superior del ensayo se incrementa a 1500 IU/mL. Estos valores dependen del lote específico de calibrador que se esté usando.

Dilución del analizador SPAPLUS	Rango aproximado de medición (IU/mL)
1/1	30 – 1007
1/10	300 - 1500

9 CONTROL DE CALIDAD

Los controles suministrados se deben incluir en todas las ejecuciones del ensayo. La concentración de IgE está indicada en el Certificado de control de calidad que acompaña al producto (SIN283.QC). Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del $\pm 20\%$ de las concentraciones indicadas.

10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 10.1 Estos kits no son adecuados para la determinación de muestras altamente lipémicas o hemolíticas dado que pueden producir una cantidad impredecible de luz dispersa no especificable. Los resultados previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- 10.2 Se recomienda encarecidamente ensayar todos los controles con cada lote de muestras a ensayar. Si una medida de control queda fuera de rango cuando se ensaya con una curva de calibración guardada se recomienda volver a analizar el control con la misma curva. Si el valor de control sigue fuera de rango se debe recalibrar la curva y volver a ensayar los controles. Si con la nueva curva los valores de control quedan aún fuera de rango, se debe revisar el instrumento y los parámetros introducidos antes de repetir el ensayo. Si los problemas continúan, contacte con su proveedor.
- 10.3 No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de IgE, deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio.
- 10.4 No es posible descartar del todo la posibilidad de exceso de antígeno; en casos aislados, muestras con presencia de IgE monoclonal pueden dar resultados bajos falsos debido al exceso de antígeno. En los casos en que haya sospecha de esta posibilidad, se recomienda que se vuelva a analizar la muestra a una dilución superior para confirmar el resultado.

11 VALORES ESPERADOS

RANGO DE REFERENCIA^{3,4}

La concentración de IgE en el suero de individuos no atópicos varía según la edad.

Grupo de edad	Límite superior del rango de normalidad (95 percentil)
Neonatos	1,5 IU/mL
Hasta un año de edad	15,0 IU/mL
Niños de entre 1 y 5 años	60,0 IU/mL
Niños de entre 6 y 9 años	90,0 IU/mL
Niños de entre 10 y 15 años	200,0 IU/mL
Adultos	100 IU/mL

Se recomienda que cada laboratorio establezca un rango de referencia para reflejar la localización geográfica y la edad, sexo y dieta de la población.

Para establecer un diagnóstico se deben evaluar los resultados de IgE en conjunción con la historia clínica, examen médico y resultados de otras pruebas de laboratorio.

12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

12.1 Precisión

Resumen de precisión IgE						
	n	Media (IU/mL)	Intra-ensayo		Precisión total	
			SD	CV %	SD	CV %
Suero 1	80	115,08	3,83	3,3%	6,25	5,4%
Suero 2	80	378,64	8,00	2,1%	11,56	3,1%
Suero 3	80	497,14	9,73	2,0%	14,56	2,9%

12.2 Estudio comparativo

Se comparó este método (Y) con otro método alternativo disponible en el mercado (X) y se obtuvo la siguiente regresión lineal:

$$y = 1,01x - 8,49$$

$$\text{y un coeficiente de correlación de } r = 0,998$$

Se analizaron 73 muestras abarcando un rango de 31,1 a 932,8 IU/mL.

12.3 Sensibilidad analítica

El Límite de Cuantificación, el Límite de Detección y el Límite de Blanco fueron determinados de forma consistente con las recomendaciones de la CLSI EP17-A2. Límite de Cuantificación es la mínima concentración que puede ser detectada de manera fiable. Límite de Detección es la mínima concentración que puede ser detectada para determinar la presencia o ausencia de IgE. Límite de Blanco es la concentración más alta que es posible observar en una muestra de blanco.

	Concentración IgE IU/mL
Límite de Blanco	4,92
Límite de Detección	10,29
Límite de Cuantificación	30

12.4 Linealidad

Este método es lineal hasta una concentración de 911,3 IU/mL.

Esto dio una curva de regresión de:
 $y = 1,01x + 3,17$; $r = 0,995$
 (y = concentración de IgE medida, x = concentración teórica)

12.5 Sustancias interferentes

Se analizaron los siguientes analitos hasta los niveles que se indican sin que resultaran interferentes:

1000 mg/dL de hemoglobina
 1000 mg/dL de intralípido
 60 mg/dL de bilirrubina libre
 60 mg/dL de bilirrubina conjugada
 2000 mg/dL de triglicéridos

12.6 Exceso de antígeno

Sin presencia de exceso de antígeno hasta niveles de cerca de 16000 IU/mL.

13 BIBLIOGRAFÍA

1. Kjellman NIM, Johansson SGD, Roth A. Clinical Allergy 1976; 6: 51-59.
2. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. Philadelphia, Pa: WB Sanders, 1995:442-444.
3. Ringel KP, Dati F, Buchholz E. IgE-Normalwerte bei Kindern. Laboratoriumsblätter 1982; 32: 26 – 34
4. Dati F, Ringel KP. Reference values for serum IgE in healthy non-atopic children and adults. Clin Chem 1982; 28:1556