

RIDA qLine[®] Allergy

Art. No.: A6142 Panel 1 (20 verschiedene Allergene)

Art. No.: A6242 Panel 2 (20 inhalative Allergene)

Art. No.: A6342 Panel 3 (20 Nahrungsmittelallergene)

Art. No.: A6442 Panel 4 (20 Pädiatrisches Panel)

Dieses Handbuch gilt auch für alle anderen länderspezifischen Panels.

Die betreffende Allergenzusammenstellung kann dem jeweils mitgelieferten Zertifikat entnommen werden.



1. Anwendungsbereich

Für die *in vitro* Diagnostik. Dieser Test ist ein Enzymimmunoassay auf einer Nitrozellulosemembran (Immunoblot) zum quantitativen Nachweis von allergenspezifischen IgE-Antikörpern in humanem Serum und Plasma (Citrat).

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Die Aufgabe des Immunsystems ist die Abwehr von pathogenen Bakterien, Viren und anderen Mikroorganismen. Die Abwehrreaktion dient dem Schutz des Organismus bei Erstkontakt mit den Krankheitserregern, aber auch der Immunisierung bei wiederholtem Kontakt. Allen allergischen Reaktionen ist ebenfalls ein symptomfreier Erstkontakt vorausgegangen, bei dem bereits spezifische Antikörper der Klasse E (IgE-Antikörper) gebildet worden sind. Bei wiederholtem Kontakt mit dem auslösenden Allergen reagieren diese IgE-Antikörper mit dem Allergen und führen zur Ausschüttung von Mediatoren (meistens aus Mastzellen) wie Histamin, Leucotrien, Prostaglandin etc., die ihrerseits zur Symptomatik der Allergie führen. Durch den Nachweis der spezifischen IgE-Antikörper im Serum können bei Vorliegen von allergischen Reaktionen die auslösenden Allergene identifiziert werden. Aber auch bereits bestehende Sensibilisierungen ohne Symptome können damit erfasst werden.

3. Testprinzip

Der vorliegende Test basiert auf dem Prinzip des Immunoblot-Verfahrens. An die Oberfläche von Nitrocellulosemembranen sind verschiedene Allergene je nach Panelzusammensetzung in separaten Linien gebunden. In Patientenproben vorhandene, allergenspezifische IgE-Antikörper reagieren mit den entsprechenden Allergenen. An die gebundenen Antikörper binden in einem zweiten Schritt Biotin-gekoppelte Anti-Human-IgE-Antikörper. Während eines dritten Inkubationsschrittes bindet das Biotin an ein Streptavidin-Peroxidase-Konjugat. Die Peroxidase setzt in einem finalen Inkubationsschritt das farblose Substrat Tetramethylbenzidin (TMB) zu einem blau-lilafarbenen Endprodukt um. Zwischen den einzelnen Inkubationen erfolgt jeweils ein Waschschriff, um nicht gebundenes Material zu entfernen. Die Intensität der Blaufärbung ist proportional zur Menge an allergenspezifischen Antikörpern im Patienten-Serum. Die Auswertung erfolgt mittels RIDA qLine[®] Scan (IVD) oder eines handelsüblichen, von R-Biopharm validierten 3D-Farb-Flachbettscanners (nicht IVD) in Kombination mit der Software RIDA qLine[®] Soft. Die Farbintensitäten der Allergenbanden werden anhand einer auf dem Streifen befindlichen Standardkurve quantitativ ausgewertet, um die jeweilige IU/ml bzw. RAST-Klasse zu ermitteln.

Standardkurve und Positivkontrolle

Der RIDA qLine® Allergy ist aufgrund der echten, am WHO-Standard kalibrierten, Standardkurve ein quantitativer Test. Auf jedem Streifen sind 5 Standards aufgebracht. Die 5 Standards entsprechen den Rastklassen 1 - 5, wobei die Rastklasse 6 in der Software extrapoliert wird.

Die Standardkurve ist nur dann sichtbar und die Validitätskriterien erfüllt, wenn der Test richtig abgearbeitet wurde und alle Reagenzien funktionstüchtig sind. Die Validitätskriterien der Standardkurve / Funktionskontrolle sind dann erfüllt, wenn alle 5 Standards sichtbar sind und von der Software erkannt werden, der kleinste Standard mindestens die Intensität 10 erreicht und die Intensität von Standard 1 < Standard 2 < Standard 3 < Standard 4 < Standard 5 ist.

Mit der Positivkontrolle wird das gesamte System überprüft. Der erwartete Wert kann nur dann ausgegeben werden, wenn die Streifen korrekt verarbeitet wurden, das Messsystem die Bande korrekt erkannt hat und die Software die Berechnung korrekt durchgeführt hat. Die Positivkontrolle muss mindestens den Wert RAST 4 erreichen, um als valide ausgegeben zu werden.

CCD-Bande

Die CCD-Bande besteht aus aufgereinigten Kohlenhydratseitenketten, die an die Nitrozellulosemembran gebunden sind. Die CCD-Bande dient dem Nachweis spezifischer IgE-Antikörper gegen kreuzreagierende Kohlenhydratdeterminanten (CCD) in der Patientenprobe.

Spezifische IgE Antikörper werden vom Immunsystem gegen echte Allergene gebildet, aber auch gegen die Kohlenhydratseitenketten von Allergenen (anti-CCD-IgE) pflanzlichen Ursprungs, von Insekten, von Weichtieren oder von Latex. Diese Anti-CCD-IgEs führen ebenfalls zu Kreuzreaktionen mit nicht verwandten Proteinen und werden deshalb auch „kreuzreaktive Kohlenhydratseitenketten“ (cross-reactive carbohydrate determinants (CCD) genannt.

Circa 25% aller Allergiepazienten produzieren Anti-CCD-IgEs, welche allerdings sehr wahrscheinlich keine Allergiesymptome auslösen und daher keine klinische Relevanz besitzen.

Weil diese Kreuzreaktionen in in vitro Testsystemen zu positiven Ergebnissen führen können, müssen sie als falsch positiv bewertet werden. Um korrekt zwischen richtig und falsch positiven Ergebnissen zu unterscheiden, wird bei positivem Ergebnis der CCD-Bande (\geq RAST 1) empfohlen, die Testung zu wiederholen und das Serum im Vorfeld der Testung mit einem CCD-Inhibitor (ZA0601) zu blocken, um die Bindung an CCDs in in vitro Testen zu verhindern.

4. Packungsinhalt

Tabelle 1: Packungsinhalt reicht für 10 Bestimmungen

Membrane	10 Stück	RIDA qLine® Allergy Testmembranen (Nitrozellulosemembranen), beschichtet mit Allergenmaterial auf 20 Testfeldern und 5 Standards in Reaktionströgen
Wash 25x	5 ml	Waschpuffer, 25-fach konzentriert; Tris. / NaCl
Antibody	5 ml	Detektions-Antikörper; mit Biotin konjugierter anti-human-IgE Antikörper (Ziege), gebrauchsfertig
Conjugate	5 ml	Streptavidin-Konjugat; mit Peroxidase konjugiertes Streptavidin, gebrauchsfertig
Substrate	5 ml	Substrat; TMB (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Die Testmembranen sind unter kühlen, trockenen und dunklen Bedingungen in der Aluminiumverpackung zu lagern. Das Testkit ist bei 2-8 °C zu lagern. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von 2-8 °C maximal 4 Wochen haltbar. Mikrobielle Kontamination ist zu vermeiden. Nach Erreichen des Verfalldatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Eine Kontamination der Substratlösung mit Konjugat ist unbedingt zu vermeiden, da dies eine Verfärbung des Substrats zur Folge hat. Ebenso ist eine direkte Lichteinwirkung auf das Substrat zu vermeiden, um einer Zersetzung bzw. Verfärbung durch Autoxidation vorzubeugen. Bei aufgetretener Verfärbung kann das Substrat nicht mehr verwendet werden.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien - erforderliches Zubehör

6.1. Reagenzien

- Destilliertes oder entionisiertes Wasser

6.2. Zubehör

- Vortex Mixer
- Messzylinder (200 ml)
- Mikropipette, 1000 µl
- Testmembranhalter (Kamm) zur Aufnahme von 10 Testmembranen

- Cover Box für Dunkelinkubation (System aus Testmembranhalter und Cover Box (RIDA qLine® Incubation Box, Art. Nr.: ZG2701) kann über die R-Biopharm AG bezogen werden)
- Orbitalschüttler (300 U/min, 3 mm Orbitalradius, Art. Nr.: ZG2601)
- RIDA qLine® Scan (Art. Nr.: ZG1109) plus Personal Computer mit USB-Port
- Von der R-Biopharm AG validierte 3D-Farb-Flachbettscanner (Art. Nr.: ZG1106) plus Personal Computer mit USB-Port
- RIDA qLine® Soft Software (Art. Nr.: Z9995)

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhaut vermeiden. Während des Umgangs mit Proben Einmalhandschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In den Bereichen, in denen mit den Proben oder den Test-Reagenzien gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Antikörper und Waschpuffer enthalten als Konservierungsmittel Natriumazid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden. Bei Kontakt mit Blei- oder Kupferrohren können explosive Metallazide entstehen.

Das Substrat enthält Wasserstoffperoxid sowie Chlormethylisothiazolon und Methylisothiazolon als Konservierungsmittel in subtoxischen Konzentrationen.

Bei defekter Umverpackung sind die Einzelkomponenten vor Gebrauch auf ihre Unversehrtheit zu überprüfen. Kitkomponenten dürfen nicht verwendet werden, wenn ihre Einzelverpackungen beschädigt bzw. ihre Behältnisse undicht sind.

Alle Bestandteile des Kits müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden.

Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, müssen mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt oder mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

Der Test ist für die Untersuchung von humanem Serum und Plasma (Citrat) entwickelt worden. Nach der Blutentnahme sollte zur Vermeidung einer Hämolyse das Serum möglichst schnell vom Blutkuchen getrennt werden. Die Proben sind bis zur Testung kühl oder gefroren zu lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen des Serums ist unbedingt zu vermeiden, ebenso mikrobielle Kontamination. Die Verwendung von Hitze inaktivierten, lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder trüben Seren kann zu verfälschten Ergebnissen führen.

Tabelle 2: Probenlagerung

2-8 °C	1 Woche
-20 °C	> 1 Woche

9. Testdurchführung

9.1. Allgemeines

Ein Austausch oder Kombinieren von Kitkomponenten aus Kits verschiedener Chargennummern ist zulässig.

Reproduzierbare Ergebnisse hängen in starkem Maße von der Einhaltung der Inkubationszeiten und -temperaturen sowie dem vorschriftsmäßigen Waschen der Testmembranen ab.

Alle Testkomponenten müssen vor Beginn der Durchführung auf Raumtemperatur (20 - 25° C) gebracht werden.

9.2. Herstellung des Waschpuffers

5 ml Waschpuffer-Konzentrat **Wash 25x** in einen Messzylinder überführen und mit destilliertem Wasser auf 125 ml auffüllen (= Waschpuffer). Eventuell im Konzentrat vorhandene Kristalle vorher durch Erwärmen (Wasserbad bei 37 °C) lösen. Waschpuffer in einem für Pipetten zugänglichen Gefäß bereithalten.

9.3. Erste Inkubation

Entsprechend der Anzahl der durchzuführenden Tests werden die Testmembranen **Membrane** aus der Packung entnommen. Zur Fixierung der Streifen beim Schütteln, werden die Tröge in den Testmembranhalter (Kamm) gesteckt. Die Testmembranen werden mit je 500 µl Waschpuffer benetzt und 1 Minute auf dem Orbitalschüttler (300 U/min, 3 mm Orbitalradius) geschüttelt bis keine Bläschen mehr aufsteigen. Danach werden die Testmembranen **Membrane** entleert, indem sie auf einer saugfähigen Unterlage ausgeschlagen werden. Anschließend werden die Testmembranen **Membrane** mit 400 µl Patientenserum gefüllt und 30 Minuten bei Raumtemperatur (20-25 °C) auf dem Orbitalschüttler inkubiert. Dabei muss darauf geachtet werden, dass die Flüssigkeit die Membran vollständig bedeckt. Sollte dies nicht der Fall sein, kann vorsichtig mit einer Pipettenspitze nachgeholfen werden, ohne die Membran zu berühren.

9.4. Waschen

Nach der Seruminkubation werden die Tröge entleert. Die Testmembranen **Membrane** werden nun in drei separaten Schritten mit je 400 µl Waschpuffer für jeweils 1 Minute auf dem Orbitalschüttler unter den gleichen Bedingungen wie bei der Inkubation gewaschen. Danach die Testmembranen entleeren und auf einer saugfähigen Unterlage ausschlagen.

9.5. Zweite Inkubation

Es werden 400 µl Antikörper **Antibody** auf jede Testmembran **Membrane** pipettiert. Dabei ist wieder darauf zu achten, dass die Flüssigkeit die Membran vollständig bedeckt. Die Testmembranen **Membrane** werden 45 Minuten bei Raumtemperatur (20-25 °C) auf dem Orbitalschüttler inkubiert.

9.6. Waschen

Waschen gemäß Punkt 9.4.

9.7. Dritte Inkubation

Es werden 400 µl Konjugat **Conjugate** auf jede Testmembran **Membrane** pipettiert. Dabei ist erneut darauf zu achten, dass die Flüssigkeit die komplette Membran vollständig bedeckt. Die Testmembranen **Membrane** werden 20 Minuten bei Raumtemperatur (20-25 °C) auf dem Orbitalschüttler inkubiert.

9.8. Waschen

Dieser Waschschrift ist von entscheidender Bedeutung für die Qualität des Ergebnisses.

Über einem Waschbecken oder geeigneten Auffanggefäß wird jeder Streifen dreimal mit je 1000 µl Waschpuffer abgespült. Hierfür den Streifen schräg halten und beim Pipettieren der Flüssigkeit die Pipette, ohne die Membran zu berühren, vom oberen zum unteren Teil der Membran führen. Danach die Testmembranen **Membrane** in zwei separaten Schritten mit je 400 µl Waschpuffer für jeweils 1 Minute auf dem Orbitalschüttler unter den gleichen Bedingungen wie bei der Inkubation waschen. Danach die Testmembranen entleeren und auf einer saugfähigen Unterlage ausschlagen.

9.9. Vierte Inkubation

Es werden 400 µl Substrat **Substrate** auf jede Testmembran **Membrane** aufgetragen, so dass die Membran vollständig bedeckt ist. Die Testmembranen **Membrane** werden 15 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur (20-25 °C) auf dem Orbitalschüttler inkubiert.

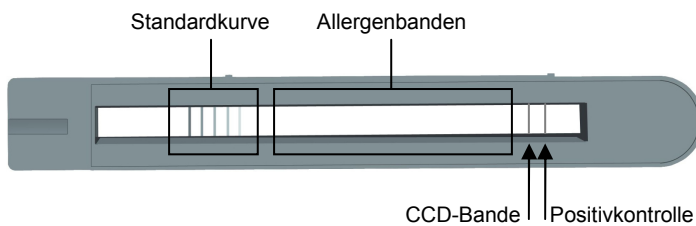
9.10. Waschen

Nach der Substratinkubation werden die Tröge entleert. Die Testmembranen **Membrane** werden abschließend einmal mit 400 µl Waschpuffer und einmal mit 400 µl destilliertem Wasser für jeweils 1 Minute auf dem Orbitalschüttler (300 U/min, 3 mm Orbitalradius) unter den gleichen Bedingungen wie bei der Inkubation gewaschen. Danach die Testmembranen entleeren und auf einer saugfähigen Unterlage ausschlagen.

Nach einer Trocknung von mindestens 30 Minuten an der Luft bzw. wenn sich kein Flüssigkeitsfilm mehr auf der Membran befindet, kann der Test ausgewertet werden. Wir empfehlen die Trocknung der Membranen mittels eines Kaltluftföns.

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Der Test ist korrekt verlaufen, wenn der Hintergrund vollständig entfärbt ist, die Standardkurve aus fünf differenzierenden Banden sichtbar ist und die Positivkontrolle den Spezifikationen entspricht.



Eine Reagenzienrübung oder eine bläuliche Verfärbung des Substrates vor Zugabe zur Testmembran Membrane können ein Hinweis auf einen Reagenzienverfall sein.

Sollte die Standardkurve nicht differenziert sichtbar sein, ist vor einer Testwiederholung Folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z. B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit; eine bläulich gefärbte Substratlösung darf nicht mehr verwendet werden.

Sind nach Testwiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder ihren lokalen R-Biopharm Distributor.

11. Auswertung und Interpretation

11.1. Membrankonfigurationen von RIDA qLine® Allergy Panel 1, 2, 3, und 4

Panel 1 20 Allergene	Panel 2 20 Allergene	Panel 3 20 Allergene	Panel 4 20 Allergene
Standard 5	Standard 5	Standard 5	Standard 5
Standard 4	Standard 4	Standard 4	Standard 4
Standard 3	Standard 3	Standard 3	Standard 3
Standard 2	Standard 2	Standard 2	Standard 2
Standard 1	Standard 1	Standard 1	Standard 1
Derm. pteronyssinus	Derm. pteronyssinus	Haselnuss	Derm. pteronyssinus
Derm. farinae	Derm. farinae	Erdnuss	Derm. farinae
Erle	Erle	Walnuss	Birke
Birke	Birke	Mandel	Gräsermischung
Hasel	Hasel	Milch	Katze
Gräsermischung	Eiche	Eiweiß	Hund
Roggen (Pollen)	Gräsermischung	Eigelb	Alternaria alternata
Beifuß	Roggen (Pollen)	Kasein	Milch
Wegerich	Beifuß	Kartoffel	α-Lactalbumin
Katze	Wegerich	Sellerie	β-Lactoglobulin
Pferd	Katze	Karotte	Kasein
Hund	Pferd	Tomate	Eiweiß
Alternaria alternata	Hund	Kabeljau	Eigelb
Eiweiß	Meerschweinchen	Krabbe	Rinderserumalbumin
Milch	Hamster	Orange	Sojabohne
Erdnuss	Kaninchen	Apfel	Karotte
Haselnuss	Penicillium notatum	Weizenmehl	Kartoffel
Karotte	Cladospor. herbarum	Roggenmehl	Weizenmehl
Weizenmehl	Aspergillus fumigatus	Sesam	Haselnuss
Sojabohne	Alternaria alternata	Sojabohne	Erdnuss
CCD	CCD	CCD	CCD
PosCo	PosCo	PosCo	PosCo

Die Membrankonfigurationen für alle anderen länderspezifischen Panels, für die diese Packungsbeilage gültig ist, sind bei R-Biopharm AG als Supplement für jedes Panel erhältlich.

11.2. Auswertung mit RIDA qLine® Scan oder eines 3D-Farb-Flachbettscanner und Software RIDA qLine® Soft

Dazu wird (werden) die Testmembran(en) in die Halterung eingelegt und unter Verwendung eines der genannten Messgeräte und der zugehörigen Software gemessen. Die IU/ml werden automatisch aus den Messwerten berechnet und den RAST-Klassen 0-6 zugeordnet. Die Auswertung basiert auf der auf jedem Streifen befindlichen Standardkurve, wobei die Intensität jeder einzelnen Allergenlinie auf diese Standardkurve bezogen.

Zur Auswertung mit den verschiedenen Messgeräten beachten Sie bitte das jeweilige Handbuch.

Es muss unbedingt darauf geachtet werden, dass den zu messenden Allergiepanels die entsprechenden Teste in der Software zugeordnet wurden.

Tabelle 3: Zusammenhang zwischen ermittelter Klasse und allergenspezifischem IgE-Gehalt des Patientenserums

IU / ml	Klasse	Allergenspezifischer IgE-Gehalt
0,00 – 0,34	0 (0,0 – 0,9)	nicht nachweisbar bzw. kaum vorhanden
0,35 – 0,69	1 (1,0 – 1,9)	niedrig
0,70 – 3,49	2 (2,0 – 2,9)	erhöht
3,50 – 17,49	3 (3,0 – 3,9)	deutlich erhöht
17,50 – 49,99	4 (4,0 – 4,9)	hoch
50,00 – 99,99	5 (5,0 – 5,9)	sehr hoch
≥ 100,00	6	extrem hoch

11.3. Dokumentation

Die Messdaten (Foto der Testmembran und Auswertung) werden auf der Festplatte des PCs in einem voreingestellten Verzeichnis gespeichert. Diese Datenbank dient dem Management der Patientendaten. Für jedes getestete Serum kann mit einem handelsüblichen Drucker, der an den PC anzuschließen ist, ein Datenblatt ausgedruckt werden.

12. Grenzen der Methode

Die mit diesem Testsystem ermittelten IgE-Konzentrationen lassen eine Aussage über den Sensibilisierungsgrad des Patienten hinsichtlich der überprüften Einzelallergene oder Allergenmischungen zu.

Ein Zusammenhang zwischen der Höhe einer ermittelten IgE-Konzentration und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem vollständigen klinischen Bild zu interpretieren.

Aufgrund des Fehlens von nationalen oder internationalen Standards und aufgrund der möglichen Unterschiedlichkeit von Pricktestlösungen und der Allergenextrakte, die für die *in vitro* Testung eingesetzt werden, sind diskrepante Ergebnisse zwischen *in vivo* und *in vitro* Tests möglich. Auch direkt nach Auftreten von anaphylaktoiden Reaktionen können falsch negative oder zu niedrige IgE-Titer gemessen werden. Bei diskrepanten Ergebnissen zwischen der *in vivo* und *in vitro* Diagnostik sollte der Test nach 3-4 Wochen wiederholt werden. Weiterhin bestehende Diskrepanzen sollten durch nachfolgende weitere *in-vivo* Tests wie Provokationstests durch einen Allergologen untersucht werden. Provokationstests können einen anaphylaktischen Schock auslösen.

Positive Testergebnisse können durch Kreuzreaktivität des getesteten Allergens mit anderen Allergenen fälschlicherweise zustande kommen.

13. Leistungsmerkmale

13.1. Intra-Assay-Präzision

Die Intra-Assay-Präzision wurde anhand der Messung von zwei Seren mit jeweils 20 Teststreifen (Serum 1 und 2) sowie 1 Serum mit jeweils 10 Teststreifen (Serum 3) einer Charge ermittelt.

Es wurden die Mittelwerte (MW), die Standardabweichungen (SD) und die Variationskoeffizienten (VK) für jedes Allergen individuell berechnet und in Tabelle 4 zusammengefasst. Für die Intra-Assay-Präzision aller Allergene mit Signalen zwischen RAST 1 und RAST 2 werden VK Werte von 15% akzeptiert. Für Allergene mit Signalen \geq RAST 2 werden VK Werte von 10% akzeptiert. Für alle Allergene mit negativen Signalen ($<$ RAST 1) wird kein VK berechnet.

Tabelle 4: Intra-Assay-Präzision von allen 43 Allergenen der Standard Panels 1-4

Allergen	Serum 1			Serum 2			Serum 3		
	MW (RAST)	SD	VK (%)	MW (RAST)	SD	VK (%)	MW (RAST)	SD	VK (%)
Erle	4.2	0.1	2.9	5.4	0.1	2.6	5.9	0.1	2.1
Mandel	2.8	0.1	3.4	4.2	0.2	4.4	1.7	0.1	5.1
Alternaria alternata	0.3	0.0	-	0.4	0.1	-	3.5	0.1	2.7
Apfel	2.8	0.1	5.0	2.8	0.2	5.3	2.2	0.1	5.2
Aspergillus fumigatus	0.3	0.0	-	0.4	0.1	-	1.9	0.1	7.8
Birke	5.5	0.1	2.0	6.0	0.0	0.0	1.7	0.1	4.9
Rinder Serum Albumin	0.2	0.1	-	0.2	0.1	-	5.2	0.1	2.2
Karotte	3.2	0.1	2.3	1.9	0.1	7.8	0.6	0.0	-
Casein	0.1	0.1	-	0.4	0.1	-	5.2	0.1	2.2
Katze	2.5	0.1	4.3	4.4	0.1	2.7	6.0	0.1	1.2
Sellerie	3.4	0.1	3.7	2.4	0.2	6.5	3.4	0.1	3.5
Cladosporium herbarum	0.3	0.0	-	0.4	0.1	-	3.7	0.1	2.6
Kabeljau	0.1	0.0	-	0.3	0.1	-	5.2	0.1	2.1
Krabbe	2.4	0.1	4.1	4.0	0.1	3.3	2.2	0.1	4.8
D. farinae	2.1	0.1	2.6	6.0	0.0	0.0	2.9	0.1	3.8
D. pteronyssinus	1.4	0.1	7.1	6.0	0.0	0.0	2.2	0.1	2.8
Hund	0.3	0.0	-	6.0	0.0	0.8	4.1	0.1	3.1
Eiweiß	0.4	0.1	-	1.0	0.1	-	3.5	0.1	2.8
Eigelb	0.1	0.1	-	0.5	0.1	-	3.2	0.1	2.9
Gras-Mix	5.9	0.1	2.0	5.5	0.2	3.4	4.1	0.3	8.3
Meerschweinchen	0.3	0.0	-	1.3	0.1	8.8	0.7	0.1	-
Hamster	0.6	0.1	-	1.8	0.1	6.9	0.7	0.1	-
Hasel	4.5	0.2	4.4	5.7	0.1	2.2	5.7	0.2	2.7
Haselnuss	3.0	0.1	2.6	5.1	0.1	2.7	3.8	0.1	1.9
Pferd	0.3	0.1	-	0.3	0.1	-	0.3	0.1	-
Milch	0.5	0.1	-	0.5	0.1	-	5.2	0.1	2.7
Beifuß	2.5	0.1	3.9	4.3	0.1	3.3	1.4	0.2	13.8
Eiche	4.7	0.1	2.8	5.9	0.1	1.4	5.1	0.2	3.7

Orange	2.3	0.1	5.1	1.2	0.1	11.2	1.2	0.1	10.7
Erdnuss	1.3	0.1	9.4	1.5	0.2	13.3	3.4	0.1	2.7
Penicillium notatum	1.1	0.1	6.7	1.4	0.1	7.9	4.0	0.1	2.4
Spitzwegerich	2.8	0.1	3.7	4.5	0.1	3.0	2.0	0.1	5.1
Kartoffel	3.4	0.2	4.6	2.2	0.2	8.5	1.7	0.2	9.1
Kaninchen	1.1	0.1	6.6	1.9	0.1	3.5	1.5	0.2	11.0
Roggen (Pollen)	5.5	0.2	3.9	4.4	0.2	4.5	5.2	0.2	3.9
Roggenmehl	2.7	0.1	4.1	2.8	0.2	6.8	2.9	0.1	4.7
Sesam	3.0	0.1	4.0	2.9	0.2	6.1	2.7	0.1	5.5
Soyabohne	0.2	0.1	-	0.4	0.1	-	4.7	0.1	1.6
Tomate	3.7	0.1	2.5	2.3	0.1	6.0	2.7	0.1	4.3
Walnuss	0.9	0.1	-	3.7	0.2	4.5	0.2	0.0	-
Weizenmehl	2.8	0.1	3.9	2.5	0.1	4.5	5.5	0.1	2.5
α -Lactalbumin	0.2	0.1	-	0.4	0.1	-	2.7	0.2	7.0
β -Lactoglobulin	0.3	0.1	-	0.8	0.1	-	4.5	0.2	4.0
CCD	2.2	0.1	4.1	0.3	0.1	-	3.1	0.1	4.3

13.2. Inter-Assay-Präzision

Für die Ermittlung der Inter-Assay-Präzision wurden 3 Seren an 10 aufeinanderfolgenden Tagen jeweils in Doppelbestimmung getestet. Der Versuch wurde von zwei verschiedenen Personen durchgeführt.

Es wurden die Mittelwerte (MW), die Standardabweichungen (SD) und die Variationskoeffizienten (VK) für jedes Allergen individuell berechnet und in Tabelle 5 zusammengefasst. Für die Inter-Assay-Präzision aller Allergene mit Signalen zwischen RAST 1 und RAST 2 werden Werte von 20% akzeptiert. Für Allergene mit Signalen \geq RAST 2 werden VK Werte von 15% akzeptiert. Für alle Allergene mit negativen Signalen ($<$ RAST 1) wird kein VK berechnet.

Tabelle 5: Inter-Assay-Präzision

Allergen	Serum 1			Serum 2			Serum 3		
	MW (RAST)	SD	VK (%)	MW (RAST)	SD	VK (%)	MW (RAST)	SD	VK (%)
Erle	5.4	0.2	3.6	2.2	0.2	9.1	5.9	0.1	2.0
Mandel	1.6	0.2	13.5	1.1	0.2	16.1	1.4	0.2	15.2
Alternaria alternata	2.4	0.2	8.4	1.7	0.2	13.5	3.5	0.2	6.3
Apfel	2.2	0.1	6.4	0.2	0.1	-	3.3	0.3	7.7
Aspergillus fumigatus	0.2	0.1	-	0.2	0.1	-	2.0	0.2	10.4
Birke	1.0	0.2	-	2.7	0.3	9.8	5.9	0.1	1.4
Rinder Serum Albumin	4.9	0.2	3.7	2.0	0.3	14.4	0.1	0.1	-
Karotte	2.4	0.2	7.7	0.4	0.1	-	0.9	0.1	-
Casein	5.1	0.2	3.6	0.1	0.1	-	0.3	0.1	-
Katze	4.4	0.2	3.7	2.9	0.2	7.4	5.9	0.2	2.7
Sellerie	3.5	0.2	5.0	0.8	0.1	-	2.2	0.2	7.1
Cladosporium herbarum	0.5	0.1	-	0.4	0.1	-	3.8	0.2	4.7
Kabeljau	5.2	0.2	3.1	1.3	0.3	26.0	0.4	0.1	-
Krabbe	2.9	0.2	6.6	2.6	0.2	6.4	1.4	0.3	18.3
D. farinae	4.6	0.2	4.9	5.1	0.3	5.5	2.3	0.2	7.1
D. pteronyssinus	1.6	0.2	14.5	5.4	0.2	3.2	1.5	0.2	14.1
Hund	0.7	0.1	-	0.3	0.1	-	3.8	0.2	4.8
Eiweiß	3.5	0.1	4.2	0.2	0.0	-	0.5	0.1	-
Eigelb	3.3	0.2	4.8	0.1	0.0	-	0.2	0.1	-
Gras-Mix	4.9	0.3	5.3	3.1	0.2	5.3	5.9	0.1	1.6
Meerschweinchen	2.3*	0.3	10.8	0.4	0.1	-	0.5	0.1	-
Hamster	1.8	0.2	11.2	0.4	0.1	-	0.6	0.1	-
Hasel	5.0	0.2	4.5	2.0	0.2	11.8	5.6	0.2	3.8
Haselnuss	3.8	0.2	5.1	3.2	0.2	7.2	3.7	0.2	5.4
Pferd	1.4	0.2	15.2	0.2	0.1	-	0.3	0.1	-
Milch	5.3	0.2	4.3	0.1	0.1	-	0.3	0.1	-
Beifuß	2.7	0.4	13.6	0.3	0.1	-	1.1	0.3	22.9
Eiche	3.9	0.2	5.1	0.9	0.1	-	4.4	0.3	6.4
Orange	1.2	0.1	10.2	0.2	0.1	-	0.8	0.1	-
Erdnuss	3.7	0.2	4.9	0.3	0.1	-	1.8	0.2	11.8

Penicillium notatum	1.0	0.2	-	1.5	0.2	10.5	4.0	0.2	5.4
Spitzwegerich	2.6	0.3	10.2	0.7	0.1	-	1.7	0.3	15.1
Kartoffel	1.6	0.3	18.9	0.7	0.1	-	1.5	0.2	12.9
Kaninchen	1.3	0.2	12.2	0.5	0.1	-	0.6	0.1	-
Roggen (Pollen)	5.8	0.2	4.2	2.0	0.3	13.7	4.8	0.4	7.6
Roggenmehl	2.9	0.2	6.3	1.0	0.2	14.8	3.3	0.1	3.9
Sesam	2.7	0.2	8.5	1.1	0.2	16.9	3.0	0.2	5.9
Soyabohne	4.9	0.2	3.8	0.3	0.1	-	2.5	0.3	12.5
Tomate	2.7	0.2	6.9	0.8	0.1	-	1.3	0.3	19.6
Walnuss	0.3	0.1	-	1.0	0.2	19.1	0.2	0.1	-
Weizenmehl	5.6	0.2	3.3	0.7	0.1	-	2.1	0.1	5.2
α -Lactalbumin	2.6	0.4	15.7	0.0	0.0	-	0.2	0.1	-
β -Lactoglobulin	4.7	0.2	4.7	0.1	0.1	-	0.2	0.1	-
CCD	0.4	0.1	-	0.6	0.1	-	3.2	0.2	5.5

13.3. Methodenvergleich mit quantitativem in vitro IgE-Referenzsystem

Zur Ermittlung der Übereinstimmung des RIDA qLine® Allergy mit einem quantitativen IgE-Referenzsystem (Phadia ImmunoCap, Thermo Scientific, USA) wurden 50 Seren auf je 42 Allergene des RIDA qLine® Allergy Standard Panel 1-4 mit beiden Testsystemen getestet. Die aus den Messungen resultierenden RAST-Klassen Befunde beider Testsysteme wurden verglichen (siehe Tabelle 6). Eine Differenz zwischen den Testsystemen $\Delta\text{RAST} \leq 1$ wird als übereinstimmend definiert.

Tabelle 6: Vergleich zum IgE-Referenzsystem

	Δ qLine / IgE-Referenzsystem
Übereinstimmung ($\Delta \leq 1$ RAST)	1904
Diskrepant ($\Delta > 1$ RAST)	196
Proben gesamt	2100

% Übereinstimmung	90,7%
% Diskrepant	9,3%

13.4. Interferierende Substanzen

Um interferierende Substanzen in humanen Serumproben zu identifizieren, wurde Serum von Patienten, bei denen eine allergische Erkrankung vermutet wird, auf interferierende Substanzen getestet. Potenziell interferierende Substanzen wurden in Konzentrationen, die den physiologischen Level überschreiten zu zwei Serumproben gegeben und mit diesen Proben wurde der RIDA qLine® Allergy durchgeführt.

Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass es unter einer Therapie mit Omalizumab zu erniedrigten oder ggf. falsch negativen Werten kommen kann.

Da eine mögliche Interferenz von Triglyceriden im Serum nicht ausgeschlossen werden kann, dürfen keine lipämischen Seren für die Testung verwendet werden (s. auch Kapitel 8).

Tabelle 7: Potenziell mit RIDA qLine® Allergy interferierende Substanzen

Substanz	Finale Serum Konzentration	Serum 1		Serum 2	
		Anzahl der Allergene	Δ RAST ≥ 1	Anzahl der Allergene	Δ RAST ≥ 1
IgG (human. unspezifisch)	20 mg/ml	43	1	43	1
Ceterizin	7.7 $\mu\text{mol/L}$	43	0	43	0
Loratadin	0.78 $\mu\text{mol/L}$	43	0	43	0
Desloratadin	0.97 $\mu\text{mol/L}$	43	0	43	0
Omalizumab	75 $\mu\text{g/ml}$	43	10	43	7
Hämoglobin	2 mg/ml	43	0	43	0
Triglyceride	32.75 mg/ml	43	4	43	0
Bilirubin	200 $\mu\text{g/ml}$	43	0	43	0
Cholesterol	5 mg/ml	43	1	43	0

Literatur

- Kjellman, N.I.M.: Prediction and prevention of atopic allergy, *Allergy* 37, 463 - 473 (1982)
- Debelic, M.: Die klinische Bedeutung der Bestimmung von Serum-Gesamt IgE und spezifischem IgE für die Diagnostik und Verlaufsbeobachtung allergischer Krankheitsbilder [The clinical importance of determining total serum IgE and specific IgE in the diagnosis and monitoring of allergenic clinical pictures]. *Therapiewoche* 29, 2280 - 2295 (1979)
- Urbanek, R.: Papier-Radio-Immuno-Sorbent-Test (PRIST) - IgE-Spiegel bei nicht allergischen und allergischen Kindern, [Paper disc Radio Immuno Sorbent Test (PRIST) - IgE levels for non-allergic and allergic children] *Monatsschrift Kinderheilkunde* 125, 583 - 585 (1977)
- Kjellman, N.I.M., et al.: Serum IgE levels in healthy children quantified by a Sandwich technique (PRIST), *Clinical Allergy* 6, 51 - 59 (1976)
- Turner, K.J.: IgE globulins and immunity. *Medical Journal of Australia* 2, 846 (1974)
- Johansson, S.G.O.: Raised levels of a new immunoglobulin class (IgND) in asthma. *Lancet* II, 951 - 953 (1967)
- Ishizaka, K., Ishizaka, T., Hornbook, M.M.: Physico-chemical properties of human reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. *Journal of Immunol* 97, 75 (1966)
- Bennich, H.H., et al.: Immunoglobulin E, a new class of human immunoglobulin. *Bulletin World Health Organisation* 38, 151 (1964)