

RIDA qLine[®] Allergy

Réf. : A6142 Panel 1 (20 allergènes différents)

Réf. : A6242 Panel 2 (20 allergènes respiratoires)

Réf. : A6342 Panel 3 (20 allergènes alimentaires)

Réf. : A6442 Panel 4 (20 allergènes pédiatriques)

Le présent manuel s'applique également à tous les autres panels spécifiques à chaque pays.

Consulter le certificat d'accompagnement inclus dans chaque kit pour connaître la composition des allergènes.



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Cet test est un test immunoenzymatique sur membrane de nitrocellulose (immunotransfert) destiné à la détection quantitative des anticorps IgE spécifiques aux allergènes dans le sérum et le plasma humains (citrate).

2. Résumé et explication du test

Le système immunitaire a pour mission de protéger l'organisme contre les bactéries pathogènes, les virus et autres micro-organismes. La réponse de défense protège l'organisme dès le premier contact avec les agents pathogènes, mais assure également une immunisation en cas d'exposition récurrente. Toutes les réactions allergiques sont précédées d'un premier contact sans symptôme, lors duquel des anticorps de classe E spécifiques (anticorps IgE) sont déjà formés. Au contact répété de l'allergène déclencheur, ces anticorps IgE réagissent à l'allergène et provoquent la libération de médiateurs (provenant généralement de mastocytes) de type histamine, leucotriènes, prostaglandines, etc., ce qui donne lieu à l'apparition de symptômes allergiques. La détection des anticorps IgE spécifiques dans le sérum permet d'identifier les allergènes déclencheurs en cas de réactions allergiques. Il est également possible de détecter l'existence de sensibilisations sans symptôme.

3. Principe du test

Ce test repose sur les principes de la méthode d'immunotransfert. Divers allergènes se fixent sur la surface des membranes de nitrocellulose le long de lignes séparées selon la configuration du panel. Les anticorps IgE spécifiques aux allergènes réagissent aux allergènes appropriés dès lors que ceux-ci sont présents dans les échantillons des patients. Dans un second temps, les anticorps IgE humains conjugués à la biotine se lient aux anticorps fixés. Lors d'un troisième temps d'incubation, la biotine se lie à un conjugué streptavidine-peroxydase. Pendant une dernière étape d'incubation, la peroxydase transforme le substrat de tétraméthylbenzidine (TMB) transparent en un produit final violet tirant sur le bleu. Après chaque incubation individuelle, une étape de lavage élimine les matériaux non liés. L'intensité de la couleur bleue est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques aux allergènes contenue dans le sérum du patient. L'échantillon est évalué à l'aide du dispositif RIDA qLine[®] Scan (DIV) ou d'un scanner couleur à plat 3D (sans DIV) approuvé par R-Biopharm et associé au logiciel RIDA qLine[®] Soft. L'intensité de coloration des bandes allergènes fait l'objet d'une évaluation quantitative au regard d'une courbe standard sur la membrane afin de déterminer la quantité en UI/ml ou les catégories RAST correspondantes.

Courbe standard et contrôle positif

Le dispositif RIDA qLine® Allergy est un test quantitatif qui fonctionne à l'aide d'une courbe standard étalonnée conformément à la norme de l'OMS. 5 critères sont appliqués à chaque bandelette. Ces 5 critères correspondent aux catégories RAST 1 à 5, avec la catégorie RAST 6 extrapolée dans le logiciel.

La courbe standard est visible et les critères de validité sont remplis uniquement si le test a été correctement exécuté et si tous les réactifs fonctionnent correctement. Les critères de validité de la courbe standard/du contrôle du fonctionnement sont remplis lorsque les 5 critères sont visibles et reconnus par le logiciel, lorsque le critère le plus petit atteint au moins un niveau d'intensité de 10 et lorsque l'intensité du critère 1 est $<$ critère 2 $<$ critère 3 $<$ critère 4 $<$ critère 5.

Le contrôle positif teste le système dans son ensemble. La valeur attendue peut être produite uniquement si les bandelettes sont correctement manipulées, si le système de mesure détecte les bandes de manière appropriée et si le logiciel a effectué le bon calcul. Le contrôle positif doit au moins atteindre la catégorie RAST 4 pour être considéré comme valide.

Bande CCD

La bande CCD se compose de chaînes latérales formées de glucides purifiés et liées à la membrane de nitrocellulose. La bande CCD détecte les anticorps IgE spécifiques en fonction des déterminants de glucides à réaction croisée (CCD - cross-reactive carbohydrate determinants) dans l'échantillon du patient.

Le système immunitaire forme les anticorps IgE spécifiques en fonction d'authentiques allergènes, mais également les chaînes latérales de glucides des allergènes (anti-CCD-IgE) d'origine végétale ou provenant d'insectes, de mollusques ou de latex. Ces anti-CCD-IgE entraînent également des réactions croisées avec d'autres types de protéines, et sont donc appelés déterminants de glucides à réaction croisée (CCD).

Environ 25 % des patients allergiques produisent des anti-CCD-IgE. Toutefois, il est très peu probable qu'ils déclenchent des symptômes allergiques et, par conséquent, leur pertinence clinique reste à démontrer.

Ces réactions croisées peuvent donner lieu à des résultats positifs sur les systèmes de test in vitro, qui doivent alors être considérés comme des faux-positifs. Afin de faire la distinction entre les résultats réellement positifs et les résultats faux-positifs, le test doit être répété en cas de résultat positif pour la bande CCD (\geq RAST 1), et le sérum doit être bloqué par un inhibiteur de CCD (ZA0601) avant d'exécuter le test afin de prévenir toute liaison avec des CCD dans le cadre de tests in vitro.

4. Contenu du paquet

Tableau 1 : Contenu du paquet suffisant pour 10 tests

Membrane	10 unités	Membranes de test RIDA qLine® Allergy (membranes de nitrocellulose), revêtues de matériau allergène sur 20 champs de test et 5 critères dans les puits de réaction
Wash 25x	5 ml	Solution tampon, en concentration x 25, Tris / NaCl
Antibody	5 ml	Anticorps de détection ; anticorps IgE humains (chèvre) conjugués à la biotine, prêts à l'emploi
Conjugate	5 ml	Conjugué de streptavidine, streptavidine conjuguée à la peroxydase, prêt à l'emploi
Substrate	5 ml	Substrat ; TMB (tétraméthylbenzidine), prêt à l'emploi

5. Instructions de conservation des réactifs

Les membranes de test doivent être conservées dans un endroit frais, sec et sombre dans leur emballage en aluminium. Le kit de test doit être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C. La durée de conservation de la solution tampon diluée est de 4 semaines à une température comprise entre 2 et 8 °C. Toute contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

La contamination du substrat par le conjugué doit être impérativement évitée car elle risque d'entraîner une décoloration du substrat. Parallèlement, toute exposition directe du substrat à la lumière doit être évitée afin de prévenir la dénaturation ou la décoloration par autoxydation. En cas de décoloration, le substrat ne peut plus être utilisé.

6. Autres réactifs et matériel nécessaires

6.1. Réactifs

- Eau distillée ou déionisée

6.2. Accessoires

- Agitateur-mélangeur vortex
- Éprouvette graduée (200 ml)
- Micropipette, 1000 µl
- Support pour 10 bandelettes (membranes de test)

- Boîte à couvercle pour incubation dans le noir (le système de support et boîte à couvercle pour bandelettes (= RIDA qLine® Incubation Set ; réf. ZG2701) est disponible auprès de R-Biopharm AG)
- Agitateur rotateur (300 tr/min, diamètre orbital de 3 mm ; réf. : ZG2601)
- RIDA qLine® Scan (réf. : ZG1109) avec PC équipé d'un port USB
- Scanner couleur à plat 3D approuvé par R-Biopharm AG (réf. : ZG1106) avec PC équipé d'un port USB
- Logiciel RIDA qLine® Soft (réf. : Z9995)

7. Mesures de précaution

Exclusivement réservé au diagnostic in vitro.

Ce test doit être réalisé uniquement par du personnel de laboratoire qualifié. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre.

Les échantillons ou réactifs ne doivent pas être pipetés à la bouche ; éviter tout contact avec de la peau ou des membranes muqueuses lésées. Porter des gants jetables pour manipuler les échantillons et se laver les mains après le test. Ne pas fumer, manger ni boire dans les zones où des échantillons ou des réactifs de test sont utilisés.

Les anticorps et les solutions tampon contiennent de l'azoture de sodium comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses. Le contact avec des tuyaux en plomb ou cuivre risque de provoquer le développement d'azoture métallique explosif.

Le substrat contient du peroxyde d'hydrogène ainsi que de la chlorométhylisothiazolinone et de la méthylisothiazolinone en concentrations sous-toxiques.

Si l'emballage extérieur est endommagé, chaque composant doit être vérifié avant utilisation à la recherche d'éventuelles traces de détérioration. Les composants du kit ne doivent pas être utilisés si leur emballage individuel est endommagé ou si leurs contenants fuient.

Après utilisation, tous les composants du kit doivent être éliminés de façon appropriée par l'utilisateur.

Tous les réactifs et matériaux entrant en contact avec des échantillons potentiellement infectieux doivent être traités avec des désinfectants adaptés ou passés en autoclave à 121 °C pendant au moins 1 heure.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Ce test a été développé dans le but d'examiner le sérum et le plasma humains (citrate). Une fois l'échantillon de sang prélevé, le sérum doit être séparé du sang coagulé le plus rapidement possible afin d'éviter l'hémolyse. Les échantillons doivent être conservés dans un endroit frais ou congelés jusqu'à ce qu'ils soient soumis à un test. Il est impératif d'éviter toute congélation et décongélation répétées ainsi que la contamination bactérienne du sérum. L'utilisation de sérums lipémiques, hémolytiques, noircis ou opaques inactivés par la chaleur risque de donner lieu à des résultats faussés.

Tableau 2 : Conservation des échantillons

2 à 8 °C	1 semaine
-20 °C	> 1 semaine

9. Réalisation du test

9.1. Informations générales

L'échange et la combinaison de composants du kit portant des numéros de lot différents sont autorisés.

L'obtention de résultats reproductibles dépend considérablement du respect des temps et des températures d'incubation ainsi que du lavage approprié des membranes de test.

Tous les composants du test doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant le début du test.

9.2. Préparation de la solution tampon

Verser 5 ml de solution tampon concentrée **Wash 25x** dans une éprouvette graduée puis la remplir jusqu'à 125 ml avec de l'eau distillée (= solution tampon). Dissoudre les éventuels cristaux présents dans le concentré en les chauffant (bain d'eau à 37 °C). Conserver la solution tampon dans un conteneur accessible au moyen de pipettes.

9.3. Première incubation

La **Membrane** de test (une ou plusieurs en fonction du nombre de tests à exécuter) est retirée de son emballage. Les puits sont placés dans le support pour membranes de test afin de fixer les bandelettes pendant l'agitation. Chaque membrane de test est revêtue de 500 µl de solution tampon puis agitée sur l'agitateur rotateur (300 tr/min, diamètre orbital de 3 mm) pendant 1 minute jusqu'à disparition de toutes les bulles. La **Membrane** de test est ensuite vidée en tapotant dessus sur un matériau absorbant. La **Membrane** de test est alors remplie de 400 µl de sérum du patient et incubée pendant 30 minutes à température ambiante (20 à 25 °C) sur l'agitateur rotateur. Il convient de s'assurer que le liquide recouvre l'intégralité de la membrane.

Si ce n'est pas le cas, utiliser l'extrémité d'une pipette pour y remédier sans endommager la membrane.

9.4. Lavage

Les puits sont vidés après incubation du sérum. La **Membrane** de test est ensuite lavée suivant trois étapes distinctes avec 400 µl de solution tampon pendant 1 minute sur l'agitateur rotateur et dans les mêmes conditions que pendant l'incubation. Ensuite, vider la membrane de test et tapoter dessus sur un matériau absorbant.

9.5. Seconde incubation

Pipeter 400 µl d'**Antibody** sur chaque **Membrane** de test. Il convient de s'assurer à nouveau que le liquide recouvre l'intégralité de la membrane. La **Membrane** de test est alors incubée pendant 45 minutes à température ambiante (20 à 25 °C) sur l'agitateur rotateur.

9.6. Lavage

Laver en suivant les instructions de la rubrique 9.4.

9.7. Troisième incubation

Pipeter 400 µl de **Conjugate** sur chaque **Membrane** de test. Il convient de s'assurer à nouveau que le liquide recouvre l'intégralité de la membrane. La **Membrane** de test est alors incubée pendant 20 minutes à température ambiante (20 à 25 °C) sur l'agitateur rotateur.

9.8. Lavage

La qualité du résultat est fortement influencée par cette étape de lavage. Rincer chaque bandelette à trois reprises avec 1000 µl de solution tampon à chaque fois au-dessus d'un évier ou d'un réceptacle adapté. Tenir la bandelette par un coin et déplacer la pipette du haut vers le bas de la membrane lors du pipetage du liquide sans toucher la membrane. Laver ensuite la **Membrane** de test suivant deux étapes distinctes avec 400 µl de solution tampon pendant 1 minute sur l'agitateur rotateur et dans les mêmes conditions que pendant l'incubation. Ensuite, vider la membrane de test et tapoter dessus sur un matériau absorbant.

9.9. Quatrième incubation

Appliquer 400 µl de **Substrate** sur chaque **Membrane** de test de façon à recouvrir l'intégralité de la membrane. La **Membrane** de test est alors incubée pendant 15 minutes dans le noir à température ambiante (20 à 25 °C) sur l'agitateur rotateur.

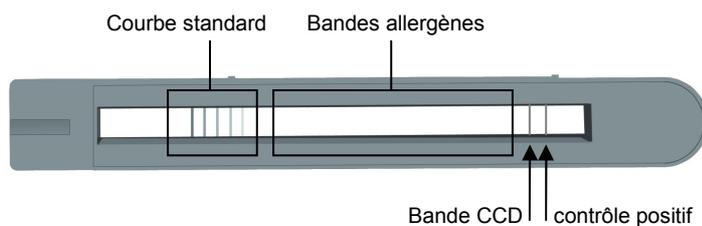
9.10. Lavage

Les puits sont vidés après incubation du substrat. Enfin, la **Membrane** de test est lavée une fois avec 400 µl de solution tampon et une fois avec 400 µl d'eau distillée pendant 1 minute sur l'agitateur rotateur (300 tr/min, diamètre orbital de 3 mm) dans les mêmes conditions que pendant l'incubation. Ensuite, vider la membrane de test et tapoter dessus sur un matériau absorbant.

Le test peut être évalué après avoir séché à l'air pendant au moins 30 minutes ou une fois que la membrane est complètement sèche. Il est recommandé d'utiliser un séchoir à air froid pour accélérer ce processus.

10. Contrôle qualité – signes de réactif périmé

Le test a été exécuté correctement lorsque le fond a totalement perdu sa couleur, la courbe standard des cinq bandes différenciées est visible et le contrôle positif répond aux spécifications.



Un réactif opaque ou une décoloration bleutée du substrat avant d'être appliqué sur la Membrane de test peut être le signe de l'arrivée à expiration du réactif.

Si la courbe standard n'est pas différenciée de manière visible, il convient de vérifier les éléments suivants avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé (p. ex. étalonnage)
- Procédure de test correcte
- Inspection visuelle des composants du kit à la recherche d'une contamination ou de fuites ; toute solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

Si les conditions ne sont toujours pas remplies après avoir recommencé le test, contacter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

11.Évaluation et interprétation

11.1. Configurations de membrane pour RIDA qLine® Allergy Panel 1, 2, 3 et 4

Panel 1 20 allergènes	Panel 2 20 allergènes	Panel 3 20 allergènes	Panel 4 20 allergènes
Étalon 5	Étalon 5	Étalon 5	Étalon 5
Étalon 4	Étalon 4	Étalon 4	Étalon 4
Étalon 3	Étalon 3	Étalon 3	Étalon 3
Étalon 2	Étalon 2	Étalon 2	Étalon 2
Étalon 1	Étalon 1	Étalon 1	Étalon 1
Derm. pteronyssinus	Derm. pteronyssinus	Noisette	Derm. pteronyssinus
Derm. farinae	Derm. farinae	Arachide	Derm. farinae
Aulne	Aulne	Noix	Bouleau
Bouleau	Bouleau	Amande	Mélange d'herbes
Noisetier	Noisetier	Lait	Chat
Mélange d'herbes	Chêne	Blanc d'œuf	Chien
Seigle (pollen)	Mélange d'herbes	Jaune d'œuf	Alternaria alternata
Armoise	Seigle (pollen)	Caséine	Lait
Plantain	Armoise	Pomme de terre	αLactoalbumine
Chat	Plantain	Céleri	Bêta-lactoglobuline
Cheval	Chat	Carotte	Caséine
Chien	Cheval	Tomate	Blanc d'œuf
Alternaria alternata	Chien	Cabillaud	Jaune d'œuf
Blanc d'œuf	Cochon d'Inde	Crabe	Albumine de sérum bovin
Lait	Hamster	Orange	Graine de soja
Arachide	Lapin	Pomme	Carotte
Noisette	Penicillium notatum	Farine de blé	Pomme de terre
Carotte	Cladospor. herbarum	Farine de seigle	Farine de blé
Farine de blé	Aspergillus fumigatus	Sésame	Noisette
Graine de soja	Alternaria alternata	Graine de soja	Arachide
CCD	CCD	CCD	CCD
PosCo	PosCo	PosCo	PosCo

Les configurations de membrane pour tous les autres panels spécifiques à chaque pays concernés par cette notice sont disponibles auprès de R-Biopharm AG en supplément de chaque panel.

11.2. Évaluation avec RIDA qLine® Scan ou un scanner couleur à plat 3D et le logiciel RIDA qLine® Soft.

À cet effet, la ou les membranes de test sont placées dans la coupelle et mesurées à l'aide de l'un des dispositifs de mesure indiqués et du logiciel approprié. La valeur d'UI/ml est automatiquement calculée à partir des valeurs mesurées et attribuée à une catégorie RAST comprise entre 0 et 6. Cette évaluation est fondée sur la courbe standard fournie sur chaque bandelette. L'intensité de chaque ligne d'allergènes est comparée à cette courbe standard.

Consulter le manuel approprié afin d'obtenir des informations concernant les différents dispositifs de mesure disponibles pour effectuer cette évaluation.

Il est impératif de vérifier que les tests appropriés ont été associés aux panels d'allergènes à mesurer.

Tableau 3 : Lien entre la catégorie déterminée et la teneur en IgE spécifiques aux allergènes dans le sérum du patient

UI / ml	Catégorie	Teneur en IgE spécifiques aux allergènes
0,00 à 0,34	0 (0,0 à 0,9)	indélectable ou traces
0,35 à 0,69	1 (1,0 à 1,9)	faible
0,70 à 3,49	2 (2,0 à 2,9)	élevée
3,50 à 17,49	3 (3,0 à 3,9)	considérablement élevée
17,50 à 49,99	4 (4,0 à 4,9)	importante
50,00 à 99,99	5 (5,0 à 5,9)	très importante
≥ 100,00	6	extrêmement importante

11.3. Archivage

Les données mesurées (photo de la membrane de test et évaluation) sont enregistrées sur le disque dur du PC dans un répertoire prédéfini. Cette base de données est utilisée pour assurer la gestion des données des patients. Une fiche de données peut être imprimée pour chaque sérum testé sur n'importe quelle imprimante standard connectée au PC.

12. Limites de la méthode

Les concentrations d'IgE déterminées à l'aide de ce système de test fournissent des informations concernant le niveau de sensibilisation du patient à des allergènes individuels ou à des mélanges d'allergènes.

Une corrélation entre le niveau d'une concentration d'IgE déterminée et l'apparition ou la gravité de symptômes cliniques ne peut être déduite sur la base de ce test. Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés au regard de la situation clinique dans son ensemble.

L'absence de normes nationales et internationales et les divergences possibles entre les solutions de test cutané et les extraits d'allergènes utilisés dans les tests *in vitro* peuvent donner lieu à une incohérence entre les résultats des tests *in vivo* et ceux des tests *in vitro*. En outre, les titres d'IgE peuvent entraîner la production de résultats faux-négatifs ou être mesurés à un niveau trop faible directement après la survenue de réactions anaphylactiques. Ce test doit être répété après 3 à 4 semaines en cas d'incohérences entre les résultats des tests *in vivo* et *in vitro*. Si les incohérences persistent, il convient de confier à un allergologue la réalisation d'autres tests *in vivo*, tels que les tests de provocation. Les tests de provocation peuvent déclencher un choc anaphylactique.

Des résultats de test faux-positifs peuvent être générés à la suite d'une réactivité croisée de l'allergène testé avec d'autres allergènes.

13. Performances

13.1. Précision intra-essai

La précision intra-essai a été déterminée en testant deux sérums (sérum 1 et sérum 2) avec chacun 20 bandelettes de test, et un sérum (sérum 3) avec 10 bandelettes de test issues d'un même lot.

Les valeurs moyennes (VM), les écarts-types (ET) et les coefficients de variation (CV) sont déterminés pour chaque allergène individuel et sont synthétisés dans le Tableau 4. Les valeurs de CV de 15 % sont acceptées pour la précision intra-essai de tous les allergènes dont les signaux sont compris entre RAST 1 et RAST 2. Les valeurs de CV de 10 % sont acceptées pour les allergènes dont les signaux sont \geq RAST 2. Aucun CV n'est calculé pour les allergènes dont les signaux sont négatifs ($<$ RAST 1).

Tableau 4 : Précision intra-essai des 43 allergènes contenus dans les panels standard 1 à 4

Allergène	Sérum 1			Sérum 2			Sérum 3		
	VM (RAST)	ET	CV (%)	VM (RAST)	ET	CV (%)	VM (RAST)	ET	CV (%)
Aulne	4,2	0,1	2,9	5,4	0,1	2,6	5,9	0,1	2,1
Amande	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
Pomme	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
Bouleau	5,5	0,1	2,0	6,0	0,0	0,0	1,7	0,1	4,9
Albumine de sérum bovin	0,2	0,1	-	0,2	0,1	-	5,2	0,1	2,2
Carotte	3,2	0,1	2,3	1,9	0,1	7,8	0,6	0,0	-
Caséine	0,1	0,1	-	0,4	0,1	-	5,2	0,1	2,2
Chat	2,5	0,1	4,3	4,4	0,1	2,7	6,0	0,1	1,2
Céleri	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
Cabillaud	0,1	0,0	-	0,3	0,1	-	5,2	0,1	2,1
Crabe	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
Chien	0,3	0,0	-	6,0	0,0	0,8	4,1	0,1	3,1
Blanc d'œuf	0,4	0,1	-	1,0	0,1	-	3,5	0,1	2,8
Jaune d'œuf	0,1	0,1	-	0,5	0,1	-	3,2	0,1	2,9
Mélange d'herbes	5,9	0,1	2,0	5,5	0,2	3,4	4,1	0,3	8,3
Cochon d'Inde	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	-
Noisetier	4,5	0,2	4,4	5,7	0,1	2,2	5,7	0,2	2,7
Noisette	3,0	0,1	2,6	5,1	0,1	2,7	3,8	0,1	1,9
Cheval	0,3	0,1	-	0,3	0,1	-	0,3	0,1	-
Lait	0,5	0,1	-	0,5	0,1	-	5,2	0,1	2,7

Armoise	2,5	0,1	3,9	4,3	0,1	3,3	1,4	0,2	13,8
Chêne	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
Arachide	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
Plantain lancéolé	2,8	0,1	3,7	4,5	0,1	3,0	2,0	0,1	5,1
Pomme de terre	3,4	0,2	4,6	2,2	0,2	8,5	1,7	0,2	9,1
Lapin	1,1	0,1	6,6	1,9	0,1	3,5	1,5	0,2	11,0
Seigle (pollen)	5,5	0,2	3,9	4,4	0,2	4,5	5,2	0,2	3,9
Farine de seigle	2,7	0,1	4,1	2,8	0,2	6,8	2,9	0,1	4,7
Sésame	3,0	0,1	4,0	2,9	0,2	6,1	2,7	0,1	5,5
Graine de soja	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
Noix	0,9	0,1	-	3,7	0,2	4,5	0,2	0,0	-
Farine de blé	2,8	0,1	3,9	2,5	0,1	4,5	5,5	0,1	2,5
Alpha-lactalbumine	0,2	0,1	-	0,4	0,1	-	2,7	0,2	7,0
Bêta-lactoglobuline	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. Précision inter-essai

Afin de déterminer la précision inter-essais, 3 sérums ont été testés en double sur 10 jours consécutifs. Cette expérimentation a été réalisée par deux personnes différentes.

Les valeurs moyennes (VM), les écarts-types (ET) et les coefficients de variation (CV) sont déterminés pour chaque allergène individuel et sont synthétisés dans le Tableau 5. Les valeurs de CV de 20 % sont acceptées pour la précision inter-essais de tous les allergènes dont les signaux sont compris entre RAST 1 et RAST 2. Les valeurs de CV de 15 % sont acceptées pour les allergènes dont les signaux sont \geq RAST 2. Aucun CV n'est calculé pour les allergènes dont les signaux sont négatifs ($<$ RAST 1).

Tableau 5 : Précision inter-essai

Allergène	Sérum 1			Sérum 2			Sérum 3		
	VM (RAST)	ET	CV (%)	VM (RAST)	ET	CV (%)	VM (RAST)	ET	CV (%)
Aulne	5,4	0,2	3,6	2,2	0,2	9,1	5,9	0,1	2,0
Amande	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
Pomme	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
Bouleau	1,0	0,2	-	2,7	0,3	9,8	5,9	0,1	1,4
Albumine de sérum bovin	4,9	0,2	3,7	2,0	0,3	14,4	0,1	0,1	-
Carotte	2,4	0,2	7,7	0,4	0,1	-	0,9	0,1	-
Caséine	5,1	0,2	3,6	0,1	0,1	-	0,3	0,1	-
Chat	4,4	0,2	3,7	2,9	0,2	7,4	5,9	0,2	2,7
Céleri	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
Cabillaud	5,2	0,2	3,1	1,3	0,3	26,0	0,4	0,1	-
Crabe	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
Chien	0,7	0,1	-	0,3	0,1	-	3,8	0,2	4,8
Blanc d'œuf	3,5	0,1	4,2	0,2	0,0	-	0,5	0,1	-
Jaune d'œuf	3,3	0,2	4,8	0,1	0,0	-	0,2	0,1	-
Mélange d'herbes	4,9	0,3	5,3	3,1	0,2	5,3	5,9	0,1	1,6
Cochon d'Inde	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	-
Noisetier	5,0	0,2	4,5	2,0	0,2	11,8	5,6	0,2	3,8
Noisette	3,8	0,2	5,1	3,2	0,2	7,2	3,7	0,2	5,4
Cheval	1,4	0,2	15,2	0,2	0,1	-	0,3	0,1	-
Lait	5,3	0,2	4,3	0,1	0,1	-	0,3	0,1	-
Armoise	2,7	0,4	13,6	0,3	0,1	-	1,1	0,3	22,9
Chêne	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	-
Arachide	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
Plantain lancéolé	2,6	0,3	10,2	0,7	0,1	-	1,7	0,3	15,1
Pomme de terre	1,6	0,3	18,9	0,7	0,1	-	1,5	0,2	12,9
Lapin	1,3	0,2	12,2	0,5	0,1	-	0,6	0,1	-
Seigle (pollen)	5,8	0,2	4,2	2,0	0,3	13,7	4,8	0,4	7,6
Farine de seigle	2,9	0,2	6,3	1,0	0,2	14,8	3,3	0,1	3,9
Sésame	2,7	0,2	8,5	1,1	0,2	16,9	3,0	0,2	5,9
Graine de soja	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
Noix	0,3	0,1	-	1,0	0,2	19,1	0,2	0,1	-
Farine de blé	5,6	0,2	3,3	0,7	0,1	-	2,1	0,1	5,2
Alpha-lactalbumine	2,6	0,4	15,7	0,0	0,0	-	0,2	0,1	-
Bêta-lactoglobuline	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. Comparaison avec un système de référence de détection quantitative des IgE in vitro

Afin de déterminer la concordance entre RIDA qLine® Allergy et un système de référence d'IgE quantitatif (Phadia ImmunoCap, Thermo Scientific, États-Unis), les deux systèmes de test ont été utilisés pour tester 50 sérums pour 42 allergènes dans RIDA qLine® Allergy Standard Panel 1-4. Les catégories RAST obtenues pour les deux systèmes de test ont été comparées. (Voir tableau 6). Une différence de $\Delta RAST \leq 1$ entre les systèmes de test est estimée concordante.

Tableau 6 : Comparaison avec le système de référence d'IgE

	Δ qLine / système de référence d'IgE
Concordance ($\Delta \leq 1$ RAST)	1904
Incohérence ($\Delta > 1$ RAST)	196
Nombre total d'échantillons	2100

% de concordance	90,7 %
% d'incohérence	9,3 %

13.4. Substances interférentes

Le sérum de patients suspectés de présenter un terrain allergique a été testé à la recherche de substances interférentes afin d'identifier les substances interférentes présentes dans des échantillons de sérum humain. Des substances potentiellement interférentes ont été identifiées à des concentrations supérieures au niveau physiologique dans les deux échantillons de sérum. Le test RIDA qLine® Allergy a été exécuté pour ces échantillons.

Les résultats indiquent qu'un traitement à base d'omalizumab peut donner lieu à des valeurs réduites ou des faux-négatifs.

En raison de l'impossibilité d'exclure le risque d'interférences générées par la présence de triglycérides dans le sérum, les sérums lipémiques ne peuvent pas être utilisés pour effectuer ces tests (voir également section 8).

Tableau 7 : Substances présentant un risque d'interférence avec RIDA qLine® Allergy

Substance	Concentration finale dans le sérum	Sérum 1		Sérum 2	
		Nombre d'allergènes	Δ RAST ≥ 1	Nombre d'allergènes	Δ RAST ≥ 1
IgG (humains non spécifiques)	20 mg/ml	43	1	43	1
Cétirizine	7,7 μ mol/l	43	0	43	0
Loratadine	0,78 μ mol	43	0	43	0
Desloratadine	0,97 μ mol	43	0	43	0
Omalizumab	75 μ g/ml	43	10	43	7
Hémoglobine	2 mg/ml	43	0	43	0
Triglycérides	32,75 mg/ml	43	4	43	0
Bilirubine	200 μ g/ml	43	0	43	0
Cholestérol	5 mg/ml	43	1	43	0

Bibliographie

- 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)