

RIDA qLine[®] Allergy

Codice prodotto: A6142 Panel 1 (20 allergeni diversi)

Codice prodotto: A6242 Panel 2 (20 allergeni inalati)

Codice prodotto: A6342 Panel 3 (20 allergeni alimentari)

Codice prodotto: A6442 Panel 4 (20 allergeni pediatrici)

Il presente manuale è valido anche per tutti gli altri panel specifici per i paesi. Per la composizione degli allergeni, consultare il certificato di accompagnamento fornito con ciascun kit.



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt,
Germania, Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. Il presente test è un dosaggio immunoenzimatico su membrana di nitrocellulosa (immunoblot) per la rilevazione quantitativa degli anticorpi IgE allergene-specifici nel siero umano e nel plasma (citrato).

2. Sintesi e spiegazione del test

Il compito del sistema immunitario è proteggere l'organismo da batteri, virus e altri microrganismi patogeni. La risposta difensiva protegge l'organismo al primo contatto con i patogeni, ma fornisce anche l'immunizzazione per l'esposizione ricorrente. Tutte le reazioni allergiche sono precedute da un primo contatto asintomatico, in cui vengono già prodotti specifici anticorpi di classe E (anticorpi IgE). In caso di contatto ripetuto con l'allergene scatenante, questi anticorpi IgE reagiscono con l'allergene causando il rilascio di mediatori (solitamente dai mastociti) come istamina, leucotrieni, prostaglandine ecc., che danno origine ai sintomi dell'allergia. In caso di reazioni allergiche, rilevare anticorpi IgE specifici nel siero consente di identificare gli allergeni scatenanti. Le sensibilizzazioni esistenti possono essere inoltre rilevate anche in assenza di sintomi.

3. Principio del test

Questo test si basa sui principi del metodo immunoblot. A seconda della configurazione del panel, alla superficie delle membrane di nitrocellulosa sono fissati vari allergeni lungo linee separate. Gli anticorpi IgE allergene-specifici reagiscono con gli allergeni appropriati, se presenti nei campioni dei pazienti. In una seconda fase, gli anticorpi IgE anti-umani coniugati con biotina si legano agli anticorpi fissati. Durante una terza fase di incubazione, la biotina si lega alla streptavidina coniugata con perossidasi. In una fase di incubazione finale, la perossidasi trasforma il substrato incolore tetrametilbenzidina (TMB) in un prodotto finale di colore blu-violaceo. Dopo ogni singola incubazione, una fase di lavaggio rimuove il materiale non legato. L'intensità del colore blu è proporzionale alla quantità di anticorpi allergene-specifici nel siero del paziente. Il campione viene valutato con RIDA qLine[®] Scan (IVD) o uno scanner piano a colori in 3D (non IVD) convalidato da R-Biopharm in combinazione con il software RIDA qLine[®] Soft. Le intensità di colore delle bande di allergene sono valutate quantitativamente in base a una curva standard sulla membrana per stabilire le corrispondenti classi UI/ml o RAST.

Curva standard e controllo positivo

RIDA qLine® Allergy è un test quantitativo che impiega una curva standard calibrata in conformità dello standard OMS. A ogni striscia sono applicati 5 standard. I 5 standard corrispondono alle classi RAST 1 - 5, mentre la classe RAST 6 viene estrapolata nel software.

La curva standard è visibile e i criteri di validità sono soddisfatti solo se il test è stato eseguito correttamente e tutti i reagenti funzionano correttamente. I criteri di validità della curva standard/controllo funzionale sono soddisfatti se tutti i 5 standard sono visibili e riconosciuti dal software, lo standard inferiore raggiunge almeno l'intensità 10, e l'intensità dello standard 1 è < standard 2 < standard 3 < standard 4 < standard 5.

Il controllo positivo valuta il sistema nel suo complesso. Il valore previsto può essere emesso solo se le strisce sono elaborate correttamente, il sistema di misura rileva correttamente le bande e il software ha eseguito correttamente i calcoli. Il controllo positivo deve raggiungere almeno RAST 4 per poter essere considerato valido.

Banda di CCD

La banda di CCD è costituita da catene laterali di carboidrati purificati legate alla membrana di nitrocellulosa. La banda di CCD rileva specifici anticorpi IgE diretti contro i determinanti cross-reattivi dei carboidrati (CCD) nel campione del paziente.

Il sistema immunitario forma anticorpi IgE specifici contro allergeni veri e propri, ma anche contro le catene laterali di allergeni (IgE anti-CCD) derivanti da vegetali, insetti, molluschi o lattice. Queste IgE anti-CCD causano inoltre reazioni crociate con proteine non correlate, e prendono pertanto il nome di determinanti cross-reattivi dei carboidrati (CCD).

Circa il 25% di tutti i pazienti allergici produce IgE anti-CCD. Tuttavia, è molto difficile che scatenino sintomi allergici, e quindi non sono clinicamente significativi.

Queste reazioni crociate possono portare risultati positivi nei sistemi analitici in vitro, che devono essere considerati falsi positivi. Al fine di distinguere correttamente i risultati positivi autentici dai falsi positivi, il test deve essere ripetuto in caso di risultato positivo per la banda di CCD (\geq RAST 1) e il siero deve essere bloccato prima del test con un inibitore di CCD (ZA0601) per impedire il legame con i CCD dei test in vitro.

4. Contenuto della confezione

Tabella 1: contenuto della confezione sufficiente per 10 dosaggi

Membrane	10 pezzi	Membrane del test RIDA qLine® Allergy (membrane di nitrocellulosa), rivestite con materiale allergenico su 20 campi del test e 5 standard in pozzetti di reazione
Wash 25x	5 ml	Tampone di lavaggio, concentrazione 25x, Tris/NaCl
Antibody	5 ml	Anticorpi di rilevazione; anticorpi IgE anti-umani (capra) coniugati con biotina, pronti per l'uso
Conjugate	5 ml	Coniugato di streptavidina, streptavidina coniugata con perossidasi, pronta per l'uso
Substrate	5 ml	Substrato; TMB (tetrametilbenzidina), pronto per l'uso

5. Istruzioni di conservazione per reagenti

Le membrane del test devono essere conservate in un luogo fresco, asciutto e al riparo dalla luce nella confezione di alluminio. Il kit del test deve essere conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Il tampone di lavaggio diluito ha una durata massima di 4 settimane se conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. La contaminazione microbica deve essere evitata. Dopo la data di scadenza la garanzia di qualità non è più valida.

In ogni caso deve essere evitata la contaminazione del substrato con il coniugato, poiché comporta alterazioni nel colore del substrato. Allo stesso tempo, deve essere evitata l'esposizione diretta del substrato alla luce per evitare la denaturazione o l'alterazione del colore per autossidazione. In caso di alterazione del colore, il substrato non può più essere usato.

6. Reagenti aggiuntivi necessari e dispositivi accessori

6.1. Reagenti

- Acqua distillata o deionizzata

6.2. Accessori

- Vorticatore
- Cilindro graduato (200 ml)
- Micropipetta da 1000 µl
- Telaio di fissaggio per 10 strisce (membrane del test)

- Il contenitore per incubazione in camera oscura (sistema di telaio di fissaggio e contenitore (= RIDA qLine[®] Incubation Set; cod. art. ZG2701) può essere acquistato presso R-Biopharm AG)
- Agitatore orbitale (300 RPM, raggio orbitale da 3 mm, cod. art.: ZG2601)
- RIDA qLine[®] Scan (cod. art.: ZG1109) più personal computer con porta USB
- Scanner piano a colori in 3D convalidato da R-Biopharm AG (cod. art.: ZG1106) più personal computer con porta USB
- Software RIDA qLine[®] Soft (cod. art.: Z9995)

7. Misure precauzionali

Esclusivamente per la diagnostica in vitro.

Questo test deve essere condotto esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici. Attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso nell'esecuzione del test.

Non pipettare con la bocca campioni o reagenti ed evitare il contatto con la cute lesa o con le mucose. Durante la manipolazione dei campioni indossare guanti monouso e lavarsi le mani dopo aver eseguito il test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni o con i reagenti del test.

Anticorpi e tamponi di lavaggio contengono azoturo di sodio come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le mucose. Il contatto con tubi in piombo o rame potrebbe causare lo sviluppo di azidi metalliche esplosive.

Il substrato contiene perossido di idrogeno, oltre a clorometilisotiazolinone e metilisotiazolinone a concentrazioni sub-tossiche.

Se l'imballaggio esterno è danneggiato, controllare i singoli componenti prima dell'uso alla ricerca di eventuali danni. Non usare i componenti del kit se la confezione è danneggiata o i contenitori non sono a tenuta.

Dopo l'uso, smaltire tutti i componenti del kit in modo appropriato.

Tutti i reagenti e materiali che entrano in contatto con campioni potenzialmente infettivi devono essere trattati con adeguato disinfettante o sterilizzati in autoclave per almeno 1 ora a 121 °C.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

Il test è stato sviluppato per analizzare il siero e il plasma (citrato) umano. Dopo la raccolta del campione di sangue, il siero deve essere separato dal coagulo il più rapidamente possibile per evitare l'emolisi. I campioni devono essere conservati in un luogo fresco o congelati fino al momento di eseguire il test. Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento e la contaminazione batterica del siero. L'uso di sieri lipemici, emolitici, da ittero od opachi inattivati dal calore potrebbe produrre risultati anomali.

Tabella 2: conservazione del campione

2-8 °C	1 settimana
-20 °C	>1 settimana

9. Esecuzione del test

9.1. Informazioni generali

È consentito lo scambio o l'uso di una combinazione di componenti del kit provenienti da kit con numeri di lotto diversi.

Ottenere risultati riproducibili dipende fortemente dai tempi e dalle temperature di incubazione, nonché dal corretto lavaggio delle membrane del test.

Tutti i componenti del test devono essere portati a temperatura ambiente (20-25 °C) prima dell'uso.

9.2. Preparazione del tampone di lavaggio

Aggiungere 5 ml di tampone di lavaggio concentrato a **Wash 25x** in un cilindro graduato e portare a 125 ml con acqua distillata (= tampone di lavaggio). Sciogliere gli eventuali cristalli nel concentrato mediante trattamento termico (bagnomaria a 37 °C). Tenere il tampone di lavaggio in un contenitore da cui possa essere prelevato mediante pipette.

9.3. Prima incubazione

Rimuovere dalla confezione la quantità di **Membrane** del test corrispondente al numero di test da eseguire. I pozzetti vengono inseriti nel telaio per membrana del test al fine di fissare le strisce durante l'agitazione. Ogni membrana del test è rivestita con 500 µl di tampone di lavaggio e viene agitata in un agitatore orbitale (300 giri/min, raggio orbitale da 3 mm) per 1 minuto finché non risalgono più bolle. La **Membrane** del test viene quindi svuotata picchiettandola su un materiale assorbente. La **Membrane** del test viene poi riempita con 400 µl di siero del paziente e incubata per 30 minuti a temperatura ambiente (20-25 °C) sopra un agitatore orbitale. È indispensabile garantire che il fluido copra l'intera membrana. In caso contrario, si può correggere il problema utilizzando la punta di una pipetta stando attenti a non danneggiare la membrana.

9.4. Lavaggio

I pozzetti sono svuotati dopo l'incubazione del siero. La **Membrane** del test viene quindi lavata in tre fasi separate da 1 minuto ciascuna con 400 µl di tampone di lavaggio sull'agitatore orbitale nelle stesse condizioni dell'incubazione. Successivamente, svuotare le membrane del test picchiettandole su un materiale assorbente.

9.5. Seconda incubazione

Pipettare 400 µl di **Antibody** su ogni **Membrane** del test. Ancora una volta, è indispensabile garantire che il fluido copra l'intera membrana. Ogni **Membrane** del test viene quindi incubata per 45 minuti a temperatura ambiente (20-25 °C) sull'agitatore orbitale.

9.6. Lavaggio

Lavare come descritto al Punto 9.4.

9.7. Terza incubazione

Pipettare 400 µl di **Conjugate** su ogni **Membrane** del test. Ancora una volta, è indispensabile garantire che il fluido copra l'intera membrana. Ogni **Membrane** del test viene quindi incubata per 20 minuti a temperatura ambiente (20-25 °C) sull'agitatore orbitale.

9.8. Lavaggio

La qualità del risultato dipende fortemente da questa fase di lavaggio. Sciacquare tre volte ogni striscia con 1000 µl di tampone di lavaggio, stando sempre sopra un lavandino o contenitore adeguato. Tenere la striscia inclinata e spostare la pipetta dalla parte superiore alla parte inferiore della membrana mentre si pipetta il fluido, senza toccare realmente la membrana. In seguito, lavare **Membrane** del test in due fasi separate da 1 minuto con 400 µl di tampone di lavaggio sull'agitatore orbitale nelle stesse condizioni dell'incubazione. Successivamente, svuotare le membrane del test picchiettandole su un materiale assorbente.

9.9. Quarta incubazione

Applicare 400 µl di **Substrate** a ogni **Membrane** del test, in modo che la membrana sia completamente coperta. Ogni **Membrane** del test viene quindi incubata per 15 minuti al buio a temperatura ambiente (20-25 °C) sull'agitatore orbitale.

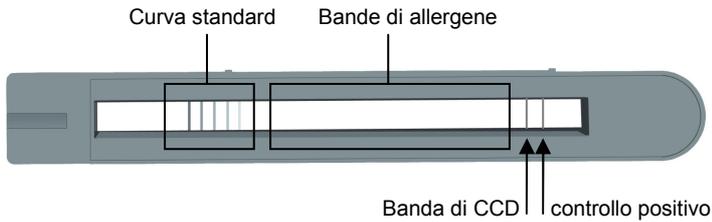
9.10. Lavaggio

I pozzetti sono svuotati dopo l'incubazione del substrato. Infine, la **Membrane** del test viene lavata una volta con 400 µl di tampone di lavaggio e una volta con 400 µl di acqua distillata, 1 minuto per entrambe le volte, sull'agitatore orbitale (300 giri/min, raggio orbitale da 3 mm) nelle stesse condizioni dell'incubazione. Successivamente, svuotare le membrane del test picchiettandole su un materiale assorbente.

Il test può essere valutato dopo essiccazione all'aria per almeno 30 minuti o quando la membrana è completamente asciutta. Si raccomanda l'uso di un asciugacapelli ad aria fredda per abbreviare il processo.

10. Controllo della qualità – indicazioni sulla scadenza dei reagenti

Il test è stato eseguito correttamente se lo sfondo ha completamente perso colore, la curva standard di cinque bande differenti è visibile e il controllo positivo soddisfa le specifiche.



L'opacità del reagente o una colorazione bluastra del substrato prima che questo sia aggiunto alla **Membrane** del test può essere un segno che il reagente è scaduto.

Se la curva standard non è visibilmente distinta, prima di ripetere il test è necessario verificare quanto segue:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dell'attrezzatura utilizzata (p. es. calibrazione)
- Correttezza della procedura di esecuzione del test
- Controllare visivamente che i componenti del kit non presentino contaminazione o perdite; non utilizzare il substrato in soluzione se ha assunto una colorazione blu.

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo la ripetizione del test, contattare il produttore o il distributore R-Biopharm locale.

11. Valutazione e interpretazione

11.1. Configurazioni della membrana per RIDA qLine® Allergy Panel 1, 2, 3 e 4

Panel 1 20 allergeni	Panel 2 20 allergeni	Panel 3 20 allergeni	Panel 4 20 allergeni
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	Nocciola	Derm. pteronyssinus
Derm. farinae	Derm. farinae	Arachide	Derm. farinae
Ontano	Ontano	Noce	Betulla
Betulla	Betulla	Mandorla	Mix di erbe
Nocciolo	Nocciolo	Latte	Gatto
Mix di erbe	Quercia	Albume	Cane
Segale (polline)	Mix di erbe	Tuorlo d'uovo	Alternaria alternata
Artemisia	Segale (polline)	Caseina	Latte
Piantaggine	Artemisia	Patata	α Lattoalbumina
Gatto	Piantaggine	Sedano	β -lattoglobulina
Cavallo	Gatto	Carota	Caseina
Cane	Cavallo	Pomodoro	Albume
Alternaria alternata	Cane	Merluzzo	Tuorlo d'uovo
Albume	Porcellino d'India	Granchio	Albumina sierica bovina
Latte	Criceto	Arancia	Seme di soia
Arachide	Coniglio	Mela	Carota
Nocciola	Penicillium notatum	Farina di frumento	Patata
Carota	Cladospor. herbarum	Farina di segale	Farina di frumento
Farina di frumento	Aspergillus fumigatus	Sesamo	Nocciola
Seme di soia	Alternaria alternata	Seme di soia	Arachide
CCD	CCD	CCD	CCD
PosCo	PosCo	PosCo	PosCo

Le configurazioni della membrana per tutti gli altri panel specifici dei paesi cui il presente foglio illustrativo si rivolge sono disponibili presso R-Biopharm AG come supplemento per ogni panel.

11.2. Valutazione con RIDA qLine® Scan o uno scanner piano a colori in 3D in combinazione con il software RIDA qLine® Soft.

A tale scopo, le membrane del test sono inserite nel telaio e misurate utilizzando uno dei dispositivi di misurazione elencati e il software appropriato. Il valore in UI/ml viene calcolato automaticamente in base ai valori misurati e assegnato alle classi RAST 0-6. La valutazione si basa sulla curva standard contenuta in ogni striscia. L'intensità di ogni singola linea dell'allergene è correlata a tale curva standard.

Consultare il manuale appropriato per informazioni sull'uso dei vari dispositivi di misura per la valutazione.

È indispensabile garantire che ai panel per l'allergia da misurare siano assegnati i test appropriati.

Tabella 3: collegamento tra la classe determinata e il contenuto di IgE allergene-specifiche del siero del paziente

UI/ml	Classe	Contenuto di IgE allergene-specifiche
0,00 - 0,34	0 (0,0 - 0,9)	non rilevabile o in tracce
0,35 - 0,69	1 (1,0 - 1,9)	basso
0,70 - 3,49	2 (2,0 - 2,9)	elevato
3,50 - 17,49	3 (3,0 - 3,9)	significativamente elevato
17,50 - 49,99	4 (4,0 - 4,9)	alto
50,00 - 99,99	5 (5,0 - 5,9)	molto alto
≥ 100,00	6	estremamente alto

11.3. Documentazione

I dati misurati (foto della membrana del test e valutazione) sono salvati sul disco rigido del PC in una directory predefinita. Questo database è utilizzato per la gestione dei dati del paziente. Per ogni siero testato è possibile stampare una scheda di dati utilizzando qualsiasi stampante standard collegata al PC.

12. Limiti del metodo

Le concentrazioni di IgE determinate con questo sistema analitico forniscono informazioni sul livello di sensibilizzazione del paziente per quanto riguarda i singoli allergeni o i mix di allergeni controllati.

Su questa base non è possibile dedurre una correlazione tra il livello di una determinata concentrazione di IgE e la comparsa o la gravità dei sintomi clinici. I risultati ottenuti devono sempre essere interpretati nel contesto della situazione clinica nel suo complesso.

Data la mancanza di standard nazionali e internazionali e le possibili differenze tra le soluzioni per prick test e gli estratti di allergene utilizzati nei test *in vitro*, ci può essere una discrepanza tra i risultati dei test *in vivo* e quelli *in vitro*. Inoltre, i titoli di IgE possono produrre falsi negativi o dare misurazioni troppo basse subito dopo la comparsa di reazioni anafilattiche. In caso di discrepanze tra i risultati *in vivo* e quelli *in vitro*, il test va ripetuto dopo 3 - 4 settimane. Se le discrepanze persistono, un allergologo deve eseguire ulteriori test *in vivo*, come ad esempio i test di provocazione. I test di provocazione potrebbero innescare uno shock anafilattico.

Data la cross-reattività dell'allergene testato con altri allergeni, il test potrebbe produrre risultati falsi positivi.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1. Precisione intra-analisi

La precisione intra-analisi è stata determinata testando due sieri (siero 1 e 2) con 20 strisce del test ciascuno, e un siero (siero 3) con 10 strisce del test da un singolo lotto.

La Tabella 4 riassume i valori medi (MV), le deviazioni standard (SD) e i coefficienti di variazione (CV) determinati per ogni singolo allergene. Per la precisione intra-analisi di tutti gli allergeni con segnali compresi tra RAST 1 e RAST 2 sono accettati valori di CV del 15%. Per gli allergeni con segnali \geq RAST 2 sono accettati valori di CV del 10%. Per qualsiasi allergene con segnali negativi ($<$ RAST 1) non si calcola alcun CV.

Tabella 4: precisione intra-analisi di tutti e 43 gli allergeni nei panel standard 1-4

Allergene	Siero 1			Siero 2			Siero 3		
	MV (RAST)	SD	CV (%)	MV (RAST)	SD	CV (%)	MV (RAST)	SD	CV (%)
Ontano	4,2	0,1	2,9	5,4	0,1	2,6	5,9	0,1	2,1
Mandorla	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
Mela	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
Betulla	5,5	0,1	2,0	6,0	0,0	0,0	1,7	0,1	4,9
Albumina sierica bovina	0,2	0,1	-	0,2	0,1	-	5,2	0,1	2,2
Carota	3,2	0,1	2,3	1,9	0,1	7,8	0,6	0,0	-
Caseina	0,1	0,1	-	0,4	0,1	-	5,2	0,1	2,2
Gatto	2,5	0,1	4,3	4,4	0,1	2,7	6,0	0,1	1,2
Sedano	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
Merluzzo	0,1	0,0	-	0,3	0,1	-	5,2	0,1	2,1
Granchio	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
Cane	0,3	0,0	-	6,0	0,0	0,8	4,1	0,1	3,1
Albumine	0,4	0,1	-	1,0	0,1	-	3,5	0,1	2,8
Tuorlo d'uovo	0,1	0,1	-	0,5	0,1	-	3,2	0,1	2,9
Mix di erbe	5,9	0,1	2,0	5,5	0,2	3,4	4,1	0,3	8,3
Porcellino d'India	0,3	0,0	-	1,3	0,1	8,8	0,7	0,1	-
Criceto	0,6	0,1	-	1,8	0,1	6,9	0,7	0,1	-
Nocciolo	4,5	0,2	4,4	5,7	0,1	2,2	5,7	0,2	2,7
Nocciola	3,0	0,1	2,6	5,1	0,1	2,7	3,8	0,1	1,9
Cavallo	0,3	0,1	-	0,3	0,1	-	0,3	0,1	-
Latte	0,5	0,1	-	0,5	0,1	-	5,2	0,1	2,7
Artemisia	2,5	0,1	3,9	4,3	0,1	3,3	1,4	0,2	13,8
Quercia	4,7	0,1	2,8	5,9	0,1	1,4	5,1	0,2	3,7

Arancia	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
Piantaggine lanceolata	2,8	0,1	3,7	4,5	0,1	3,0	2,0	0,1	5,1
Patata	3,4	0,2	4,6	2,2	0,2	8,5	1,7	0,2	9,1
Coniglio	1,1	0,1	6,6	1,9	0,1	3,5	1,5	0,2	11,0
Segale (polline)	5,5	0,2	3,9	4,4	0,2	4,5	5,2	0,2	3,9
Farina di segale	2,7	0,1	4,1	2,8	0,2	6,8	2,9	0,1	4,7
Sesamo	3,0	0,1	4,0	2,9	0,2	6,1	2,7	0,1	5,5
Seme di soia	0,2	0,1	-	0,4	0,1	-	4,7	0,1	1,6
Pomodoro	3,7	0,1	2,5	2,3	0,1	6,0	2,7	0,1	4,3
Noce	0,9	0,1	-	3,7	0,2	4,5	0,2	0,0	-
Farina di frumento	2,8	0,1	3,9	2,5	0,1	4,5	5,5	0,1	2,5
α lattealbumina	0,2	0,1	-	0,4	0,1	-	2,7	0,2	7,0
β -lattoglobulina	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. Precisione inter-analisi

Allo scopo di determinare la precisione inter-analisi, sono stati analizzati 3 sieri in duplicato per 10 giorni consecutivi. La prova è stata eseguita da due soggetti diversi.

La Tabella 5 riassume i valori medi (MV), le deviazioni standard (SD) e i coefficienti di variazione (CV) determinati per ogni singolo allergene. Per la precisione inter-analisi di tutti gli allergeni con segnali compresi tra RAST 1 e RAST 2 sono accettati valori di CV del 20%. Per gli allergeni con segnali \geq RAST 2 sono accettati valori di CV del 15%. Per qualsiasi allergene con segnali negativi ($<$ RAST 1) non si calcola alcun CV.

Tabella 5: precisione inter-analisi

Allergene	Siero 1			Siero 2			Siero 3		
	MV (RAST)	SD	CV (%)	MV (RAST)	SD	CV (%)	MV (RAST)	SD	CV (%)
Ontano	5,4	0,2	3,6	2,2	0,2	9,1	5,9	0,1	2,0
Mandorla	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
Mela	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
Betulla	1,0	0,2	-	2,7	0,3	9,8	5,9	0,1	1,4
Albumina sierica bovina	4,9	0,2	3,7	2,0	0,3	14,4	0,1	0,1	-
Carota	2,4	0,2	7,7	0,4	0,1	-	0,9	0,1	-
Caseina	5,1	0,2	3,6	0,1	0,1	-	0,3	0,1	-
Gatto	4,4	0,2	3,7	2,9	0,2	7,4	5,9	0,2	2,7
Sedano	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
Merluzzo	5,2	0,2	3,1	1,3	0,3	26,0	0,4	0,1	-
Granchio	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
Cane	0,7	0,1	-	0,3	0,1	-	3,8	0,2	4,8
Albume	3,5	0,1	4,2	0,2	0,0	-	0,5	0,1	-
Tuorlo d'uovo	3,3	0,2	4,8	0,1	0,0	-	0,2	0,1	-
Mix di erbe	4,9	0,3	5,3	3,1	0,2	5,3	5,9	0,1	1,6
Porcellino d'India	2,3*	0,3	10,8	0,4	0,1	-	0,5	0,1	-
Criceto	1,8	0,2	11,2	0,4	0,1	-	0,6	0,1	-
Nocciolo	5,0	0,2	4,5	2,0	0,2	11,8	5,6	0,2	3,8
Nocciola	3,8	0,2	5,1	3,2	0,2	7,2	3,7	0,2	5,4
Cavallo	1,4	0,2	15,2	0,2	0,1	-	0,3	0,1	-
Latte	5,3	0,2	4,3	0,1	0,1	-	0,3	0,1	-
Artemisia	2,7	0,4	13,6	0,3	0,1	-	1,1	0,3	22,9
Quercia	3,9	0,2	5,1	0,9	0,1	-	4,4	0,3	6,4
Arancia	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

Piantaggine lanceolata	2,6	0,3	10,2	0,7	0,1	-	1,7	0,3	15,1
Patata	1,6	0,3	18,9	0,7	0,1	-	1,5	0,2	12,9
Coniglio	1,3	0,2	12,2	0,5	0,1	-	0,6	0,1	-
Segale (polline)	5,8	0,2	4,2	2,0	0,3	13,7	4,8	0,4	7,6
Farina di segale	2,9	0,2	6,3	1,0	0,2	14,8	3,3	0,1	3,9
Sesamo	2,7	0,2	8,5	1,1	0,2	16,9	3,0	0,2	5,9
Seme di soia	4,9	0,2	3,8	0,3	0,1	-	2,5	0,3	12,5
Pomodoro	2,7	0,2	6,9	0,8	0,1	-	1,3	0,3	19,6
Noce	0,3	0,1	-	1,0	0,2	19,1	0,2	0,1	-
Farina di frumento	5,6	0,2	3,3	0,7	0,1	-	2,1	0,1	5,2
α lattoalbumina	2,6	0,4	15,7	0,0	0,0	-	0,2	0,1	-
β -lattoglobulina	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. Confronto con un sistema di riferimento quantitativo per le IgE in vitro

Per determinare la concordanza tra RIDA qLine® Allergy e un sistema di riferimento per la determinazione quantitativa delle IgE (Phadia ImmunoCap, Thermo Scientific, USA), sono stati utilizzati entrambi i sistemi analitici per testare 50 sieri per 42 allergeni nei panel standard 1-4 di RIDA qLine® Allergy. Sono poi state confrontate le classi RAST risultanti da entrambi i sistemi analitici. (Vedere la tabella 6). Una differenza fra i sistemi analitici di $\Delta RAST \leq 1$ è stata considerata come concordanza.

Tabella 6: confronto con il sistema di riferimento per IgE

	Δ qLine / sistema di riferimento per IgE
Concordanza ($\Delta \leq 1$ RAST)	1904
Discrepanza ($\Delta > 1$ RAST)	196
Campioni in totale	2100

Concordanza %	90,7%
Discrepanza %	9,3%

13.4. Sostanze interferenti

Il siero dei pazienti di cui si sospettava una condizione allergica è stato testato per le sostanze interferenti al fine di identificare tali sostanze nei campioni di siero umano. In due campioni di siero sono state trovate sostanze potenzialmente interferenti a concentrazioni superiori al livello fisiologico. Per questi campioni è stato eseguito il test RIDA qLine® Allergy.

I risultati indicano che il trattamento con omalizumab può produrre valori ridotti o falsi negativi.

Dato che è impossibile escludere la possibilità di interferenze da parte di trigliceridi nel siero, è possibile che i sieri lipemici non siano utilizzabili per il test (vedere anche la Sezione 8).

Tabella 7: sostanze che possono interferire con RIDA qLine® Allergy

Sostanza	Concentrazione sierica finale	Siero 1		Siero 2	
		Numero di allergeni	Δ RAST ≥ 1	Numero di allergeni	Δ RAST ≥ 1
IgG (umana non specifica)	20 mg/ml	43	1	43	1
Cetirizina	7,7 μ mol/l	43	0	43	0
Loratadina	0,78 μ mol/L	43	0	43	0
Desloratadina	0,97 μ mol/L	43	0	43	0
Omalizumab	75 μ g/ml	43	10	43	7
Emoglobina	2 mg/ml	43	0	43	0
Trigliceridi	32,75 mg/ml	43	4	43	0
Bilirubina	200 μ g/ml	43	0	43	0
Colesterolo	5 mg/ml	43	1	43	0

Bibliografia

- 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)