

REF



SYSTEM

07027516190

07027516500

100

cobas e 402

cobas e 801

Italiano**Informazioni relative al sistema**

Nome abbreviato	ACN (<i>application code number</i> – codice di applicazione)
IGE 2	10057

Finalità d'uso

Test immunologico per la determinazione quantitativa *in vitro* dell'immunoglobulina E nel siero e nel plasma umani.

La determinazione delle IgE totali è utile per coadiuvare la diagnosi di malattie allergiche.

L'esecuzione dell'ImmunoAssay in ElettroChemiLuminescenza "ECLIA" è destinata all'uso sugli immunoanalizzatori **cobas e**.

Sommario

L'immunoglobulina E (IgE) riveste un ruolo importante nella protezione immunologica contro le infezioni parassitarie e nei fenomeni allergici (ipersensibilità di tipo 1). L'ipersensibilità di tipo 1 è caratterizzata dall'insorgenza di reazioni allergiche immediatamente dopo la riesposizione all'antigene che provoca le manifestazioni allergiche (l'allergene), come riscontrato in caso di patologie atopiche (per es. asma allergico), al veleno di insetti o al lattice ed in caso di alcune allergie alimentari. Il legame dell'allergene ai mastociti tissutali o ai basofili sanguigni sensibilizzati comporta il *cross-linking* dell'IgE a livello della membrana cellulare, con la conseguente degranulazione delle cellule ed il rilascio di mediatori infiammatori (ad es. istamina, serotonina, mediatori lipidici, proteasi e citochine), che provocano i sintomi tipici dell'ipersensibilità di tipo 1, una risposta immunitaria esagerata ad antigeni estranei, quali polline, acari della polvere e certi alimenti.^{1,2,3,4,5}

Di norma, la concentrazione di IgE nel siero è molto bassa, dato che l'IgE è l'anticorpo meno presente nel siero (0.05 % della concentrazione delle IgG). La concentrazione delle IgE è correlata all'età, e la più bassa concentrazione misurabile si riscontra al momento della nascita. Nel corso dello sviluppo la concentrazione delle IgE aumenta gradualmente e si stabilizza all'età di 5-7 anni, anche se i valori di IgE all'interno di un determinato gruppo d'età variano enormemente.^{1,6}

Concentrazioni elevate di IgE possono riscontrarsi nei pazienti affetti da malattie allergiche, quali febbre da fieno, bronchite atopica e dermatite.⁴ Tuttavia, valori normali di IgE non escludono lo sviluppo di una malattia allergica. Per questo motivo, la determinazione quantitativa delle concentrazioni di IgE nel siero è utile per la differenziazione clinica tra malattie allergiche atopiche (predisposizione a reazioni eccessive mediate dalle IgE) e non atopiche (non mediate dalle IgE) solo se utilizzata in combinazione con altre evidenze cliniche.^{1,6,7}

Concentrazioni elevate di IgE nel siero possono riscontrarsi anche in presenza di malattie non allergiche, quali ad es. sindromi di immunodeficienza congenite, infezione da HIV, malattia del trapianto contro l'ospite, ustioni gravi e malattie parassitarie.⁴

Principio del test

Principio sandwich. Durata complessiva del test: 18 minuti.

- 1^a incubazione: l'IgE nel campione (6 µL), un anticorpo monoclonale biotinilato specifico anti-IgE e un anticorpo monoclonale specifico anti-IgE, marcato con un complesso di rutenio^{a)}, formano un complesso sandwich.
- 2^a incubazione: dopo l'aggiunta di microparticelle rivestite di streptavidina, il complesso si lega alla fase solida mediante l'interazione biotina-streptavidina.
- La miscela di reazione viene aspirata nella cella di misura dove le microparticelle vengono attratte magneticamente alla superficie dell'elettrodo. Successivamente si eliminano le sostanze non legate impiegando ProCell II M. Applicando una tensione all'elettrodo, si induce l'emissione chemiluminescente che viene misurata mediante il fotomoltiplicatore.

- I risultati vengono calcolati in base ad una curva di calibrazione, che viene generata in modo specifico per lo strumento con una calibrazione a 2 punti e con una curva master fornita tramite **cobas link**.

a) Complesso di rutenio (II) tris(2,2'-bipiridile) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

Il **cobas e pack** è contrassegnato con IGE 2.

- M Microparticelle rivestite di streptavidina, 1 flacone, 6.4 mL: microparticelle rivestite di streptavidina 0.72 mg/mL; conservante.
- R1 Anticorpi anti-IgE-biotina, 1 flacone, 9.9 mL: anticorpo (murino) monoclonale biotinilato anti-IgE 2.5 mg/L; tampone fosfato 85 mmol/L, pH 6.5; conservante.
- R2 Anticorpi anti-IgE-Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacone, 9.9 mL: anticorpo (murino) monoclonale anti-IgE marcato con un complesso di rutenio 5.5 mg/L; tampone fosfato 85 mmol/L, pH 6.5; conservante.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.

Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali. Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:

2-methyl-2H-isothiazol-3-one hydrochloride

EUH 208 Può provocare una reazione allergica.

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è conforme al regolamento GHS UE.

Evitare la formazione di schiuma in tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Utilizzo dei reattivi

I reattivi contenuti nella confezione formano un'unità inseparabile e sono pronti all'uso.

Tutte le informazioni necessarie per l'utilizzo corretto sono disponibili tramite **cobas link**.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C.

Non congelare.

Conservare il **cobas e pack** in **posizione verticale** in modo da garantire la completa disponibilità delle microparticelle durante il mescolamento automatico prima dell'uso.

Stabilità:	
prima dell'apertura a 2-8 °C	fino alla data di scadenza indicata
sugli analizzatori	16 settimane

Prelievo e preparazione dei campioni

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Siero, prelevato con provette standard per prelievi di campioni o con provette contenenti gel di separazione.

Plasma con litio eparina, K₂-EDTA e K₃-EDTA.

È possibile impiegare provette per plasma che contengono gel di separazione.

Valutazione: slope 0.9-1.1 + intercetta entro ≤ ±0.2 IU/mL + coefficiente di correlazione ≥ 0.95.

Stabilità: 7 giorni a 20-25 °C, 7 giorni a 2-8 °C, 6 mesi a -20 °C (± 5 °C).

I campioni possono essere congelati 5 volte.

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

I campioni contenenti precipitati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test.

Non impiegare campioni inattivati a caldo.

Non impiegare campioni e controlli stabilizzati con azide.

Assicurarsi che i campioni ed i calibratori al momento della misura siano alla temperatura di 20-25 °C.

Per evitare un'eventuale evaporazione, analizzare/misurare i campioni e calibratori che si trovano sugli analizzatori entro 2 ore.

Materiali a disposizione

Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- [REF] 11930427122, IgE CalSet, 4 x 1.0 mL
- [REF] 11731416190, PreciControl Universal, per 4 x 3.0 mL
- [REF] 07299001190, Diluent Universal, 45.2 mL di diluente per campioni
- Normale attrezzatura da laboratorio

Analizzatore **cobas e**

Altri materiali per gli analizzatori **cobas e 402** e **cobas e 801**:

- [REF] 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L di soluzione di sistema
- [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio per celle di misura
- [REF] 07485409001, Reservoir Cup, 8 coppette per la fornitura di ProCell II M e CleanCell M
- [REF] 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio
- [REF] 05694302001, Assay Tip/Assay Cup tray, 6 pile da 6 supporti, ciascuno contenente 105 puntali e 105 cuvette per il test, 3 scatole di cartone per rifiuti
- [REF] 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 coppette adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning Detection Unit
- [REF] 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 coppetta adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning PreWash Unit
- [REF] 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL di soluzione di lavaggio per il sistema

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.

La risospensione delle microparticelle prima dell'uso avrà luogo automaticamente.

Collocare il **cobas e** pack refrigerato (conservato a 2-8 °C) sul reagent manager. Evitare la formazione di schiuma. La regolazione della temperatura esatta dei reattivi nonché l'apertura e la chiusura del **cobas e** pack avranno luogo automaticamente nello strumento.

Calibrazione

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro la 2^a International Reference Preparation of Human Serum IgE dell'OMS (codice NIBSC: 75/502).

La curva master preimpostata viene adattata all'analizzatore impiegando l'appropriato CalSet.

Frequenza di calibrazione: per ogni lotto di reagente, effettuare una calibrazione con reagente fresco (al massimo 24 ore dopo l'identificazione del **cobas e** pack sull'analizzatore).

L'intervallo di calibrazione può essere esteso in base a valori accettabili della verifica di calibrazione da parte del laboratorio.

Si consiglia di ripetere la calibrazione come segue:

- dopo 12 settimane se si impiega lo stesso lotto di reagente
- dopo 28 giorni se si utilizza lo stesso **cobas e** pack sull'analizzatore
- all'occorrenza: ad esempio, se i risultati di un controllo di qualità sono al di fuori dei limiti definiti

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare PreciControl Universal.

In aggiunta, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato.

I controlli per le diverse concentrazioni devono essere eseguiti individualmente almeno 1 volta ogni 24 ore quando il test è in uso, al cambio di ogni **cobas e** pack e dopo ogni calibrazione.

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Se necessario, va ripetuta la misura dei corrispondenti campioni.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo

L'analizzatore effettua il calcolo automatico della concentrazione dell'analita di ogni campione (in IU/mL oppure in ng/mL).

Fattori di conversione: $IU/mL \times 2.40 = ng/mL$
 $ng/mL \times 0.42 = IU/mL$

Limiti del metodo – interferenze

È stato testato l'effetto delle seguenti sostanze endogene e dei seguenti composti farmaceutici sulla performance del test. Testando le interferenze fino alle concentrazioni elencate, non è stata osservata alcuna influenza sui risultati.

Sostanze endogene

Composto	Concentrazione testata
Bilirubina	$\leq 633 \mu\text{mol/L}$ oppure $\leq 37 \text{ mg/dL}$
Emoglobina	$\leq 0.062 \text{ mmol/L}$ oppure $\leq 100 \text{ mg/dL}$
Intralipid	$\leq 2200 \text{ mg/dL}$
Biotina	$\leq 409 \text{ nmol/L}$ oppure $\leq 100 \text{ ng/mL}$
Fattori reumatoidi	$\leq 1500 \text{ IU/mL}$

Valutazione: per le concentrazioni $\leq 3 \text{ IU/mL}$ ($\leq 7.2 \text{ ng/mL}$), la deviazione è di $\leq 0.3 \text{ IU/mL}$ ($\leq 0.72 \text{ ng/mL}$). Per le concentrazioni $> 3 \text{ IU/mL}$ ($> 7.2 \text{ ng/mL}$), la deviazione è di $\leq 10 \%$.

Ai pazienti sottoposti a terapia con alti dosaggi di biotina ($> 5 \text{ mg/die}$), il campione dovrà essere prelevato almeno 8 ore dopo l'ultima somministrazione di biotina.

Nessun effetto hook è stato riscontrato in caso di concentrazioni di IgE fino a 50000 IU/mL (120000 ng/mL).

Sostanze farmaceutiche

Tra 16 farmaci di frequente impiego, testati *in vitro*, non si è osservata alcuna interferenza con il test.

È stata riscontrata un'interferenza per campioni prelevati da pazienti trattati con omalizumab (Xolair). Non utilizzare campioni prelevati da pazienti sottoposti a trattamento con omalizumab o farmaci simili contenenti anticorpi anti-IgE.

In casi rari possono riscontrarsi interferenze causate da titoli estremamente alti di anticorpi diretti contro anticorpi specifici anti-analita, di anticorpi anti-streptavidina o di anticorpi anti-rutenio. Tali effetti sono ridotti al minimo attraverso un procedimento appropriato del test.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

Limiti ed intervalli

Intervallo di misura

0.200-2500 IU/mL oppure 0.480-6000 ng/mL (definito dal limite di sensibilità e dal massimo valore della curva master). I valori al di sotto del limite di sensibilità vengono indicati come <0.200 IU/mL oppure <0.480 ng/mL. I valori al di sopra dell'intervallo di misura vengono indicati come >2500 IU/mL oppure >6000 ng/mL (oppure, su campioni diluiti 1:20, fino a 50000 IU/mL oppure 120000 ng/mL).

Limiti inferiori di misura

Limite del bianco, limite di sensibilità e limite di quantificazione

Limite del bianco = 0.100 IU/mL (0.240 ng/mL)

Limite di sensibilità = 0.200 IU/mL (0.480 ng/mL)

Limite di quantificazione = 0.800 IU/mL (1.92 ng/mL)

Il limite del bianco, il limite di sensibilità ed il limite di quantificazione sono stati determinati in conformità ai requisiti EP17-A2 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).

Il limite del bianco corrisponde al valore del 95° percentile ottenuto in $n \geq 60$ misurazioni di campioni privi di analiti in varie serie indipendenti l'una dall'altra. Il limite del bianco corrisponde alla concentrazione al di sotto della quale si riscontrano campioni privi di analiti con una probabilità del 95 %.

Il limite di sensibilità viene determinato in base al limite del bianco e alla deviazione standard dei campioni con concentrazioni basse. Il limite di sensibilità corrisponde alla concentrazione minima dell'analita che può essere rilevata (valore superiore al limite del bianco con una probabilità del 95 %).

Il limite di quantificazione rappresenta la concentrazione minima dell'analita che può essere misurata in modo riproducibile con un CV della precisione intermedia ≤ 20 %.

Diluizione

I campioni con concentrazioni di IgE al di sopra dell'intervallo di misura possono essere diluiti con Diluent Universal. È raccomandata la diluizione 1:20 (automaticamente dagli analizzatori o manualmente). La concentrazione del campione diluito deve essere > 125 IU/mL (> 300 ng/mL).

Dopo la diluizione manuale, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Dopo la diluizione automatica, il software calcola automaticamente la concentrazione del campione.

Valori di riferimento

Le concentrazioni di IgE nei soggetti sani e non atopici sono strettamente correlate all'età. I valori più bassi si riscontrano nei neonati; all'età di 10-13 anni i valori normali raggiungono il massimo, per poi decrescere di nuovo negli adulti.^{8,9,10} Valori limite raccomandati:¹⁰

Gruppo d'età	IU/mL	ng/mL
Neonati	1.5	3.6
Lattanti (<1 anno)	15	36
Bambini (1-5 anni)	60	144
Bambini (6-9 anni)	90	216
Bambini (10-15 anni)	200	480
Adulti	100	240

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La precisione è stata determinata impiegando reattivi Elecsys, pool di sieri umani e controlli, eseguiti in base ad un protocollo (EP05-A3) del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*): 2 serie al giorno, ciascuna in duplicato, per 21 giorni ($n = 84$). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Analizzatori cobas e 402 e cobas e 801					
Campioni	Media IU/mL	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS IU/mL	CV %	DS IU/mL	CV %
Siero umano 1	0.503	0.0171	3.4	0.0201	4.0
Siero umano 2	1.46	0.0306	2.1	0.0493	3.4
Siero umano 3	14.8	0.242	1.6	0.343	2.3
Siero umano 4	93.9	1.55	1.7	2.03	2.2
Siero umano 5	1204	25.3	2.1	36.2	3.0
Siero umano 6	2078	35.6	1.7	44.2	2.1
PC ^{b)} Universal 1	98.3	1.39	1.4	2.65	2.7
PC Universal 2	282	7.29	2.6	10.4	3.7

b) PC = PreciControl

Analizzatori cobas e 402 e cobas e 801					
Campioni	Media ng/mL	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS ng/mL	CV %	DS ng/mL	CV %
Siero umano 1	1.21	0.0410	3.4	0.0482	4.0
Siero umano 2	3.50	0.0734	2.1	0.118	3.4
Siero umano 3	35.5	0.581	1.6	0.823	2.3
Siero umano 4	225	3.72	1.7	4.87	2.2
Siero umano 5	2890	60.7	2.1	86.9	3.0
Siero umano 6	4987	85.4	1.7	106	2.1
PC Universal 1	236	3.34	1.4	6.36	2.7
PC Universal 2	677	17.5	2.6	25.0	3.7

Confronto tra metodi

a) Il confronto del test Elecsys IgE II, [REF] 04827031190, (y) con il test Elecsys IgE (x), impiegando campioni prelevati da pazienti ospedalizzati, ha prodotto le seguenti correlazioni (IU/mL):

Numero di campioni misurati: 72

Passing/Bablok¹¹

$$y = 0.93x + 0.14$$

$$\tau = 0.985$$

Regressione lineare

$$y = 0.95x - 2.35$$

$$r = 0.998$$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 3 e 1755 IU/mL (tra 7.2 e 4212 ng/mL).

b) Il confronto del test Elecsys IgE II, [REF] 07027516190 (analizzatore **cobas e 801**; y), con il test Elecsys IgE II, [REF] 04827031190 (analizzatore **cobas e 601**; x), ha prodotto le seguenti correlazioni (IU/mL):

Numero di campioni di siero misurati: 143

Passing/Bablok¹¹

$$y = 0.998x - 0.007$$

$$\tau = 0.989$$

Regressione lineare

$$y = 0.974x + 3.90$$

$$r = 0.999$$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 0.342 e 2362 IU/mL (tra 0.821 e 5669 ng/mL).

c) Il confronto del test Elecsys IgE II, [REF] 07027516190 (analizzatore **cobas e 402**; y), con il test Elecsys IgE II, [REF] 07027516190 (analizzatore **cobas e 801**; x), ha prodotto le seguenti correlazioni (IU/mL):

Numero di campioni di siero misurati: 145

Passing/Bablok¹¹

$$y = 1.02x + 0.088$$

$$\tau = 0.988$$

Regressione lineare

$$y = 0.999x + 3.29$$

$$r = 1.00$$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 1.76 e 2476 IU/mL (tra 4.22 e 5942 ng/mL).

Specificità analitica

Gli anticorpi monoclonali impiegati sono altamente specifici anti-immunoglobulina E.

Non sono state rilevate delle reazioni crociate con le immunoglobuline G, A e M.

Letteratura

- 1 Winter WE, Hardt NS, Fuhrman S. Immunoglobulin E: importance in parasitic infections and hypersensitivity responses. Arch Pathol Lab Med. 2000 Sep;124(9):1382-1385.
- 2 Kasper D, Fauci A, Hauser S, et al. Harrison's Principles of Internal Medicine, 19th edition, Chapter 376: Allergies, Anaphylaxis, and Systemic Mastocytosis. Link: <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=79749806&bookid=1130&jumpsectionID=98729326&Resultclick=2> (last accessed on June 27, 2016).
- 3 Gould HJ, Sutton BJ, Beavil AJ, et al. The biology of IGE and the basis of allergic disease. Annu Rev Immunol. 2003;21:579-628.
- 4 Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results; 1st Edition, Frankfurt/Main: TH-Books-Verl.-Ges., 1998:774-785.
- 5 Wu LC, Zarrin AA. The production and regulation of IgE by the immune system. Nat Rev Immunol 2014;14(4):247-259.
- 6 Homburger HA. The Laboratory Evaluation of Allergic Diseases: Part I: Measurement Methods for IgE Protein. Lab med 1991;22:780-782.
- 7 Pien GC, Orange JS. Evaluation and clinical interpretation of hypergammaglobulinemia E: differentiating atopy from immunodeficiency. Ann Allergy Asthma Immunol. 2008;100(4):392-395.
- 8 Kjellman NIM, Johansson SGO, Roth A. Serum IgE levels in healthy children quantified by a sandwich technique (PRIST). Clin All 1976;6:51-59.
- 9 Ringel KP, Dati F, Buchholz E. IgE-Normalwerte bei Kindern. Laboratoriumsblätter 1982;32:26-34.
- 10 Dati F, Ringel KP. Reference values for serum IgE in healthy non-atopic children and adults. Clin Chem 1982;28(7):1556.
- 11 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Per ulteriori informazioni, consultare il manuale d'uso appropriato per il relativo analizzatore, i rispettivi fogli di applicazione, la Product Information e le metodiche di tutti i componenti necessari (se disponibili nel vostro paese).

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere dialog. Roche.com):

	Contenuto della confezione
	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
	Reattivo
	Calibratore
	Volume dopo ricostituzione o mescolamento
	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2020, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.Roche.com

