

Critères de performance pour la vérification des méthodes de dosages des IgE et de la tryptase : recommandations du réseau AllergoBioNet

Performance criteria for the verification of IgE and tryptase assay methods: recommendations from the AllergoBioNet network

Anne Sarrat¹
Rémy Couderc²
Marie-Alexandra Alyanikian³
Pol-André Apoil⁴
Céline Beauvillain⁵
Lionel Chollet⁶
Pascale Chrétien⁷
Arnaud Cirée⁸
Benoît Cypriani⁹
Erwan Dumontet¹⁰
Bertrand Evrard¹¹
Lorna Garnier¹²
Angélique Grenier¹³
Valérie Guérin¹⁴
Caroline Hémond¹⁵
Anthony Léon¹⁶
Delphine Mariotte¹⁷
Pascale Nicaise-Roland¹⁸
Martine Pernollet¹⁹
Stéphanie Rogeau²⁰
Thierry Tabary²¹
Béatrice Uring-Lambert²²
Mylène Vivinus²³
Joana Vitte²⁴

¹ Laboratoire d'immunologie et immunogénétique, CHU Bordeaux, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France

² Département d'immunologie, Unité d'allergologie biologique, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France

³ Laboratoire d'immunologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France

⁴ Institut fédératif de biologie, Hôpital Purpan, CHU Toulouse, Toulouse, France

⁵ Laboratoire d'immunologie, CHU Angers, France

Article reçu le 05 novembre 2019, accepté le 31 mars 2020

Correspondance : R. Couderc
<couderc.remy@orange.fr>

Résumé. La vérification d'une méthode de dosage selon la norme NF/EN/ISO 15189 requiert l'analyse des performances de la technique (répétabilité, fidélité intermédiaire, exactitude et incertitude de mesure) avant toute utilisation en routine et lors de la revue annuelle des contrôles de qualité. Les coefficients de variation (CV) des résultats de précision intra-essai et inter-essais obtenus doivent être comparés à ceux des pairs et à ceux qui pratiquent ces mêmes dosages quelle que soit la technique. En l'absence de publication nationale ou internationale des limites acceptables des critères de performance pour les IgE spécifiques et la tryptase, le réseau de biologistes hospitaliers AllergoBioNet (ABN) a analysé les résultats fournis par 24 centres pour proposer des recommandations pour le dosage des IgE totales et spécifiques et de la tryptase.

Mots clés : allergie, IgE totales, IgE spécifiques, tryptase, contrôles de qualité

Abstract. Accreditation of an in vitro diagnostic assay according to the NF/EN/ISO 15189 standard requires to analyze its technical performance before implementation for routine use, and annually when reviewing effectiveness of quality controls. Performance is evaluated through repeatability, intermediate fidelity, accuracy and uncertainty of measurement. The coefficients of variation (CV) of the intra-assay and inter-assay precision tests must be compared with those of "peers" (results from laboratories employing the same method) and also with those obtained with "all methods", i.e., results from all laboratories performing the same assay, irrespective of the method. To our best knowledge, there is currently no French or international recommendation on what the acceptable limits of performance for specific IgE and tryptase assays should be. Therefore, the AllergoBioNet network of hospital allergy laboratories set out to characterize the performance of their current methods as a basis for the development of recommendations. The results provided by 24 centers were analyzed and led to consensus recommendations for specific IgE, total IgE and tryptase assays.

Key words: allergy, total IgE, specific IgE antibodies, tryptase, quality control

⁶ LBM CHI Toulon La Seyne-sur-Mer, Toulon, France

⁷ Département d'immunologie, AP-HP, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre, France

⁸ Laboratoire d'immunologie, CHRU Tours, Tours, France

⁹ Laboratoire de biochimie, CHRU Besançon, Besançon, France

¹⁰ Pôle de biologie, CHU Rennes, France

¹¹ Service d'immunologie, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

¹² Laboratoire d'immunologie, Hospices civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud, Pierre-Bénite, France

¹³ Laboratoire de biologie médicale, Hôpital Robert Ballanger, CHI Aulnay, France

¹⁴ Laboratoire d'immunologie, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France

¹⁵ Laboratoire d'immunologie, CHU Nantes, Nantes, France

¹⁶ Laboratoire de biologie médicale, CH Emile Durkheim, Epinal, France

¹⁷ Département d'immunologie et immunopathologie, CHU Caen, Caen, France

¹⁸ Laboratoire d'immunologie, « Autoimmunité et Hypersensibilités », Hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris, France

¹⁹ Institut de biologie et de pathologie, Laboratoire d'immunologie, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

²⁰ CHRU de Lille, Institut d'immunologie-HLA, Lille, France

²¹ Laboratoire d'immunologie, CHU Reims, Reims, France

²² Département d'Immunobiologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

²³ Laboratoire d'Immunologie, Hôpital de l'Archet, CHU Nice, France

²⁴ Aix Marseille Univ, IRD, APHM, MEPHI, IHU Méditerranée Infection, Marseille, France

L'exploration biologique de l'allergie fait principalement appel, en pratique courante, aux dosages des IgE spécifiques d'allergène, de la tryptase et, dans certaines conditions, des IgE totales.

Les exigences de l'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon la norme NF/EN/ISO 15189 impliquent la validation ou la vérification préalable de toute méthode avant utilisation [1]. Les procédures de validation ou de vérification doivent préciser les normes d'acceptabilité des performances analytiques de la méthode concernée [2].

A ce jour, pour l'exploration biologique de l'allergie, les recommandations nationales et internationales des normes d'acceptabilité des tests de performance analytiques issus notamment des différents contrôles (contrôles de qualité interne (CQI), évaluation externe de la qualité (EEQ) sont peu nombreuses et limitées au dosage des IgE totales [3-9]. Le réseau des biologistes hospitaliers AllergoBioNet propose ici des recommandations basées sur la pratique quotidienne des différents centres participants et de l'analyse de la littérature pour les paramètres IgE totales, IgE spécifiques d'allergène et tryptase. Les recommandations AllergoBioNet portent sur (i) le nombre et les niveaux de concentration des contrôles, (ii) les performances de répétabilité et de fidélité intermédiaire exprimées en valeurs limites acceptables du coefficient de variation (CV), (iii) l'exactitude exprimée par le biais et l'incertitude de mesure (IM). Elles sont complétées par une synthèse de la maîtrise des risques à partir des points critiques propres aux IgE spécifiques d'allergènes.

Matériel et méthode

Participants

Vingt-quatre laboratoires hospitaliers ont participé à l'étude. La technique de dosage utilisée pour les trois paramètres est la technique d'immuno-enzymofluorescence FEIA de Thermo Fisher Scientific, à l'exception de deux laboratoires effectuant le dosage des IgE totales par la technique de chimiluminescence Cobas de Roche.

Contrôles de qualité interne

Les CQI proviennent du fournisseur et/ou de pools de sérum. En particulier pour la tryptase le fournisseur propose un seul niveau de contrôle.

Les études de répétabilité ont été réalisées sur des échantillons de patients, en accord avec les recommandations du Comité français d'accréditation (Cofrac) [10, 11].

Evaluation externe de la qualité

Les programmes d'EEQ sont fournis selon l'analyte par les sociétés suivantes : UK NEQAS (United Kingdom

National External Quality Assessment Services), ThermoFisher Scientific, (Uppsala, Sweden), ProBioQual (Association pour la promotion du contrôle de qualité en biologie médicale) et CTCB (Centre toulousain pour le contrôle de qualité en biologie).

Collecte des données

Les données sont issues des dossiers de vérification de méthode SH-FORM 43 établis selon le guide SH-GTA 04 du Cofrac par chaque laboratoire participant [10]. Elles correspondent aux résultats des études de répétabilité, de fidélité intermédiaire, d'exactitude et d'incertitude de mesure (IM).

Analyse des données et définition des normes d'acceptabilité

Ce travail s'est déroulé en trois étapes :

- étape 1 : trois niveaux de concentration correspondant à « faible », « intermédiaire » et « fort » dans l'intervalle de mesure de la méthode ont été définis pour chaque analyte. Les données de chaque centre participant ont été classées selon les niveaux ainsi définis ;
- étape 2 : par analyte et par niveau, l'étude a été effectuée sur (i) les CV des essais de répétabilité et de fidélité intermédiaire de chaque centre et (ii) les résultats individuels des EEQ de chaque centre. Les performances des centres en termes de répétabilité, fidélité intermédiaire, biais et IM ont ainsi été établies et comparées pour chaque analyte et chaque niveau de concentration ;
- étape 3 : Les performances des centres participants ont été comparées à la littérature existante, notamment aux éventuelles recommandations et aux données chiffrant la pertinence clinique des variations de mesure d'un analyte. Au terme de ces trois étapes, les recommandations Allergo-BioNet pour les normes d'acceptabilité ont été formulées de manière consensuelle.

Résultats

Dosage des IgE totales

Selon la Nomenclature des actes de biologie médicale, le dosage des IgE totales est utile pour des cas de polysensibilisation, urticaire chronique, dermatite atopique, aspergillose broncho-pulmonaire, parasitose, déficit immunitaire. De plus, il doit précéder l'instauration d'une biothérapie par anticorps monoclonal anti-IgE dans l'asthme persistant sévère. Les résultats de tous les dosages d'IgE totales, calibrés sur le standard international WHO 11/234, sont exprimés en kUI/L, 1 UI = 2,4 ng. Les valeurs usuelles des IgE totales circulantes varient en fonction de l'âge et de

la population [12-16]. Les valeurs de référence sont inférieures à 100 kUI/L à partir de l'âge de 6 ans en population européenne [12].

Répétabilité du dosage des IgE totales

Les résultats des études de répétabilité des dosages d'IgE totales exprimés en CV ont été groupés par niveau de concentration. Le CV moyen a été calculé pour chaque niveau. Les CV obtenus par les laboratoires varient de 0,90 % à 7,50 % quel que soit le niveau (*tableau 1*).

Les valeurs limites acceptables des CV de répétabilité du dosage d'IgE totales sont comprises entre 3 et 15 % selon les sources nationales et internationales déjà publiées (*tableau 2*).

L'analyse des données collectées confrontée à la bibliographie montre la bonne concordance des résultats obtenus avec les limites acceptables de CV publiées. En conséquence, le réseau AllergoBioNet recommande une limite d'acceptabilité du CV de 10 % pour la répétabilité du dosage des IgE totales quel que soit le niveau de concentration de l'analyte (*tableau 3*).

Fidélité intermédiaire du dosage des IgE totales

Les résultats des études de fidélité intermédiaire des dosages d'IgE totales exprimés en CV ont été groupés par niveau de concentration. Le CV moyen a été calculé pour chaque niveau. Les CV obtenus par les laboratoires varient de 2,10 % à 14,90 % quel que soit le niveau (*tableau 4*).

Les valeurs limites acceptables des CV de fidélité intermédiaire sont comprises entre 4 et 20 % selon les sources nationales et internationales déjà publiées (*tableau 5*).

L'analyse des données collectées confrontée à la bibliographie montre la bonne concordance des résultats obtenus avec les limites acceptables de CV publiées. En conséquence, le réseau AllergoBioNet recommande une limite d'acceptabilité du CV de 15 % pour la fidélité intermédiaire des IgE totales quel que soit le niveau de concentration de l'analyte (*tableau 6*).

Exactitude du dosage des IgE totales

L'exactitude d'un dosage est calculée à partir des résultats des EEQ. Les programmes d'EEQ des participants sont souscrits auprès de UK-NEQAS, ProBioQual, ThermoFisher et CTCB. Chaque centre a fourni les valeurs des échantillons d'EEQ, ainsi que la valeur cible du groupe de pairs utilisant la même technique et celle du groupe incluant toutes les techniques. Les résultats ont été groupés par niveaux de concentration. Les biais ont été calculés avec la formule $\{[(\text{résultat laboratoire}) - (\text{résultat cible})]/(\text{résultat cible})\} * 100$ (*tableau 7*).

Les valeurs limites acceptables des biais sont comprises entre 10 et 20 % selon les sources nationales et internationales déjà publiées (*tableau 8*).

Tableau 1. Répétabilité du dosage d'IgE totales.

Répétabilité		Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut
Nombre d'études de répétabilité		22	23	20
Niveau de concentration d'IgE totales (kUI/L)		< 100	100 - 400	> 400
Moyennes des valeurs d'IgE totales (kUI/L)	min	13	103	430
	max	89	391	1750
CV (%)	min	0,90	1,20	0,88
	max	4,01	5,66	7,50
	moyen	2,47	2,64	3,25
	médian	2,35	2,11	2,85

Chaque centre a fourni les moyennes des valeurs des dosages d'IgE totales et les CV obtenus pour chacune des études de répétabilité. Les valeurs des moyennes ont été groupées par niveau. La moyenne et la médiane des CV correspondants ont été calculées.

Tableau 2. Valeurs limites des CV dans les études de répétabilité du dosage des IgE totales selon les sources nationales et internationales publiées.

Répétabilité	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration (kUI/L)	CV (%)	Concentration (kUI/L)	CV(%)	Concentration (kUI/L)	CV(%)
Thermo Fisher	15-60	3	75-430	3	600-1840	3
SFBC 1999	20	9	200	6	500	6
CLSI 2009	1-10	10	50-100	10	1000-2000	10
CLSI 2016	1-10	15	50-100	15	250-1000	15

SFBC : Société française de biologie clinique ; CLSI : *Clinical and laboratory standard institute guidelines*.

Tableau 3. Recommandations du réseau AllergoBioNet pour les valeurs limites acceptables du CV dans les études de répétabilité selon le niveau de concentration des IgE totales.

Répétabilité	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration (kUI/L)	CV(%)	Concentration (kUI/L)	CV(%)	Concentration (kUI/L)	CV(%)
ABN 2018	< 100	10	100-400	10	> 400	10

Tableau 4. Fidélité intermédiaire du dosage d'IgE totales.

Fidélité intermédiaire		Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut
Nombre d'études de fidélité intermédiaire		27	17	19
Niveau de concentration d'IgE totales (kUI/L)		< 100	100 - 400	> 400
Moyennes des valeurs d'IgE totales (kUI/L)	min	16	103	409
	max	96	385	1 074
CV (%)	min	3,00	2,10	3,00
	max	14,90	9,03	9,16
	moyen	6,87	6,33	6,77
	médian	6,70	6,88	6,84

Chaque centre a fourni les moyennes des valeurs des dosages d'IgE totales et les CV obtenus pour chacune des études de fidélité intermédiaire. Les valeurs des moyennes ont été groupées par niveau. La moyenne et la médiane des CV correspondants ont été calculées.

L'analyse des données collectées confrontée à la bibliographie montre la bonne concordance des résultats obtenus avec les limites acceptables des biais publiées. On observe notamment une absence de différence significative entre les résultats des groupes de pairs et toutes techniques.

En conséquence, le réseau AllergoBioNet recommande un biais maximal en valeur absolue pour l'exactitude du dosage d'IgE totales de 20 % pour le niveau bas et de 15 % pour les niveaux de concentration moyen et haut (*tableau 9*).

Tableau 5. Valeurs limites des CV dans les études de fidélité intermédiaire du dosage des IgE totales selon les sources nationales et internationales publiées.

Fidélité intermédiaire	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration (kUI/L)	CV%	Concentration (kUI/L)	CV%	Concentration (kUI/L)	CV%
Thermo Fisher	15-60	5	75-430	4	600-1 840	7
SFBC 1999	20	12	200	8	500	8
CLSI 2009	< 10	20	50-100	15	1 000-2 000	15
CLSI 2016	< 10	20	50-100	20	250-1 000	20

Tableau 6. Recommandations du réseau AllergoBioNet pour les valeurs limites acceptables du CV des études de fidélité intermédiaire selon le niveau de concentration des IgE totales.

Fidélité intermédiaire	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration (kUI/L)	CV%	Concentration (kUI/L)	CV%	Concentration (kUI/L)	CV%
ABN 2018	< 100	15	100-400	15	> 400	15

Tableau 7. Analyse des EEQ pour le dosage d'IgE totales.

Exactitude	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut
Nombre de valeurs d'IgE totales	277	154	21
Niveau de concentration d'IgE totales (kUI/L)	<100	100-400	> 400
Moyenne des valeurs d'IgE totales (kUI/L)	47,36	225,44	416,57
Moyenne de la cible d'IgE totales groupe de pairs (kUI/L)	47,88	225,11	418,34
Moyenne de la cible d'IgE totales toutes techniques (kUI/L)	44,06	213,50	425,19
Biais du dosage d'IgE totales groupe de pairs (%)	min	-17,96	-15,29
	max	14,77	14,10
	moyen	-1,04	0,46
Biais du dosage d'IgE totales toutes techniques (%)	min	-19,92	-23,63
	max	11,55	9,62
	moyen	-3,60	-2,86

Chaque centre a fourni les valeurs de chaque échantillon, ainsi que la valeur cible du groupe de pairs et celle du groupe toutes techniques. Les biais ont été calculés avec la formule $\frac{[(\text{résultat laboratoire}) - (\text{résultat cible})]/(\text{résultat cible})}{100}$.

Tableau 8. Valeurs limites des biais dans le dosage d'IgE totales selon les sources nationales et internationales publiées.

Exactitude	Concentration d'IgE totales (kUI/L)	Biais (%)	Concentration d'IgE totales (kUI/L)	Biais (%)	Concentration d'IgE totales (kUI/L)	Biais (%)
Afssaps 2010	23	20	135	15	ND	ND
SFBC 1999	20	15	200	10	500	10
CLSI 2009	< 10	20	50-100	15	1 000-2 000	15
CLSI 2016	< 10	20	50-100	20	250-1 000	20
UK-NEQAS		11		11		11

Afssaps : Agence française de sécurité sanitaire et des produits de santé ; ND : non défini.

Estimation de l'incertitude de mesure élargie pour le dosage d'IgE totales (CQI et EEQ)

Outil d'aide à la décision et à l'interprétation permettant d'appréhender le risque par rapport à un seuil décisionnel, l'incertitude de mesure a été calculée selon la méthode

CQI/EEQ conformément au référentiel SH-GTA 14 du Cofrac [17] (tableau 10).

Compte tenu de l'absence de recommandations antérieures, ainsi que de la mise en place progressive de CQI et EEQ appariés pour les différents intervalles de mesure, nous conseillons une IM maximale de 30 % pour les niveaux

Tableau 9. Recommandations du réseau AllergoBioNet pour les valeurs limites acceptables des biais selon le niveau de concentration des IgE totales.

Exactitude	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration (kUI/L)	Biais (%)	Concentration (kUI/L)	Biais (%)	Concentration (kUI/L)	Biais (%)
ABN 2018	< 100	20	100-400	15	> 400	15

Tableau 10. Incertitude de mesure du dosage d'IgE totales.

Incertitude de mesure (élargie k = 2)	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut
Nombre d'études d'incertitude de mesure	41	35	23
Niveau de concentration d'IgE totales (kUI/L)	< 100	100-400	> 400
Incertitude de mesure (%)	min	13	6,70
	max	50	45,75
	moyenne	22,70	16,84
	médiane	20,26	15,77

Chaque centre a fourni l'incertitude de mesure correspondant à un niveau de concentration donné.

d'IgE totales inférieurs à 100 kUI/L et de 20 % pour les niveaux moyen et haut.

Dosage des IgE spécifiques

Le dosage des IgE spécifiques d'un allergène sert à confirmer l'imputabilité de celui-ci dans une histoire clinique ou à suivre l'évolution d'une sensibilisation chez un patient donné. La concentration sérique en IgE spécifiques d'un allergène est statistiquement corrélée avec le risque de manifestations cliniques mais ne permet pas de prédire une allergie au niveau individuel [18-22]. En dehors d'une sensibilisation à un ou plusieurs allergènes, les IgE spécifiques sont indétectables dans le sang. Pour le suivi des patients la quantification est importante.

Les résultats des dosages d'IgE spécifiques sont exprimés en kilo unité d'allergène par litre (kU_A/L), unique pour tous les allergènes. La valeur d'intérêt clinique est définie par limite de quantification de 0,1 kU_A/L [19].

Particularités du dosage des IgE spécifiques

Si les dosages des IgE totales et de la tryptase ne comportent pas de particularité pour la vérification de méthode, il n'en est pas de même pour le dosage des IgE spécifiques d'allergènes.

Les IgE spécifiques diffèrent des autres paramètres dosés couramment en biologie médicale par leur diversité liée au nombre important d'allergènes contre lesquels elles sont dirigées. Un panel étendu d'allergènes (d'environ 100 à 600 allergènes) est proposé par les fournisseurs de réactifs. On constate que :

- il n'existe pas de standard (international ou non) pour chaque allergène ;
- il n'existe pas de CQI pour chaque allergène ;
- il n'existe pas d'EEQ pour chaque allergène.

Pour ces raisons, la vérification de méthode n'est pas réalisable pour chaque allergène. Le réseau AllergoBioNet a montré précédemment que pour le dosage des IgE spécifiques avec la méthode FEIA, l'analyte peut être défini comme étant l'IgE quelle que soit sa spécificité [23, 24]. Cette stratégie permet de se conformer aux exigences de la norme ISO EN NF 15189. Les principales lignes de cette stratégie sont rappelées ci-dessous.

Calibration du dosage des IgE spécifiques

La courbe de calibration en plusieurs points, commune à tous les allergènes, est étalonnée par rapport à une préparation internationale de référence de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour les IgE totales, permettant d'obtenir une concentration d'IgE spécifiques d'un allergène donné en kU_A/L [4].

Diversité des allergènes

Malgré leur diversité, les allergènes se comportent de manière identique lorsqu'ils sont fixés au même support de réaction [3]. Le réseau AllergoBioNet a vérifié et quantifié ce comportement identique dans la réaction de dosage par FEIA [24]. Les résultats de répétabilité, fidélité intermédiaire et réponse aux EEQ sont identiques pour 29 allergènes appartenant à toutes les catégories (alimentaires, aéroportés, médicaments, professionnels, mélanges allergéniques de dépistage, allergènes moléculaires) [24]. Ces travaux permettent de définir l'IgE spécifique en tant qu'analyte unique et ainsi de s'affranchir d'une vérification de méthode pour chacun des allergènes.

Dossier de vérification de la méthode

Compte-tenu de ce qui précède, il faut considérer que l'ensemble des IgE spécifiques correspond à un seul analyte, l'IgE spécifique. Les critères de performance obtenus

Tableau 11. Répétabilité du dosage d'IgE spécifiques.

Répétabilité		Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut
Nombre d'études de répétabilité		24	17	19
Niveaux de concentration d'IgE spécifiques (kU _A /L)		< 5	5 – 10	> 10
Moyennes des valeurs d'IgE spécifiques (kU _A /L)	min	0,54	5,52	11,50
	max	3,98	10,96	90,92
CV (%)	min	0,24	1,09	1,56
	max	12,23	8,60	10,43
	moyen	3,64	3,97	4,03
	médian	3,05	3,60	3,50

Chaque centre a fourni les moyennes des valeurs des dosages d'IgE spécifiques et les CV obtenus pour chacune des études de répétabilité. Les valeurs des moyennes ont été groupées par niveau. La moyenne et la médiane des CV correspondants ont été calculées.

Tableau 12. Valeurs limites des CV dans les études de répétabilité du dosage des IgE spécifiques selon les sources nationales et internationales publiées.

Répétabilité	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration (kU _A /L)	CV%	Concentration (kU _A /L)	CV%	Concentration (kU _A /L)	CV%
Thermo Fisher	0,35-1,5	4	1,5-50	5	50-100	5
CLSI 2009	Bas	10	Moyen	10	Haut	10

Tableau 13. Recommandations du réseau AllergoBioNet pour les valeurs limites acceptables du CV dans des études de répétabilité des IgE spécifiques selon le niveau de concentration des IgE spécifiques.

Répétabilité	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration (kU _A /L)	CV%	Concentration (kU _A /L)	CV%	Concentration (kU _A /L)	CV%
ABN 2018	< 5	10	5-10	10	> 10	10

pour des allergènes représentatifs de l'activité du laboratoire et des niveaux de concentration judicieusement choisis, dans un nombre défini d'échantillons, sont extrapolables à l'ensemble des allergènes. Un seul dossier de vérification de la méthode de dosage des IgE spécifiques est donc suffisant en utilisant pour l'évaluation de la performance un panel d'allergènes de différentes origines.

Choix des allergènes représentatifs de l'activité pour la fidélité : mélanges d'extraits allergéniques, extraits allergéniques, allergènes moléculaires, substances non protéiques (médicaments, glucides).

Choix des niveaux de concentration : plusieurs niveaux dans la gamme de mesure de 0,1 kU_A/L à 100 kU_A/L dont un proche de la limite de quantification de 0,1 kU_A/L.

Nombre d'échantillons : l'effectif idéal recommandé est de 30 dosages par allergène pour permettre une analyse statistique optimale.

Répétabilité du dosage des IgE spécifiques

Les résultats des études de répétabilité du dosage d'IgE spécifiques exprimés en CV ont été groupés par niveau de concentration. Le CV moyen a été calculé pour

chaque niveau. Les CV obtenus par les laboratoires varient de 0,24 % à 12,23 % quel que soit le niveau (*tableau 11*). Les valeurs limites acceptables des CV de répétabilité des IgE spécifiques sont comprises entre 4 et 15 % selon les sources nationales et internationales déjà publiées (*tableau 12*).

L'analyse des données collectées confrontée à la bibliographie montre la bonne concordance des résultats obtenus avec les limites acceptables de CV publiées. En conséquence, le réseau AllergoBioNet recommande une limite d'acceptabilité du CV de 10 % pour la répétabilité du dosage des IgE spécifiques quel que soit le niveau (*tableau 13*).

Fidélité intermédiaire du dosage des IgE spécifiques

Les résultats des études de fidélité intermédiaire des dosages d'IgE spécifiques exprimés en CV ont été groupés par niveau de concentration. Le CV moyen a été calculé pour chaque niveau. Les CV obtenus par les laboratoires varient de 3,00 % à 13,10 % quel que soit le niveau (*tableau 14*).

Les valeurs limites acceptables des CV de fidélité intermédiaire des IgE spécifiques sont comprises entre 4 et 20 %

Tableau 14. Fidélité intermédiaire du dosage d'IgE spécifiques.

Fidélité intermédiaire		Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut
Nombre d'études de fidélité intermédiaire		26	23	21
Niveaux de concentration d'IgE spécifiques (kU _A /L)		< 5	5 – 10	> 10
Moyennes des valeurs d'IgE spécifiques (kU _A /L)	min	0,50	4,35	14,13
	max	4,09	10,96	32,52
CV (%)	min	3,00	4,15	3,89
	max	10,60	11,50	13,10
	moyen	7,04	7,65	7,92
	médian	6,79	7,53	7,70

Chaque centre a fourni les moyennes des valeurs des dosages d'IgE spécifiques et les CV obtenus pour chacune des études de fidélité intermédiaire. Les valeurs des moyennes ont été groupées par niveau. La moyenne et la médiane des CV correspondants ont été calculées.

Tableau 15. Valeurs limites des CV dans les études de fidélité intermédiaire du dosage des IgE spécifiques selon les sources nationales et internationales publiées.

Fidélité intermédiaire	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration (kU _A /L)	CV%	Concentration (kU _A /L)	CV%	Concentration (kU _A /L)	CV%
Thermo Fisher	0,35-1,5	4	1,5-50	5	50-100	9
CLSI 2009	Bas	20	Moyen	15	Haut	15

selon les sources nationales et internationales déjà publiées (*tableau 15*).

L'analyse des données collectées confrontée à la bibliographie montre la bonne concordance des résultats obtenus avec les limites acceptables de CV publiées. En conséquence, le réseau AllergoBioNet recommande une limite d'acceptabilité du CV de 15 % pour la fidélité intermédiaire pour des valeurs d'IgE spécifiques d'une concentration inférieure à 100 kU_A/L (*tableau 16*).

Exactitude du dosage des IgE spécifiques

L'exactitude d'un dosage est calculée à partir des résultats des EEQ. Les programmes d'EEQ des participants sont souscrits auprès de UK-NEQAS et Thermo Fisher. Chaque centre a fourni les valeurs des échantillons d'EEQ, ainsi que la valeur cible du groupe de pairs utilisant la même technique FEIA. Les résultats ont été groupés par niveaux de concentration. Les biais ont été calculés avec la formule $\{[(\text{résultat laboratoire}) - (\text{résultat cible})]/(\text{résultat cible})\} * 100$ (*tableau 17*).

Les seules valeurs disponibles pour le biais du dosage des IgE spécifiques sont celles fournies par les systèmes des EEQ mais aucune recommandation n'a été formulée à ce jour (*tableau 18*).

L'analyse des données collectées confrontée à la bibliographie montre des valeurs du CV plus élevées dans la pratique des laboratoires que dans les recommandations du fournisseur d'EEQ UK NEQAS. Cette différence a été analysée et la cause identifiée est l'absence de CQI adapté à chaque niveau d'EEQ. Il est donc conseillé aux laboratoires

d'utiliser des CQI maison couvrant l'intervalle de mesure. En conséquence, la recommandation du réseau AllergoBioNet est d'atteindre un biais inférieur ou égal à 15 %, mais de conserver comme limite acceptable le biais de 30 % pour les valeurs inférieures à 5 kU_A/L et de 25 % pour des valeurs de 5 à 100 kU_A/L (*tableau 19*).

Estimation de l'incertitude de mesure élargie pour le dosage des IgE spécifiques (CQI et EEQ)

Outil d'aide à la décision et à l'interprétation permettant d'appréhender le risque par rapport à un seuil décisionnel, l'incertitude de mesure a été calculée selon la méthode CQI/EEQ conformément au référentiel SH-GTA 14 du Cofrac [17] (*tableau 20*).

Compte tenu de l'absence de recommandations antérieures, ainsi que de la mise en place progressive de CQI et EEQ appariés pour les différents intervalles de mesure, nous conseillons une IM maximale de 30% pour le dosage des IgE spécifiques quel qu'en soit le niveau.

Dosage de la tryptase

Le dosage de la tryptase est utilisé pour le diagnostic de l'anaphylaxie, l'exploration de certaines hypersensibilités immédiates, des désordres mastocytaires et de certaines pathologies hématologiques [25]. Les résultats du dosage de la tryptase sont exprimés en µg/L. La seule méthode de dosage actuellement disponible est la méthode FEIA. L'intervalle de mesure est de 1 à 200 µg/L. Les valeurs usuelles sont inférieures à 11,5 µg/L, avec 90% des sujets présentant une tryptasémie inférieure à 8 µg/L [26]. Une

Tableau 16. Recommandations du réseau AllergoBioNet pour les valeurs limites acceptables du CV des études de fidélité intermédiaire du dosage des IgE spécifiques selon le niveau de concentration des IgE spécifiques.

Fidélité intermédiaire	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration (kU _A /L)	CV%	Concentration (kU _A /L)	CV%	Concentration (kU _A /L)	CV%
ABN 2018	< 5	15	5 - 10	15	> 10	15

Tableau 17. Analyse des EEQ pour le dosage des IgE spécifiques.

Exactitude	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut	
Nombre de valeurs d'IgE spécifiques	470	273	282	
Niveaux de concentration d'IgE spécifiques (kU _A /L)	< 5	5-10	> 10	
Moyenne des valeurs d'IgE spécifiques (kU _A /L)	2,35	7,38	21,42	
Moyenne groupe de pairs (kU _A /L)	2,36	7,43	21,43	
Biais groupe de pairs (%)	min	-28,19	-23,71	-22,27
	max	26,25	24,20	25,50
	moyen	-0,41	-0,89	-0,41

Chaque centre a fourni les valeurs de chaque échantillon, ainsi que la valeur cible du groupe de pairs. Les biais ont été calculés avec la formule $\{[(\text{résultat laboratoire}) - (\text{résultat cible})]/(\text{résultat cible})\} * 100$.

Tableau 18. Valeur du CV retenu pour le dosage des IgE spécifiques selon UK-NEQAS.

Exactitude	Concentration d'IgE spécifiques (kU _A /L)	CV (%)	Concentration d'IgE spécifiques (kU _A /L)	CV (%)	Concentration d'IgE spécifiques (kU _A /L)	CV (%)
UK-NEQAS	< 5	15	5 -10	15	> 10	15

Tableau 19. Recommandations du réseau AllergoBioNet pour les limites acceptables des biais selon le niveau de concentration des IgE spécifiques.

Exactitude	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration (kU _A /L)	Biais %	Concentration (kU _A /L)	Biais %	Concentration (kU _A /L)	Biais %
ABN 2018	< 5	30	5-10	25	> 10-100	25

Tableau 20. Incertitude de mesure du dosage d'IgE spécifiques.

Incertainde de mesure	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut	
Nombre d'études d'incertitude de mesure	52	40	37	
Niveau de concentration d'IgE spécifiques (kU _A /L)	< 5	5 -10	> 10	
Incertainde de mesure (%)	min	7,0	6,75	13,10
	max	43	42,43	36
	moyenne	22,39	23,88	24,15
	médiane	21,0	23,83	23,94

Chaque centre a fourni l'incertitude de mesure correspondant à un niveau de concentration donné.

tryptasémie supérieure à 5 µg/L est un facteur de risque d'anaphylaxie en cas d'allergie aux venins d'hyménoptères [27] et potentiellement pour d'autres types de réactions allergiques [28]. Il est important de disposer d'un test avec de très bonnes performances, car de minimes variations du dosage de la tryptase ont une importance clinique lors du

diagnostic d'une anaphylaxie [29]. En effet, pour le diagnostic d'une anaphylaxie, le consensus international actuel considère une élévation transitoire de la tryptase de $[(1,2x \text{ valeur basale}) + 2] \mu\text{g/L}$ comme indicative d'une dégranulation mastocytaire [30, 31]. Le nombre de valeurs de tryptase collectées pour cette étude est inférieur à celui des

Tableau 21. Répétabilité du dosage de la tryptase.

Répétabilité		Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut
Nombre d'études de répétabilité		11	15	14
Niveau de concentration de tryptase (µg/L)		< 8	8 - 20	> 20
Moyennes des valeurs de tryptase (µg/L)	min	1,4	8,42	20,50
	max	7,77	17,54	149,8
CV (%)	min	0,42	0,77	1,11
	max	3,30	4,37	4,20
	moyen	2,11	2,10	2,67
	médian	2,12	1,90	2,64

Chaque centre a fourni les moyennes des valeurs des dosages de tryptase et les CV obtenus pour chacune des études de répétabilité. Les valeurs des moyennes ont été groupées par niveau. La moyenne et la médiane des CV correspondants ont été calculées.

Tableau 22. Valeurs limites des CV dans les études de répétabilité du dosage de la tryptase selon les sources nationales et internationales publiées.

Répétabilité	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration µg/L	CV%	Concentration µg/L	CV%	Concentration µg/L	CV%
ThermoFisher	1-20	3	20-100	3	100-200	4
Carlsson (32)	5-20	2,7	20-100	2,7	100-200	2,3

IgE totales ou spécifiques car le dosage n'est pas effectué par tous les laboratoires participants.

Répétabilité du dosage de la tryptase

Les résultats des études de répétabilité du dosage de tryptase ont été groupés par niveau de concentration. Le CV moyen a été calculé pour chaque niveau. Les CV obtenus par les laboratoires varient de 0,42 % à 4,37 % quel que soit le niveau (tableau 21).

Les valeurs limites des CV sont comprises entre 2,7 et 4 % selon les sources nationales et internationales déjà publiées (tableau 22).

L'analyse des données collectées confrontée à la bibliographie montre la bonne concordance des résultats obtenus avec les limites acceptables de CV publiées. En conséquence, le réseau AllergoBioNet recommande une limite d'acceptabilité du CV de 5 % pour la répétabilité quel que soit le niveau (tableau 23).

Fidélité intermédiaire du dosage de la tryptase

Les résultats des études de fidélité intermédiaire des dosages de tryptase, exprimés en CV, ont été groupés par niveau de concentration. Le CV moyen a été calculé pour chaque niveau. Les CV obtenus par les laboratoires varient de 2,80 % à 13 % quel que soit le niveau (tableau 24). Une valeur a toutefois été rejetée car trop élevée (23%).

Les valeurs limites acceptables des CV de fidélité intermédiaire sont comprises entre 3,9 et 7 % selon les sources nationales et internationales déjà publiées (tableau 25).

L'analyse des données collectées confrontée à la bibliographie montre la bonne concordance des résultats obtenus avec les limites acceptables de CV publiées. En conséquence, le réseau AllergoBioNet recommande une limite d'acceptabilité du CV de 10 % pour la fidélité intermédiaire du dosage de la tryptase (tableau 26).

Exactitude du dosage de la tryptase

L'exactitude d'un dosage est calculée à partir des résultats des EEQ. Les programmes d'EEQ des participants sont souscrits auprès de UK-NEQAS. Chaque centre a fourni les valeurs des échantillons d'EEQ, ainsi que la valeur cible du groupe de pairs utilisant la même technique FEIA. Les résultats ont été groupés par niveau de concentration. Les biais ont été calculés avec la formule $\{[(\text{résultat laboratoire}) - (\text{résultat cible})]/(\text{résultat cible})\} * 100$ (tableau 27).

Il n'y a pas actuellement de valeurs limites acceptables de biais publiées pour le dosage de la tryptase hormis les recommandations du fournisseur d'EEQ UK-NEQAS (tableau 28).

L'analyse des données collectées confrontée à la bibliographie montre des valeurs du CV plus élevées dans la pratique des laboratoires que dans les recommandations du fournisseur d'EEQ UK NEQAS. Cette différence a été analysée et la cause identifiée est l'absence de CQI adapté à chaque niveau d'EEQ. Il est donc conseillé aux laboratoires d'utiliser des CQI maison couvrant l'intervalle de mesure. L'analyse des données collectées a permis au réseau AllergoBioNet de formuler des recommandations dans ce domaine. La valeur limite acceptable pour le biais

Tableau 23. Recommandations du réseau AllergoBioNet pour les valeurs limites acceptables du CV dans des études de répétabilité de la tryptase selon le niveau de concentration.

Répétabilité	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration µg/L	CV%	Concentration µg/L	CV%	Concentration µg/L	CV%
ABN 2018	< 8	5	8 - 20	5	> 20	5

Tableau 24. Fidélité intermédiaire du dosage de tryptase.

Fidélité intermédiaire		Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut
Nombre d'études de fidélité intermédiaire		9	16	12
Niveaux de concentration de la tryptase (µg/L)		< 8	8 - 20	>20
Moyennes des valeurs de la tryptase(µg/L)	min	2,84	8,30	23,60
	max	7,57	20,0	103,75
CV (%)	min	2,80	2,98	4,28
	max	13,0	12,90	10 ,0
	moyen	6,69	6,63	6,36
	médian	5,70	6,15	5,96

Chaque centre a fourni les moyennes des valeurs des dosages de tryptase et les CV obtenus pour chacune des études de fidélité intermédiaire. Les valeurs des moyennes ont été groupées par niveau. La moyenne et la médiane des CV correspondants ont été calculées.

Tableau 25. Valeurs limites des CV dans les études de fidélité intermédiaire du dosage de tryptase selon les sources nationales et internationales publiées.

Fidélité intermédiaire	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration µg/L	CV%	Concentration µg/L	CV%	Concentration µg/L	CV%
ThermoFisher	1-20	5	20-100	6	100-200	7
Carlsson [32]	5-20	3,9	20-100	5,2	100-200	5,9

Tableau 26. Recommandations du réseau AllergoBioNet pour les valeurs limites acceptables du CV des études de fidélité intermédiaire du dosage de tryptase selon le niveau de concentration.

Fidélité intermédiaire	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration (µg/L)	CV%	Concentration (µg/L)	CV%	Concentration (µg/L)	CV%
ABN 2018	< 8	10	8- 20	10	> 20	10

Tableau 27. Analyse des EEQ pour le dosage de la tryptase.

Exactitude		Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut
Nombre de valeurs		28	74	267
Niveaux de concentration (µg/L)		< 8	8 - 20	> 20
Moyenne des valeurs (µg/L)		2,83	18,12	36,30
Moyenne groupe de pairs (µg/L)		2,92	18,55	36,91
Biais groupe de pairs (%)	min	-24,16	-16,85	-16,86
	max	12,75	17,68	21,44
	moyen	-2,76	-2,22	-1,14

Chaque centre a fourni les valeurs de chaque échantillon, ainsi que la valeur cible du groupe de pairs. Les biais ont été calculés avec la formule $\{[(\text{résultat laboratoire}) - (\text{résultat cible})]/(\text{résultat cible})\} * 100$.

Tableau 28. Valeur du CV retenu pour le dosage de la tryptase selon UK-NEQAS.

Exactitude	Concentration µg/L	CV%	Concentration µg/L	CV%	Concentration µg/L	CV%
UK-NEQAS	< 8	8	8 - 20	8	> 20	8

Tableau 29. Recommandations du réseau AllergoBioNet pour les valeurs limites acceptables des biais selon le niveau de concentration de tryptase.

Exactitude	Niveau bas		Niveau moyen		Niveau haut	
	Concentration µg/L	Biais %	Concentration µg/L	Biais %	Concentration µg/L	Biais %
ABN 2018	< 5	20	5-10	20	11-100	20

Tableau 30. Incertitude de mesure du dosage de tryptase.

Incertitude de mesure (élargie k = 2)	Niveau 1	Niveau 2
Nombre d'études d'incertitude de mesure	14	10
Niveau de concentration de tryptase (µg/L)	< 20	> 20
Incertitude de mesure (%)	min	13,0
	max	24,6
	moyenne	18,59
	médiane	17,6

Chaque centre a fourni l'incertitude de mesure correspondant à un niveau de concentration donné. La moyenne et la médiane des CV correspondants ont été calculées.

Tableau 31. Synthèse des recommandations du réseau AllergoBioNet pour les critères de performance des dosages d'IgE totales, d'IgE spécifiques et de tryptase.

	Critère	Niveau bas	Niveau moyen	Niveau haut
IgE totales	kUI/L	< 100	100 – 400	> 400
	Répétabilité (CV)	10	10	10
	Fidélité intermédiaire (CV)	15	15	15
	Exactitude (biais)	20	15	15
	IM	30	20	20
IgE spécifiques	kU _A /L	< 5	5 – 10	> 10
	Répétabilité (CV)	10	10	10
	Fidélité intermédiaire (CV)	15	15	15
	Exactitude (biais)	30	25	25
	IM	30	30	30
Tryptase	µg/L	< 8	8 – 20	> 20
	Répétabilité (CV)	5	5	5
	Fidélité intermédiaire (CV)	10	10	10
	Exactitude (biais)	20	20	20
	IM	25	25	25

est de 20 % quel que soit le niveau de concentration (*tableau 29*).

Estimation de l'incertitude de mesure élargie pour le dosage de la tryptase

Outil d'aide à la décision et à l'interprétation permettant d'appréhender le risque par rapport à un seuil décisionnel, l'incertitude de mesure a été calculée selon la méthode CQI/EEQ conformément au référentiel SH-GTA 14 du Cofrac [17]. Compte tenu des niveaux disponibles de CQI et d'EEQ, les recommandations sont regroupées en seulement deux niveaux de concentration (*tableau 30*).

Compte tenu de l'absence de recommandations antérieures, ainsi que de la mise en place progressive de CQI et EEQ appariés pour les différents intervalles de mesure, nous

conseillons une IM maximale de 25 % quel que soit le niveau de concentration.

Discussion

Le réseau AllergoBioNet a entrepris l'analyse des critères de performance usuels avec proposition de recommandations pour la pratique courante des dosages d'IgE et de tryptase dans les laboratoires de biologie médicale.

Les recommandations sont basées sur la collecte et l'analyse des données ABN et de publications. La synthèse est présentée dans le *tableau 31*.

Du fait d'un nombre très important d'allergènes, ces recommandations pour la vérification de méthode du dosage des

IgE spécifiques doivent être complétées par une analyse de maîtrise des risques identifiés et restreints à cet analyte.

Le risque majeur, en l'absence de CQI pour chacun des allergènes testés au cours d'une série, est un défaut éventuel de détection des IgE spécifiques d'un allergène en raison de l'altération du réactif. Il y a donc lieu d'être particulièrement vigilant aux critères de libération des lots par le fournisseur, aux conditions de conservation des réactifs, aux choix des contrôles de qualité.

Actions possibles pour maîtriser le risque lié à la conservation des réactifs : vérification du bon acheminement et du stockage des réactifs (traçabilité exhaustive, test d'un autre réactif de la même livraison et sensible aux conditions d'acheminement, évaluation de la robustesse des réactifs à l'aide des fiches de stress).

Actions possibles pour maîtriser le risque lié à la disponibilité restreinte des contrôles de qualité : choix pertinent des CQI (niveaux permettant de couvrir la gamme de mesure de la technique, utilisation de différents allergènes en fonction de leur fréquence d'utilisation locale et de leur nature, extraits allergéniques individuels ou mélanges de dépistage, allergènes moléculaires natifs ou recombinants, protéines ou médicaments, glycosylés ou non, avec recours si nécessaire à des pools de sérum) et définition d'une stratégie de passage optimale de ces contrôles pour l'encadrement des séries.

Choix pertinent des EEQ : l'offre est limitée ce qui ajoute à la difficulté de calcul des IM. L'organisation d'échanges inter-laboratoire proposant des allergènes et des niveaux peu représentés dans les EEQ commercialisés peut être une réponse pertinente. Pour élargir le spectre des spécificités proposées par les fournisseurs d'EEQ, un programme d'échanges inter-laboratoires a été mis en place en septembre 2016 au sein du réseau AllergoBioNet (résultats non exploités pour cette étude).

L'évaluation des risques (occurrence, gravité, détectabilité...) ainsi que les actions à mettre en place pour les maîtriser sont réalisées de manière optimale par chaque laboratoire en fonction de son environnement.

Conclusion

Le réseau des biologistes hospitaliers AllergoBioNet propose ici des recommandations pour les limites acceptables des critères de performance pour le dosage sanguin des IgE totales, des IgE spécifiques et de la tryptase par méthode FEIA, après analyse des résultats issus de la pratique quotidienne de 24 centres et comparaison avec les données de la littérature. A notre connaissance, ces recommandations basées sur l'évaluation des pratiques sont les premières issues de l'activité des laboratoires français pour les volets

IgE totales et spécifiques et les premières au niveau international pour le dosage de la tryptase.

Les perspectives de ce travail comprennent la formalisation de procédures de travail et des axes d'amélioration. Sur le plan clinico-biologique, connaître et maîtriser les performances du processus analytique ouvre la voie à une évaluation plus précise de la signification clinique associée au résultat biologique.

Liens d'intérêts : J. Vitte : Interventions ponctuelles (Meda Pharma, Mylan, Thermo Fisher Scientific) ; Versements substantiels (Subvention Thermo Scientific). Les autres auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

Références

1. Norme européenne EN ISO15189. Laboratoires d'analyses de biologie médicale : exigences particulières concernant la qualité et la compétence. Paris, Afnor, 2007.
2. Vassault A, Grafmeyer D, De Graeve J, Cohen R, Beaudonnet A, Bienvenu J. Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. *Ann Biol Clin* 1999 ; 57 : 685-95.
3. Mattson PNJ, Hamilton RG, Esch RE, Halsey JF, Homburger HA, Kleine-Tebbe J *et al.* Analytical performance characteristics and clinical utility of immunological assays for human immunoglobulin E (IgE) antibodies and defined allergen specificities; approved guideline – second edition. I/LA-20-A2. ISBN 1-56238-695-0. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2009.
4. Hamilton RG, Mattson PNJ, Adkinson F, Chan S, Hovanec-Burns D, Kleine-Tebbe J *et al.* Analytical performance characteristics, quality assurance, clinical utility of immunological assays for human immunoglobulin E antibodies of defined allergens specificities. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) report I/LA20 3rd edition. ISBN 1-56238-948-3. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2016.
5. Kleine-Tebbe, Poulsen LK, Hamilton RG. Quality management in IgE-based allergy diagnostics. *J Lab Med* 2016 ; 40 : 81-96.
6. Koch L, Aberer W. Comparability and quality of IgE-based in vitro allergy diagnosis: 25 years of external quality assessment. *Wien Klin Wochenschr* 2014 ; 126 : 634-41.
7. Kinns H, Pitkin S, Housley D, Freedman DB. Internal quality control: best practice. *J Clin Pathol* 2013 ; 66 : 1027-32.
8. Goikoetxea MJ, Sanz ML, Garcia BE, Mayorga C, Longo N, Gamboa PN. Recommendations for the use of in vitro methods to detect specific immunoglobulin E: are they comparable? *J Investig Allergol Clin Immunol* 2013 ; 23 : 448-54.
9. Williams PB, Barnes JH, Szeinbach SL, Sullivan TJ. Analytical precision and accuracy of commercial immunoassays for specific IgE: Establishing a standard. *J Allergy Clin Immunol* 2000 ; 105 : 1221-30.
10. Cofrac Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) validation portée B des méthodes en biologie médicale. Document SH-GTA 04.

11. Cofrac. Guide technique d'accréditation : contrôle de qualité en biologie médicale. Document SH-GTA 06.
12. Johansson SG, Yman L. In vitro assays for Immunoglobulin E, Methodology, indications, and interpretation. *Clin Rev Allergy* 1988 ; 6 : 93-139.
13. Carosso A, Bugiani M, Migliore E, Antò JM, DeMarco R. Reference values of total serum IgE and their significance in the diagnosis of allergy in young European adults. *Int Arch Allergy Immunol* 2007 ; 142 : 230-8.
14. Wang J, Godbold JH, Sampson HA. Correlation of serum allergy (IgE) tests performed by different assay systems. *J Allergy Clin Immunol* 2008 ; 121 : 1219-24.
15. Martins TB, Bandhauer ME, Bunker AM, Roberts WL, Hill HR. New childhood and adult reference intervals for total IgE. *J Allergy Clin Immunol* 2014 ; 133 : 589-91.
16. Sacco C, Perna S, Vicari D, Alfò M, Bauer CP, Hoffman U, et al. Growth curves of "normal" serum total IgE levels throughout childhood: A quantile analysis in a birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol* 2017 ; 28 : 525-34.
17. Cofrac. Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des incertitudes de mesure en biologie médicale. Document SH-GTA 14.
18. Hamilton RG. Clinical laboratory assessment of immediate-type hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 2010 ; 125(Suppl. 2) : S284-96.
19. Hamilton RG, Oppenheimer J. Serological IgE analyses in the Diagnostic Algorithm for Allergic Diseases. *J Allergy Clin Immunol in Pract* 2016 ; 4 : 374.
20. Ciprandi G, Silvestri M. Serum Specific IgE: a biomarker of response to allergen immunotherapy. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2014 ; 24 : 35-9.
21. Olivieri M, Heinrich J, Schlünssen V, Anto JM, Forsberg B, Leynaert B, et al. The risk of respiratory symptoms on allergen exposure increases with increasing specific IgE levels. *Allergy* 2016 ; 71 : 859-68.
22. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, et al. EAACI molecular allergology user's guide. *Pediatr Allergy Immunol* 2016 ; 27 : 1-250.
23. Sarrat A, Brabant S, Charbonnier E, Alyanakian MA, Apoil PA, Bienvenu F, et al. For an efficient and reasonable accreditation of allergen specific IgE. Groupe de travail du Réseau des biologistes de l'allergie des centres hospitaliers AllergoBioNet. *Ann Biol Clin (Paris)* 2013 ; 71 : 325-32.
24. Lambert C, Sarrat A, Bienvenu F, Brabant S, Nicaise-Roland P, Alyanakian MA, et al. The importance of EN ISO 15189 accreditation of allergen-specific IgE determination for reliable in vitro allergy diagnosis. AllergoBioNet sIgE accreditation interest group. *Allergy* 2015 ; 70 : 180-6.
25. Brun M, Sarrat A, Vitte J. Exploration biologique des mastocytoses et des syndromes d'activation mastocytaire. *Rev Fr Allergologie* 2017 ; 57 : 567-76.
26. <http://www.phadia.com/en-GB/5/Products/ImmunoCAP-Assays/ImmunoCAP-Tryptase>.
27. Ruëff F, Przybilla B, Bilo MB, Müller U, Scheipl F, Aberer W, et al. Predictors of severe systemic anaphylactic reactions in patients with Hymenoptera venom allergy: importance of baseline serum tryptase—a study of the European academy of allergology and clinical immunology interest group on insect venom hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 2009 ; 124 : 1047-54.
28. Mirone C, Preziosi D, Mascheri A, Micarelli G, Farioli L, Balossi LG, et al. Identification of risk factors of severe hypersensitivity reactions in general anaesthesia. *Clin Mol Allergy* 2015 ; 13 : 11.
29. Vitte J, Amadei L, Gouitaa M, Mezouar S, Zieleskiewicz L, Albanese J, et al. Paired acute-baseline serum tryptase in perioperative anaphylaxis: an observational study. *Allergy* 2019 ; 74 : 1157-65.
30. Valent P, Akin C, Arock M, Brockow K, Butterfield JH, Carter MC, et al. Definitions, criteria and global classification of mast cell disorders with special reference to mast cell activation syndromes: a consensus proposal. *Int Arch Allergy Immunol* 2012 ; 157 : 215-25.
31. Valent P, Akin C, Bonadonna P, Hartmann K, Broesby-Olsen S, Brockow K, et al. Mast cell activation syndrome: importance of consensus criteria and call for research. *J Allergy Clin Immunol* 2018 ; 142 : 1008-10.
32. Carlsson L, Kober A, Ekstrom A, Magnusson B, Persson E, Sjolander A, et al. Clinically useful markers in specific immunotherapy - test performance of tryptase and specific IgG4 on ImmunoCAP 250. *Allergy* 2008 ; 63(Suppl. 88) : 190-1.