



# ALEX<sup>3</sup> ALLERGY XPLOREER

## ISTRUZIONI PER L'USO

### TABELLA DEI CONTENUTI

I.	DICHIARAZIONE DI NON RESPONSABILITÀ PER LA LINGUA .....	2
II.	DICHIARAZIONE DI RESPONSABILITÀ.....	2
III.	DESCRIZIONE .....	2
IV.	DESTINAZIONE D'USO .....	3
V.	SINTESI E SPIEGAZIONE DEL TEST .....	3
VI.	PRINCIPIO DELLA PROCEDURA .....	4
VII.	SPEDIZIONE E CONSERVAZIONE.....	4
VIII.	SMALTIMENTO.....	5
IX.	GLOSSARIO DEI SIMBOLI .....	5
X.	COMPONENTI DEL KIT .....	7
XI.	ATTREZZATURA NECESSARIA PER IL TRATTAMENTO E L'ANALISI.....	11
XII.	MANIPOLAZIONE DEGLI ARRAY .....	11
XIII.	AVVERTENZE E PRECAUZIONI .....	12
XIV.	PROCEDURA DI ANALISI.....	13
XV.	CONTROLLO DI QUALITÀ.....	20
XVI.	ANALISI DEI DATI.....	20
XVII.	RISULTATI .....	21
XVIII.	LIMITI DELLA PROCEDURA .....	21
XIX.	VALORI PREVISTI .....	22
XX.	CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE.....	22
XXI.	GARANZIA .....	27
XXII.	ABBREVIAZIONI .....	27



## I. DICHIARAZIONE DI NON RESPONSABILITÀ PER LA LINGUA

La presente Istruzione per l'uso (IFU) è fornita in più lingue in conformità al regolamento (UE) 2017/746. In caso di discrepanze o incongruenze tra la versione inglese e qualsiasi versione tradotta, la versione inglese prevarrà e sarà considerata quella di riferimento.

## II. DICHIARAZIONE DI RESPONSABILITÀ

Questa IFU è stata controllata per verificarne l'accuratezza. Le istruzioni per ALEX<sup>3</sup> Allergy Xplorer erano corrette al momento della pubblicazione. Le versioni successive di questa guida possono essere aggiornate senza preavviso.

Il kit ALEX<sup>3</sup> Allergy Xplorer è un dispositivo diagnostico *in vitro* destinato esclusivamente a personale di laboratorio qualificato. Il kit ALEX<sup>3</sup> Allergy Xplorer può essere utilizzato per lo scopo previsto solo in conformità con la presente IFU. L'IFU deve essere rispettata senza eccezioni. Se non si ha familiarità con l'uso del kit ALEX<sup>3</sup> Allergy Xplorer, si è tenuti a richiedere informazioni a MacroArray Diagnostics (MADx) prima di utilizzarlo. MADx non si assume alcuna responsabilità per l'uso improprio del kit ALEX<sup>3</sup> Allergy Xplorer. MADx sarà responsabile di eventuali danni a beni materiali direttamente o indirettamente derivanti da errori presenti in questa IFU esclusivamente in caso di colpa grave o dolo, e per lesioni personali solo nei limiti delle disposizioni di legge obbligatorie.

Qualora una qualsiasi clausola o disposizione della presente IFU dovesse essere ritenuta illegale o inapplicabile, in tutto o in parte, ai sensi di una qualsiasi legge o regolamento, tale clausola o parte di essa sarà considerata, nella misura necessaria, come non facente parte della presente IFU, senza che ciò pregiudichi la validità e l'efficacia delle restanti parti della presente IFU.

Questa guida è protetta da copyright. Nessuna parte di essa può essere duplicata, riprodotta o copiata in qualsiasi formato elettronico o leggibile a macchina senza previa autorizzazione scritta da parte di MADx.

## III. DESCRIZIONE

ALEX<sup>3</sup> Allergy Xplorer (ALEX<sup>3</sup>) è un test diagnostico *in vitro* basato sul metodo ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) per la misurazione quantitativa delle IgE specifiche per allergeni (sIgE). Può essere utilizzato come test manuale in combinazione con il dispositivo ImageXplorer (REF 11-0000-01) o come test automatizzato con i sistemi MAX 9k (REF 17-0000-01) o MAX 45k (REF 16-0000-01).

Le presenti istruzioni per l'uso sono applicabili ai seguenti prodotti:

UDI-DI base	RIF	Prodotto
91201229203JS	03-2001-01	ALEX <sup>3</sup> per 20 analisi
	03-5001-01	ALEX <sup>3</sup> per 50 analisi



## IV. DESTINAZIONE D'USO

ALEX<sup>3</sup> Allergy Xplorer è un kit di analisi utilizzato per l'esame in vitro di siero o plasma umano (ad eccezione del plasma EDTA) al fine di fornire informazioni utili alla diagnosi di pazienti affetti da malattie IgE-mediate in combinazione con altri risultati clinici o diagnostici.

Il dispositivo medico IVD rileva quantitativamente le IgE specifiche per allergeni (sIgE) e le IgE totali (tIgE) in un intervallo compreso tra 2 e 1000 kU/l (semiquantitativo 1001-2500 kU/l). Il prodotto è destinato all'uso da parte di personale di laboratorio qualificato e professionisti medici in un laboratorio medico.

## V. SINTESI E SPIEGAZIONE DEL TEST

Le reazioni allergiche sono reazioni di ipersensibilità immediata di tipo I e sono mediate da anticorpi appartenenti alla classe delle immunoglobuline IgE. Dopo l'esposizione ad allergeni specifici, il rilascio di istamina e altri mediatori da parte dei mastociti e dei basofili, mediato dalle IgE, provoca manifestazioni cliniche quali asma, rinocongiuntivite allergica, eczema atopico e sintomi gastrointestinali [1]. Pertanto, un profilo dettagliato di sensibilizzazione ad allergeni specifici aiuta nella valutazione dei pazienti allergici [2-6]. Non vi sono restrizioni sulla popolazione da sottoporre al test. Quando si sviluppano test IgE, l'età e il sesso non sono generalmente considerati fattori critici, poiché i livelli di IgE misurati in questi test non variano in modo significativo in base a questi dati demografici.

Tutte le principali fonti di allergeni di tipo I sono coperte da ALEX<sup>3</sup>. Un elenco completo degli estratti allergenici e degli allergeni molecolari ALEX<sup>3</sup> è disponibile alla fine di queste istruzioni.

### **Informazioni importanti per l'utente!**

Per un uso corretto di ALEX<sup>3</sup>, è necessario che l'utente legga attentamente e segua le presenti istruzioni per l'uso. Il produttore non si assume alcuna responsabilità per qualsiasi uso del presente sistema di test non descritto nel presente documento nonché per modifiche apportate dall'utente al sistema di test.

Attenzione: la variante del kit 03-2001-01 del test ALEX<sup>3</sup> (20 array) è destinata esclusivamente all'elaborazione manuale. Per utilizzare questa variante del kit ALEX<sup>3</sup> con il sistema automatizzato MAX 9k, è necessario ordinare separatamente la Washing Solution (REF 00-5003-01) e la Stop Solution (REF 00-5007-01). Tutte le ulteriori informazioni sul prodotto sono riportate nelle istruzioni per l'uso corrispondenti: <https://www.madx.com/extras>.

La variante del kit ALEX<sup>3</sup> 03-5001-01 (50 array) deve essere utilizzata per l'elaborazione automatizzata con MAX 9k (REF 17-0000-01) e MAX 45k (REF 16-0000-01), in nessun caso con il dispositivo ImageXplorer (REF 11-0000-01).



## VI. PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

ALEX<sup>3</sup> è un test immunologico basato sul metodo ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Gli estratti allergenici o gli allergeni molecolari, accoppiati a nanoparticelle, vengono depositati in modo sistematico su una fase solida formando una matrice macroscopica. In primo luogo, gli allergeni i legati alle particelle reagiscono con le IgE specifiche presenti nel campione del paziente. Dopo l'incubazione, le IgE non specifiche vengono eliminate mediante lavaggio. La procedura prosegue con l'aggiunta di un anticorpo di rilevamento anti-IgE umane marcato con un enzima che forma un complesso con le IgE specifiche legate alle particelle. Dopo una seconda fase di lavaggio, viene aggiunto un substrato che viene convertito in un precipitato colorato insolubile dall'enzima legato all'anticorpo. Infine, la reazione enzima-substrato viene interrotta aggiungendo un reagente bloccante. La quantità di precipitato è proporzionale alla concentrazione di IgE specifiche nel campione del paziente. La procedura di analisi di laboratorio è seguita dall'acquisizione e dall'analisi delle immagini utilizzando il sistema manuale (ImageXplorer) o il sistema automatizzato (MAX 45k o MAX 9k). I risultati del test vengono analizzati con il RAPTOR SERVER Analysis Software e riportati in unità di risposta IgE (kU<sub>A</sub>/l). Anche i risultati delle IgE totali vengono riportati in unità di risposta IgE (kU/l). RAPTOR SERVER è disponibile nella versione 1; per il numero di versione completo a quattro cifre, consultare l'impronta RAPTOR SERVER disponibile all'indirizzo [www.raptor-server.com/imprint](http://www.raptor-server.com/imprint).

## VII. SPEDIZIONE E CONSERVAZIONE

La spedizione di ALEX<sup>3</sup> avviene a temperatura ambiente. Tuttavia, il kit deve essere conservato immediatamente dopo la consegna a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Se conservato correttamente, ALEX<sup>3</sup> e i suoi componenti possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata.



I reagenti del kit sono stabili per 6 mesi dopo l'apertura (alle condizioni di conservazione indicate).

### Spedizione e conservazione dei campioni

Tipo di campione	Siero	Plasma (citrato)	Plasma (eparina)
<b>Conservazione a breve termine</b>	1 settimana a 2-8 °C (evitare la proliferazione microbica)		
<b>Conservazione a lungo termine</b>	25-37 anni a -20 °C [7-8]		
<b>Trasporto</b>	17 giorni a temperatura ambiente [9]		



## VIII. SMALTIMENTO

Per garantire lo smaltimento sicuro del dispositivo, gli utenti devono attenersi alle normative locali, regionali e nazionali vigenti in materia di gestione dei rifiuti e protezione dell'ambiente. È necessario prestare particolare attenzione a tutti i componenti o materiali di consumo che possono presentare un rischio di infezione o contaminazione microbica (ad esempio, materiali di consumo contaminati con campioni di siero umano). Le cartucce ALEX<sup>3</sup> usate e tutti i componenti del kit inutilizzati devono essere smaltiti come rifiuti chimici di laboratorio.

## IX. GLOSSARIO DEI SIMBOLI

	Avvertenza (pittogramma GHS) Per ulteriori informazioni, consultare la scheda di sicurezza.
	Numero di catalogo
	Sufficiente per <n> test
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata
	Dispositivo medico diagnostico in vitro
	Marchio CE (Notified Body 2962: QMD Services GmbH, Zelinkagasse 10/3, 1010 Vienna, Austria)
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Produttore



	Data di fabbricazione
	Non riutilizzare
	Cartridge (cartucce)
	Data di scadenza
	Limite di temperatura
	Attenzione
	Identificativo unico del dispositivo
	Icona ALEX <sup>3</sup>
	MacroArray Diagnostics (MADx)



## X. COMPONENTI DEL KIT

### Nuova nomenclatura per i lotti di reagenti

**Attenzione:** Stiamo introducendo una nuova nomenclatura per tutti i lotti di reagenti MADx (la nomenclatura delle cartucce rimane invariata).

**I kit ALEX<sup>3</sup> con numero di lotto 03EAA01 e i lotti prodotti successivamente saranno interessati da questa modifica.**

#### Dettagli principali:

- **Nessuna modifica alle etichette delle cartucce**
- I reagenti specifici di un lotto di reagenti presenteranno la stessa nomenclatura dell'etichetta e potranno essere combinati con lotti di cartucce diverse.  
Modificheremo solo **la posizione 1 e 2** del nostro **codice di tre lettere** per i reagenti.  
Ad esempio:
  - I reagenti con etichette **DAA** possono essere combinati con i lotti di cartucce **DAA, DAB, DAC, DAD, ... fino a DAT.**
  - I reagenti con etichetta **DBA** possono essere combinati con i lotti di cartucce **DBA, DBB, DBC, DBD, ... fino a DBT.**
- Il RAPTOR SERVER Analysis Software è già stato aggiornato per riflettere queste modifiche. **Non è richiesta alcuna azione da parte dei clienti.**
- Il RAPTOR SERVER riconoscerà e combinerà gli arrays corretti con i reagenti corrispondenti.

Ogni componente (reagente) è stabile fino alla data indicata sull'etichetta di ciascun componente. Non combinare o mescolare reagenti provenienti da lotti diversi (prime due lettere diverse). Per un elenco completo degli estratti allergenici e degli allergeni molecolari immobilizzati sull'array ALEX<sup>3</sup>, contattare [pm@macroarraydx.com](mailto:pm@macroarraydx.com).

Componenti del kit REF 03-2001-01	Contenuto	Proprietà (gli ingredienti reattivi sono sottolineati)
ALEX <sup>3</sup> cartridge (cartucce)	2 blister da 10 ALEX <sup>3</sup> per un totale di 20 analisi. Calibrazione tramite curva master disponibile attraverso il RAPTOR SERVER Analysis Software.	Cartuccia in polistirolo contenente un <u>test immunologico in fase solida</u> . Pronto all'uso. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza.
ALEX <sup>3</sup> Sample Diluent	1 flacone da 9 ml	<u>CCD Blocker</u> , tampone TBS-Tween (0,2%), azoturo di sodio < 0,1%. Pronto all'uso. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza. Lasciare il reagente a temperatura ambiente prima dell'uso. Una volta aperto, il



Componenti del kit REF 03-2001-01	Contenuto	Proprietà (gli ingredienti reattivi sono sottolineati)
		reagente è stabile per 6 mesi a 2-8 °C.
Washing Solution	2 flaconi da 50 ml	<u>Tampone TBS-Tween (0,2%)</u> , < 0,1% azoturo di sodio. Pronto all'uso. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza. Lasciare il reagente a temperatura ambiente prima dell'uso. Una volta aperto, il reagente è stabile per 6 mesi a 2-8 °C.
ALEX <sup>3</sup> Detection Antibody	1 flacone da 11 ml	<u>Anticorpo di rilevamento anti-IgE umane</u> in tampone coniugato con additivi. Pronto all'uso. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza. Lasciare il reagente a temperatura ambiente prima dell'uso. Una volta aperto, il reagente è stabile per 6 mesi a 2-8 °C.
ALEX <sup>3</sup> Substrate Solution	1 flacone da 11 ml	<u>Substrato NBT/BCIP</u> (NBT: 4-nitro blu tetrazolio cloruro, soluzione, BCIP: 5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato, sale 4-toluidina). Pronto all'uso. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza. Lasciare il reagente a temperatura ambiente prima dell'uso. Una volta aperto, il reagente è stabile per 6 mesi a 2-8 °C.



Componenti del kit REF 03-2001-01	Contenuto	Proprietà (gli ingredienti reattivi sono sottolineati)
(ALEX <sup>3</sup> ) Stop Solution	1 flacone da 2,4 ml	<u>Acido etilendiamminotetraacetico (EDTA)</u> - Soluzione Pronto all'uso. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza. Lasciare il reagente a temperatura ambiente prima dell'uso. Una volta aperto, il reagente è stabile per 6 mesi a 2-8 °C. Dopo una conservazione prolungata, la soluzione può apparire torbida. Ciò non influisce sui risultati.

Componenti del kit REF 03-5001-01	Contenuto	Proprietà (gli ingredienti reattivi sono sottolineati)
ALEX <sup>3</sup> cartridge (cartucce)	5 blister da 10 ALEX <sup>3</sup> per un totale di 50 analisi. Calibrazione tramite curva master disponibile attraverso il RAPTOR SERVER Analysis Software.	Cartuccia in polistirolo contenente un <u>test immunologico in fase solida</u> . Pronto all'uso. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza.
ALEX <sup>3</sup> Sample Diluent	1 flacone da 30 ml	<u>CCD Blocker</u> , tampone TBS-Tween (0,2%), < 0,1% sodio azide. Pronto all'uso. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza. Lasciare il reagente a temperatura ambiente prima dell'uso. Una volta aperto, il reagente è stabile per 6 mesi a 2-8 °C.
Washing Solution	4 x conc. 1 flacone da 250 ml	<u>Tampone TBS-Tween (0,2%)</u> , < 0,1% sodio azide. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza. Diluire 1 a 4 con acqua demineralizzata prima dell'uso (250 ml di Washing Solution 4x conc. + 750 ml di acqua demineralizzata). Lasciare il reagente a temperatura ambiente prima dell'uso. Una volta aperto, il reagente è stabile per 6 mesi a 2-8 °C.



Componenti del kit REF 03-5001-01	Contenuto	Proprietà (gli ingredienti reattivi sono sottolineati)
ALEX <sup>3</sup> Detection Antibody	1 flacone da 30 ml	<u>Anticorpo di rilevamento anti-IgE umane</u> in tampone coniugato con additivi. Pronto all'uso. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza. Lasciare il reagente a temperatura ambiente prima dell'uso. Una volta aperto, il reagente è stabile per 6 mesi a 2-8 °C.
ALEX <sup>3</sup> Substrate Solution	1 flacone da 30 ml	<u>Substrato NBT/BCIP.</u> Pronto all'uso. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza. Lasciare il reagente a temperatura ambiente prima dell'uso. Una volta aperto, il reagente è stabile per 6 mesi a 2-8 °C.
(ALEX <sup>3</sup> ) Stop Solution	1 flacone da 10 ml	<u>Soluzione EDTA.</u> Pronto all'uso. Conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza. Lasciare il reagente a temperatura ambiente prima dell'uso. Una volta aperto, il reagente è stabile per 6 mesi a 2-8 °C. Dopo una conservazione prolungata, la soluzione può apparire torbida. Ciò non influisce sui risultati.



## XI. ATTREZZATURA NECESSARIA PER IL TRATTAMENTO E L'ANALISI

Accessori	Descrizione
<b>Accessori/Prodotti per l'elaborazione <u>MANUALE</u></b>	
<b>ImageXplorer</b> (REF 11-0000-01)	Dispositivo di imaging appositamente realizzato per acquisire immagini delle cartucce del test basate sulla tecnologia ALEX per la gestione <u>manuale</u>
<b>Array holder</b> (opzionale)	Prodotto per facilitare l'utilizzo delle cartucce durante la processazione <u>manuale</u>
<b>Lab Rocker</b>	Il rocker verticale è necessario durante la procedura del test in <u>manuale</u> (LxPxA – 28x15x33 cm, angolo di inclinazione 8°, velocità richiesta 8 giri/min).
<b>Incubation chamber</b>	Necessaria durante la procedura di test <u>manuale</u> (LxPxA – 35x25x2 cm)
<b>Accessori/Prodotti per procedimento <u>AUTOMATIZZATO</u></b>	
Dispositivi MAX: <b>MAX 45k</b> (REF 16-0000-01) <b>MAX 9k</b> (REF 17-0000-01)	Strumenti per il trattamento <u>automatizzato</u> delle cartucce del test basate sulla tecnologia ALEX
<b>Washing Solution 4x conc.</b> (REF 00-5003-01)	Reagenti per il trattamento <u>automatizzato</u> delle cartucce del test basate sulla tecnologia ALEX. La Washing Solution e la Stop Solution sono componenti del kit, ma possono essere acquistate anche separatamente, se sono necessari volumi maggiori di soluzione.
<b>Stop Solution</b> (REF 00-5007-01)	
<b>Altri accessori/prodotti necessari</b>	
<b>RAPTOR SERVER Analysis Software</b> (REF 22-0000-01)	Software per l'acquisizione e l'analisi delle immagini ottenute dai dispositivi ImageXplorer o MAX.
<b>PC o laptop</b>	-
<b>Pipette e puntali</b>	10 - 100 µl e 100 - 1000 µl
<b>Acqua demineralizzata</b>	-

## XII. MANIPOLAZIONE DEGLI ARRAY

Non toccare la superficie dell'array. Eventuali difetti superficiali causati da oggetti smussati o affilati possono interferire con la corretta lettura dei risultati. Non acquisire immagini ALEX<sup>3</sup> prima che l'array sia completamente asciutto (asciugare a temperatura ambiente).



### XIII. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

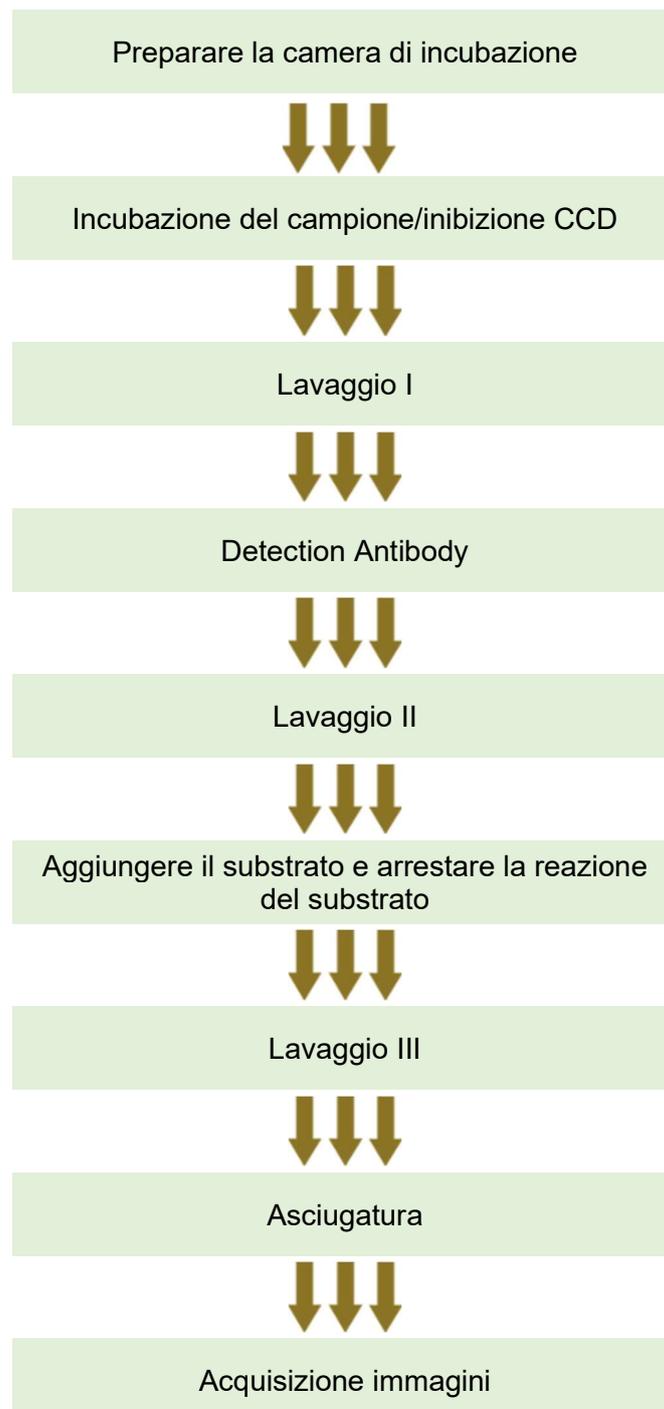
- Si raccomanda di indossare protezioni per le mani e gli occhi, camici da laboratorio e di seguire le buone pratiche di laboratorio durante la preparazione e la manipolazione dei reagenti e dei campioni.
- In conformità con le buone pratiche di laboratorio, tutto il materiale proveniente dal sangue (ad esempio ingredienti dei reagenti o altri componenti) deve essere considerato potenzialmente infettivo e maneggiato con le stesse precauzioni dei campioni di sangue.
- ALEX<sup>3</sup> Sample Diluent e Washing Solution contengono azoturo di sodio (<0,1%) come conservante e devono essere maneggiati con cura. La scheda di sicurezza è disponibile su richiesta.
- La soluzione (ALEX<sup>3</sup>) Stop Solution contiene acido etilendiamminotetraacetico (EDTA) e deve essere maneggiata con cura. La scheda di sicurezza è disponibile su richiesta.
- Solo per uso diagnostico in vitro. Non per uso interno o esterno su esseri umani o animali.
- Questo kit deve essere utilizzato esclusivamente da personale addestrato alle pratiche di laboratorio.
- All'arrivo, controllare che i componenti del kit non siano danneggiati. Se uno dei componenti è danneggiato (ad es. flaconi di tampone), contattare MADx ([support@madx.com](mailto:support@madx.com)) o il distributore locale. Non utilizzare componenti del kit danneggiati, poiché il loro utilizzo potrebbe compromettere le prestazioni del kit.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.
- Non mescolare reagenti di lotti diversi.
- Le cartucce ALEX<sup>3</sup> sono **monouso** e non devono essere riutilizzate. I reagenti possono essere aperti e riutilizzati entro un periodo massimo di 6 mesi dalla data di prima apertura o fino al completo consumo del contenuto del kit, a seconda di quale delle due condizioni si verifichi per prima.
- Per istruzioni dettagliate sullo smaltimento sicuro del dispositivo, consultare il capitolo VIII delle istruzioni per l'uso.
- Le seguenti indicazioni di pericolo e precauzioni sono applicabili alla Stop Solution: H319 - Provoca grave irritazione oculare; P264 - Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso; P305+ P351+ P338 - In caso di contatto con gli occhi: sciacquare accuratamente con acqua per diversi minuti. Togliere le lenti a contatto, se presenti e facili da rimuovere. Continuare a sciacquare; P337 + P313 - In caso di irritazione oculare persistente: consultare un medico.
- Qualsiasi **incidente grave** che si verifichi in relazione all'uso di questo dispositivo deve essere segnalato al **produttore** all'indirizzo [support@madx.com](mailto:support@madx.com) e **all'autorità competente** dello Stato membro in cui l'utente e/o il paziente è stabilito.



## XIV. PROCEDURA DI ANALISI

### Procedura di analisi manuale

I kit ALEX<sup>3</sup> possono essere utilizzati come test manuale in combinazione con il dispositivo ImageXplorer (REF 11-0000-01).





## Preparazione

**Preparazione dei campioni:** è possibile utilizzare campioni di siero o plasma (eparina, citrato, senza EDTA) prelevati dal sangue capillare o venoso. I campioni di sangue possono essere raccolti utilizzando procedure standard. Conservare i campioni a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C per un massimo di una settimana. Conservare i campioni di siero e plasma a -20 °C per una conservazione prolungata. È possibile spedire i campioni di siero/plasma a temperatura ambiente. Lasciare sempre i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.

**Incubation chamber:** Chiudere il coperchio durante tutte le fasi del test per evitare cali di umidità.

### Parametri della procedura:

- 100 µl di campione + 400 µl di ALEX<sup>3</sup> Sample Diluent
- 500 µl di ALEX<sup>3</sup> Detection Antibody
- 500 µl di ALEX<sup>3</sup> Substrate Solution
- 100 µl (ALEX<sup>3</sup>) Stop Solution
- 4500 µl Washing Solution

Il tempo di analisi è di circa 3 ore e 30 minuti (senza essiccazione dell'array elaborato).

Si sconsiglia di eseguire più test di quelli che possono essere pipettati in 8 minuti. Tutte le incubazioni vengono eseguite a temperatura ambiente, 20-26 °C.

	Tutti i reagenti devono essere utilizzati a temperatura ambiente (20-26 °C). Il test non deve essere eseguito alla luce diretta del sole.
---	---

## Preparare la camera di incubazione

Aprire la camera di incubazione e posizionare dei fogli di carta assorbente sul fondo. Bagnare i fogli di carta assorbente con acqua demineralizzata fino a quando non sono visibili parti asciutte.

## Esecuzione manuale

### 1. Incubazione del campione/inibizione CCD

Estraete il numero necessario di cartucce ALEX<sup>3</sup> e inseritele nell'Array holder. Aggiungete 400 µl di ALEX<sup>3</sup> Sample Diluent in ciascuna cartuccia. Aggiungete 100 µl di campione del paziente alle cartucce. Assicuratevi che la soluzione risultante sia distribuita uniformemente. Posizionare le cartucce nella camera di incubazione preparata e collocare la camera di incubazione con le cartucce sul lab rocker in modo che le cartucce oscillino lungo il lato lungo della cartuccia. Avviare l'incubazione del siero a 8 rpm per 2 ore. Chiudere la camera di



incubazione prima di avviare il lab rocker. Dopo 2 ore, scaricare i campioni in un contenitore di raccolta. Rimuovere con cura le goccioline dalla cartuccia utilizzando un tovagliolo di carta.

	<p>Evitare di toccare la superficie dell'array con la carta assorbente! Evitare qualsiasi contaminazione incrociata o trasferimento di campioni tra le singole cartucce ALEX<sup>3</sup>!</p>
--	---

**Hom s LF (marcatore CCD) opzionale o positivo:** con il protocollo standard di inibizione dell'anticorpo CCD (come descritto nel paragrafo 2: incubazione del campione/inibizione CCD), il 98% di tutti i campioni testati mostra un risultato negativo per il marcatore di controllo dell'inibizione CCD Hom s LF. Se Hom s LF è positivo con il protocollo standard, si raccomanda la seguente procedura:

Preparare una provetta da 1 ml, aggiungere 400 µl di ALEX<sup>3</sup> Sample Diluent e 100 µl di siero. Incubare per 30 minuti (senza agitare) e quindi procedere con la normale procedura di analisi.

**Nota:** la fase aggiuntiva di inibizione CCD porta in molti casi, ma non in tutti, a una completa inibizione degli anticorpi CCD (Hom s LF negativo).

### 1a. Lavaggio I

Aggiungere 500 µl di Washing Solution a ciascuna cartuccia e incubare sul lab rocker (a 8 rpm) per 5 minuti. Scaricare la Washing Solution in un contenitore di raccolta e picchiettare energicamente le cartucce su una pila di asciugamani di carta asciutti. Rimuovere con cura le goccioline residue dalle cartucce utilizzando un asciugamano di carta.

**Ripeti questo passaggio altre 2 volte.**

### 2. Aggiungere l' Detection Antibody

Aggiungere 500 µl di ALEX<sup>3</sup> Detection Antibody a ciascuna cartuccia.

	<p>Assicurarsi che l'intera superficie dell'array sia coperta dalla soluzione ALEX<sup>3</sup> Detection Antibody.</p>
--	--

Posizionare le cartucce nella camera di incubazione sul lab rocker e incubare a 8 rpm per 30 minuti. Scaricare la soluzione di anticorpo di rilevamento in un contenitore di raccolta e picchiettare energicamente le cartucce su una pila di asciugamani di carta asciutti. Rimuovere con cura le goccioline residue dalle cartucce utilizzando un asciugamano di carta.



## 2a. Lavaggio II

Aggiungere 500 µl di Washing Solution a ciascuna cartuccia e incubare sul lab rocker a 8 rpm per 5 minuti. Scaricare la Washing Solution in un contenitore di raccolta e picchiettare energicamente le cartucce dell' e su una pila di asciugamani di carta asciutti. Rimuovere con cura le goccioline residue dalle cartucce utilizzando un asciugamano di carta.

**Ripetere questo passaggio altre 4 volte.**

## 3+4. Aggiungere ALEX<sup>3</sup> Substrate Solution e arrestare la reazione del substrato

Aggiungere 500 µl di ALEX<sup>3</sup> Substrate Solution a ciascuna cartuccia. Avviare un timer con il riempimento della prima cartuccia e procedere con il riempimento delle cartucce rimanenti. Assicurarsi che l'intera superficie dell'array sia coperta dalla Substrate Solution e incubare gli array per esattamente 8 minuti senza agitare (**lab rocker a 0 rpm e in posizione orizzontale**).

Dopo esattamente 8 minuti, aggiungere 100 µl di (ALEX<sup>3</sup>) Stop Solution a tutte le cartucce, iniziando dalla prima cartuccia per assicurarsi che tutti gli array siano incubati per lo stesso tempo con la soluzione ALEX<sup>3</sup> Substrate Solution. Agitare con cura per distribuire uniformemente la (ALEX<sup>3</sup>) Stop Solution nelle cartucce dell'array, dopo aver pipettato la (ALEX<sup>3</sup>) Stop Solution su tutti gli array. Successivamente scaricare la (ALEX<sup>3</sup>) Substrate/Stop Solution dalle cartucce e picchiettare energicamente le cartucce su una pila di asciugamani di carta asciutti. Rimuovere con cura eventuali goccioline residue dalle cartucce utilizzando un asciugamano di carta.



Il lab rocker **NON DEVE ESSERE IN FUNZIONE** durante l'incubazione del substrato!

## 4a. Lavaggio III

Aggiungere 500 µl di Washing Solution in ciascuna cartuccia e incubare sul lab rocker a 8 rpm per 30 secondi. Scaricare la Washing Solution in un contenitore di raccolta e picchiettare energicamente le cartucce su una pila di asciugamani di carta asciutti. Rimuovere con cura eventuali goccioline residue dalle cartucce utilizzando un asciugamano di carta.

## 5. Acquisizione delle immagini

Al termine della procedura di analisi, asciugare gli array all'aria a temperatura ambiente fino a completa asciugatura (può richiedere fino a 45 minuti). Se gli array richiedono un periodo di asciugatura prolungato, devono essere conservati in un ambiente protetto dalla luce fino al momento dell'analisi.



L'asciugatura completa è essenziale per la sensibilità del test. Solo gli array completamente asciutti forniscono un rapporto segnale/rumore ottimale.

Gli array asciutti vengono quindi scansionati con ImageXplorer.

## Procedura di analisi automatizzata

I kit ALEX<sup>3</sup> possono essere utilizzati come test automatizzato con i sistemi MAX 9k (REF 17-0000-01) o MAX 45k (REF 16-0000-01). Questi prodotti medici IVD elaborano automaticamente gli array basati sulla tecnologia ALEX e ne acquisiscono le immagini.



Il personale deve essere addestrato all'uso dei dispositivi MAX (MAX 45k o MAX 9k). La versione attuale delle istruzioni per l'uso MAX (Sistemi) è disponibile all'indirizzo: <https://www.madx.com/extras>.

## Preparativi

**Preparazione dei campioni:** è possibile utilizzare campioni di siero o plasma (eparina, citrato, senza EDTA) prelevati dal sangue capillare o venoso. I campioni di sangue possono essere prelevati utilizzando procedure standard. Conservare i campioni a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C per un massimo di una settimana. Conservare i campioni di siero e plasma a -20 °C per una conservazione prolungata. È possibile spedire i campioni di siero/plasma a temperatura ambiente. Lasciare sempre i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.

**Preparazione della Washing Solution (solo per REF 03-5001-01 e REF 00-5003-01 se utilizzati con il dispositivo MAX):** Versare il contenuto di 1 fiala di Washing Solution nel contenitore di lavaggio dello strumento. Riempire con acqua demineralizzata fino al segno rosso e mescolare accuratamente il contenitore più volte senza generare schiuma. Il reagente aperto è stabile per 6 mesi a 2-8 °C.

## Esecuzione automatica del test

Le istruzioni su come eseguire un test sono fornite nei sottocapitoli XVII.7-10 delle istruzioni per l'uso MAX e devono essere seguite.

A seconda del volume del campione, sono disponibili due modalità operative per l'utilizzo di ALEX<sup>3</sup>: prediluito manualmente e non prediluito.



Articolo	MAX 45k	MAX 9k
Provette per campioni a basso volume	Tubi Sarstedt "false-bottom" 2,5 ml, 75x13 (base tonda) Numero d'ordine: 60.614.010	
Volume minimo del campione per 1 test ALEX <sup>3</sup> , provetta per piccoli volumi	Non prediluito: 200 µl Prediluito manualmente: 120 µl di siero + 480 µl di Sample Diluent	
Tubi standard da 13 mm	Altezza: 75-100 mm Esempio: provette Sarstedt da 5 ml 75x13 mm Codice PS: 55.475 Da utilizzare con l'adattatore in dotazione	Altezza: 75 mm Esempio: provette Sarstedt da 5 ml 75x13 mm PS Codice ordine: 55.475
Tubi standard da 16 mm	Altezza minima: 75 mm, altezza massima: 100 mm Esempio: provette Sarstedt da 13 ml 100x16 mm Codice PS: 55.459	-
Volume minimo del campione per 1 test ALEX <sup>3</sup> , provetta standard da 13/16 mm	Non prediluito: 400 µl Prediluito manualmente: 145 µl di siero + 580 µl di Sample Diluent	

	Prima di utilizzare provette diverse da quelle sopra specificate, contattare l'assistenza MADx o il proprio distributore.
--	---

I requisiti dettagliati relativi alle provette e le istruzioni per le diluizioni sono disponibili nel capitolo XXI delle istruzioni per l'uso MAX (Specifiche tecniche). La versione attuale delle istruzioni per l'uso MAX (Sistemi) è disponibile all'indirizzo: <https://www.madx.com/extras>.

**Hom s LF opzionale o positivo (marcatore CCD):** Con il protocollo standard di inibizione dell'anticorpo CCD (come descritto nel paragrafo 2: incubazione del campione/inibizione CCD), il 98% di tutti i campioni testati mostra un risultato negativo per il marcatore di controllo dell'inibizione CCD Hom s LF.

Se Hom s LF è positivo con il protocollo standard, i campioni di siero devono essere pre-diluiti manualmente (vedere tabella sopra) e incubati per 30 minuti (senza agitare) prima di caricare le provette nel carosello dei campioni.

### Analisi delle immagini

Gli array scansionati con tecnologia ALEX vengono analizzati con il RAPTOR SERVER Analysis Software (vedere i dettagli nelle istruzioni per l'uso di RAPTOR SERVER all'indirizzo <https://www.madx.com/extras>).



Il RAPTOR SERVER Analysis Software è verificato esclusivamente in combinazione con lo strumento ImageXplorer e i dispositivi MAX, pertanto MADx non si assume alcuna responsabilità per i risultati ottenuti con qualsiasi altro dispositivo di acquisizione delle immagini (come gli scanner).

Su ALEX<sup>3</sup> sono presenti due punti di controllo del pipettaggio dei campioni (Sample Pipetting Control; SPC). Entrambi i punti servono a garantire che i campioni dei pazienti siano stati trasferiti a ciascun array della rispettiva serie di analisi. Dopo l'elaborazione, i punti SPC devono essere facilmente visibili ad occhio nudo. Se non sono visibili, contattare il distributore locale o l'assistenza MADx per sapere come procedere. Se i punti SPC sono visibili, i campioni dei pazienti sono stati pipettati correttamente.

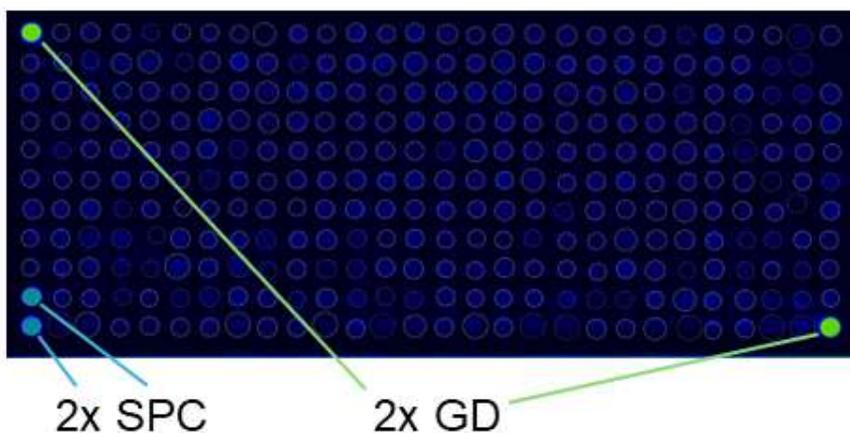
L'immagine della cartuccia con griglia viene visualizzata nell'area di elaborazione analitica. Il software identifica automaticamente la posizione della matrice nei dati dell'immagine in base ai punti guida (Guide Dots; GD). Su ALEX<sup>3</sup> sono presenti 2 punti guida.

Dopo l'elaborazione, i punti guida devono essere facilmente visibili ad occhio nudo. Verificare anche il loro corretto orientamento come mostrato nell'immagine per ALEX<sup>3</sup> qui sotto. Se non sono visibili, contattare il distributore locale o l'assistenza MADx per informazioni su come procedere. Se i punti guida sono visibili, la cartuccia può essere ulteriormente analizzata.

Durante l'acquisizione delle immagini di una cartuccia ALEX<sup>3</sup>, RAPTOR SERVER valuta il segnale di tutti i punti guida e il segnale di fondo della superficie della membrana. Se tutti i criteri di qualità sono soddisfatti, il campo "automatic QC" sotto l'immagine viene impostato su "OK".

Al fine di escludere l'influenza di artefatti nell'analisi automatica delle immagini (punti satellite, contaminazioni del campione, polvere, macchie, ...), le immagini devono essere controllate da un operatore qualificato prima che i risultati vengano approvati, al fine di escludere risultati falsi. In caso di discrepanze tra l'array elaborato e l'immagine acquisita dal RAPTOR SERVER, consultare il distributore locale o l'assistenza MADx.

## ALEX<sup>3</sup>





## Calibrazione del test

La curva di calibrazione master ALEX<sup>3</sup> è stata stabilita mediante test di riferimento su preparati sierici con IgE specifiche (sIgE) contro diversi antigeni che coprono il range di misurazione previsto. I parametri della curva per ogni lotto sono regolati da un sistema di test di riferimento interno, rispetto a preparati sierici testati con ImmunoCAP (Thermo Fisher), attualmente considerato il "metodo di riferimento" per i test IgE in vitro (WAO position paper). Non è disponibile materiale di riferimento per sIgE. Per le tIgE è disponibile una preparazione di riferimento OMS 11/234, che è stata utilizzata per la generazione della curva master delle tIgE.

I risultati sIgE sono quantitativi e riportati in kU<sub>A</sub>/l. I risultati IgE totali (tIgE) sono riportati in unità di risposta IgE (kU/l), dove 1 kU/l corrisponde a 2,42 ng/ml. I risultati IgE totali da 2-1000 kU/l sono quantitativi e calcolati dalle misurazioni anti-IgE con fattori di calibrazione specifici per lotto, forniti dal RAPTOR SERVER Analysis Software e selezionati in base ai codici QR specifici per lotto. Per le tIgE, i risultati da 1001-2500 kU/l sono semiquantitativi.

Le variazioni sistematiche dei livelli di segnale tra i lotti vengono normalizzate mediante calibrazione eterologa rispetto a una curva di riferimento IgE. Viene utilizzato un fattore di correzione per adeguare sistematicamente le deviazioni di misurazione specifiche del lotto.

## XV. CONTROLLO DI QUALITÀ

### Registrazione dei dati per ogni analisi

In base alle buone pratiche di laboratorio, si raccomanda di registrare i numeri di lotto di tutti i reagenti utilizzati.

### Campioni di controllo

In base alle buone pratiche di laboratorio, si raccomanda di includere campioni di controllo della qualità a intervalli definiti. I valori di riferimento per alcuni sieri di controllo disponibili in commercio possono essere forniti da MADx su richiesta.

## XVI. ANALISI DEI DATI

Per l'analisi delle immagini degli array elaborati, è necessario utilizzare ImageXplorer o un dispositivo MAX. Le immagini ALEX<sup>3</sup> vengono analizzate automaticamente utilizzando RAPTOR SERVER Analysis Software e viene generato un rapporto che riassume i risultati per l'utente.



## XVII. RISULTATI

ALEX<sup>3</sup> rileva quantitativamente le sIgE (nell'intervallo 0,3-50 kU<sub>A</sub>/l) e le tIgE (nell'intervallo 2-1000 kU/l). Per livelli di tIgE compresi tra 1001 e 2500 kU/l, il rilevamento è semiquantitativo.

Gli anticorpi IgE specifici per allergeni sono espressi come unità di risposta IgE (kU<sub>A</sub>/l), i risultati IgE totali come kU/l. Il RAPTOR SERVER Analysis Software calcola e riporta automaticamente i risultati sIgE e tIgE.

### Interpretazione dei risultati

I risultati del test ALEX<sup>3</sup> vengono analizzati automaticamente e presentati in un referto generato dal RAPTOR SERVER Analysis Software. Per supportare ulteriormente l'interpretazione clinica dei risultati del test, è stato implementato un modulo software specializzato: RAVEN Interpretation Guidance. **I dettagli sulla generazione del referto RAPTOR SERVER e sull'interpretazione da parte di RAVEN sono forniti nelle istruzioni per l'uso del RAPTOR SERVER Analysis Software, sottocapitoli VII.2.1-2.4.**

La versione attuale delle istruzioni per l'uso del RAPTOR SERVER Analysis Software è disponibile all'indirizzo: <https://www.madx.com/extras>

## XVIII. LIMITI DELLA PROCEDURA

Una diagnosi clinica definitiva deve essere formulata solo in combinazione con tutti i risultati clinici disponibili da parte di professionisti medici e non deve basarsi esclusivamente sui risultati di un unico metodo diagnostico.

In alcuni ambiti di applicazione (ad es. allergie alimentari), gli anticorpi IgE circolanti possono rimanere non rilevabili nonostante la presenza di una manifestazione clinica di allergia alimentare a un determinato allergene, poiché tali anticorpi possono essere specifici per allergeni modificati durante la lavorazione industriale, la cottura o la digestione e quindi non presenti nell'alimento originale per cui il paziente è stato testato.

I risultati negativi al veleno indicano solo livelli non rilevabili di anticorpi IgE specifici per il veleno (ad esempio a causa di una prolungata assenza di esposizione) e non escludono l'esistenza di ipersensibilità clinica alle punture di insetti.

Nei bambini, specialmente fino ai 2 anni di età, il range normale di tIgE è inferiore rispetto agli adolescenti e agli adulti [10]. Pertanto, è prevedibile che in una percentuale maggiore di bambini di età inferiore ai 2 anni il livello totale di IgE sia inferiore al limite di rilevabilità specificato. Questa limitazione non si applica alla misurazione delle IgE specifiche.



## XIX. VALORI PREVISTI

La stretta associazione tra i livelli di anticorpi IgE specifici per allergeni e le malattie allergiche è ben nota e descritta in modo approfondito in letteratura [1]. Ogni paziente sensibilizzato presenterà un profilo IgE individuale quando sottoposto al test con ALEX<sup>3</sup>. La risposta IgE con campioni provenienti da individui sani non allergici sarà inferiore a 0,3 kU<sub>A</sub>/l per i singoli allergeni molecolari e per gli estratti allergenici quando testati con ALEX<sup>3</sup>. L'area di riferimento per le IgE totali negli adulti è < 100 kU/l. Le buone pratiche di laboratorio raccomandano che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di valori attesi.

## XX. CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE

Il riassunto delle caratteristiche di sicurezza e delle prestazioni è disponibile sul sito web MADx: <https://www.madx.com/extras>.

### 1. Accuratezza

ALEX<sup>3</sup> ha dimostrato un'elevata accuratezza, come dimostrato dalla buona precisione (ripetibilità CV 6,6%, precisione totale CV 13,8%) e dall'elevata veridicità con il metodo di riferimento ( $R^2 > 0,9$ ).

#### (a) Precisione

La precisione del test ALEX<sup>3</sup> è stata valutata secondo il disegno "single-site study" descritto nella linea guida EP05-A3. In questo caso, vengono analizzati più campioni in 20 giorni, con un'esecuzione al giorno e tre repliche per esecuzione ("schema 20 x 1 x 3"). L'analisi statistica considera come fattori le fonti di variazione associate ai "giorni" e alle "sedute". Questo metodo fornisce stime per due tipi di precisione: ripetibilità (= precisione intra-run) e precisione intra-laboratorio (= precisione intra-dispositivo = precisione totale). [11]

Ripetibilità	Risultati
CV [0,3 - 1,0 kU <sub>A</sub> /l]	13,7 %
CV [1,0 - 10,0 kU <sub>A</sub> /l]	7,0 %
CV [>10,0 kU <sub>A</sub> /l]	5,7 %
CV [>1,0 kU <sub>A</sub> /l]	6,6 %
Precisione totale	Risultati
CV [0,3 - 1,0 kU <sub>A</sub> /l]	25,7 %
CV [1,0 - 10,0 kU <sub>A</sub> /l]	14,4 %
CV [>10,0 kU <sub>A</sub> /l]	12,6 %
CV [>1,0 kU <sub>A</sub> /l]	13,8 %



## (b1) Esattezza della misurazione (slgE)

Sono stati testati 63 campioni diversi con tutti e 3 i metodi ALEX<sup>3</sup> e ALEX<sup>2</sup> (solo MAX 45k). Alcuni campioni selezionati sono stati testati anche con il metodo ImmunoCAP per gli allergeni prioritari. Il coefficiente di determinazione osservato, R<sup>2</sup>, tra i diversi metodi è riportato per tutti gli allergeni prioritari:

Ara h 2

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,940	0,922	0,939	0,960
ALEX3 MAX 45K			0,993	0,990	0,998
ALEX3 MAX 9K				0,985	0,989
ALEX3 IX Manual					0,988
ALEX2 MAX 45k					

Phi p 1

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,934	0,984	0,910	0,952
ALEX3 MAX 45K			0,976	0,769	0,964
ALEX3 MAX 9K				0,853	0,967
ALEX3 IX Manual					0,868
ALEX2 MAX 45k					

Gal d 1

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,986	0,983	0,980	0,979
ALEX3 MAX 45K			1,000	0,997	0,998
ALEX3 MAX 9K				0,999	0,998
ALEX3 IX Manual					1,000
ALEX2 MAX 45k					

Pru p 3

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,954	0,991	0,972	0,975
ALEX3 MAX 45K			0,962	0,935	0,998
ALEX3 MAX 9K				0,991	0,994
ALEX3 IX Manual					0,995
ALEX2 MAX 45k					

Art v 1

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,949	0,952	0,940	0,951
ALEX3 MAX 45K			0,998	0,995	0,999
ALEX3 MAX 9K				0,992	0,998
ALEX3 IX Manual					0,995
ALEX2 MAX 45k					

Fel d 1

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,911	0,954	0,844	0,871
ALEX3 MAX 45K			0,982	0,976	0,988
ALEX3 MAX 9K				0,961	0,975
ALEX3 IX Manual					0,997
ALEX2 MAX 45k					

Pla l 1

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,949	0,993	0,987	0,978
ALEX3 MAX 45K			0,950	0,967	0,984
ALEX3 MAX 9K				0,976	0,969
ALEX3 IX Manual					0,996
ALEX2 MAX 45k					

Der p 2

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,959	0,956	0,943	0,962
ALEX3 MAX 45K			0,991	0,983	0,993
ALEX3 MAX 9K				0,992	0,998
ALEX3 IX Manual					0,985
ALEX2 MAX 45k					

Gal d 2

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,984	0,993	0,988	0,991
ALEX3 MAX 45K			0,997	0,999	0,999
ALEX3 MAX 9K				0,998	1,000
ALEX3 IX Manual					1,000
ALEX2 MAX 45k					

Gly m 4

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,927	0,966	0,932	0,966
ALEX3 MAX 45K			0,992	1,000	0,992
ALEX3 MAX 9K				0,994	1,000
ALEX3 IX Manual					0,994
ALEX2 MAX 45k					

Cari

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,899	0,942	0,935	0,947
ALEX3 MAX 45K			0,989	0,996	0,979
ALEX3 MAX 9K				0,997	0,998
ALEX3 IX Manual					0,990
ALEX2 MAX 45k					

Art v

R <sup>2</sup>	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,992	0,998	0,994	0,991
ALEX3 MAX 45K			0,994	0,999	0,978
ALEX3 MAX 9K				0,996	0,995
ALEX3 IX Manual					0,984
ALEX2 MAX 45k					

### Risultati

Il valore medio di R<sup>2</sup> tra tutti i metodi è **0,972**  
 Il valore R<sup>2</sup> medio tra ImmunoCAP e ALEX<sup>3</sup>\_MAX 45k è **0,949**  
 Il valore R<sup>2</sup> medio tra ImmunoCAP e ALEX<sup>3</sup>\_MAX 9k è **0,969**  
 Il valore medio di R<sup>2</sup> tra ImmunoCAP e ALEX<sup>3</sup>\_ImageXplorer è pari a **0,947** (per i dettagli, vedere la figura sopra)

## (b2) Esattezza della misurazione (tlgE)

Sono stati testati 28 campioni con tutti e 3 i metodi ALEX<sup>3</sup> e ImmunoCAP come metodo di riferimento per tlgE. Inoltre, un campione negativo è stato addizionato con lo standard WHO 11/234 e testato in duplicati a 9 diverse diluizioni.



<b>Risultati</b>	<p><u>Confronto tra i metodi tlgE "campioni reali":</u>  R<sup>2</sup> tlgE ImmunoCAP e ALEX<sup>3</sup>_MAX 45k è <b>0,963</b>  R<sup>2</sup> tlgE ImmunoCAP e ALEX<sup>3</sup>_MAX 9k è <b>0,919</b>  R<sup>2</sup> tlgE ImmunoCAP e ALEX<sup>3</sup>_ImageXplorer è <b>0,963</b></p> <p><u>Confronto tra i metodi tlgE "campioni addizionati":</u>  R<sup>2</sup> MAX 45k è <b>0,996</b> e CV inter-diluzione: <b>5,62%</b>  R<sup>2</sup> MAX 9k è <b>0,981</b> e CV inter-diluzione: <b>5,67 %</b>  R<sup>2</sup> ImageXplorer è pari a <b>0,966</b> e CV inter-diluzione: <b>7,19 %</b></p>
------------------	---

#### 4. Sensibilità analitica

Il limite di rilevabilità (LoD) per slgE è stato determinato per componenti allergenici rappresentativi (allergeni prioritari) ed è pari a 0,3 kU<sub>A</sub>/l per tutti i componenti allergenici testati. Il limite di rilevabilità (LoD) per tlgE è pari a 1,27 kU/l. [12]

#### 5. Specificità analitica

Non è stata rilevata alcuna reattività crociata con altre immunoglobuline umane (IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 e IgM) a concentrazioni fisiologiche normali.

Non si riscontra alcuna interferenza rilevabile con citrato o eparina dalla preparazione del campione né con bilirubina, colesterolo/trigliceridi ed emoglobina a concentrazioni fisiologiche normali. Non si riscontra inoltre alcuna interferenza con tlgE, testato in concentrazioni fino a 3000 kU/l.

#### 6. Tracciabilità metrologica dei valori del calibratore e del materiale di controllo

N/A

#### 7. Intervallo di misurazione del dosaggio

Il campo di misurazione è stato fissato come segue:

IgE specifiche (quantitative): 0,3-50 kU<sub>A</sub>/l

IgE totali (quantitative): 2-1000 kU/l

IgE totali (semi-quantitative): 1001-2500 kU/l

Questo valore si basa sul LoD e sul limite superiore dell'intervallo di misurazione (effetto gancio), calcolato in linea generale con la linea guida CLSI I/LA20, 3<sup>rd</sup> ed.

Il valore di cut-off del test è 0,3 kU<sub>A</sub>/l per le IgE specifiche.



### (a) Linearità

I campioni di siero positivi sono stati diluiti in serie con campione bianco in rapporto 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 e 1:128. I campioni non diluiti e diluiti sono stati testati secondo il protocollo del test ALEX<sup>3</sup>.

Per le IgE totali, un campione bianco è stato addizionato con il preparato WHO 11/234 come terzo standard internazionale per le IgE sieriche ad una concentrazione di 2500 kU/l e diluito in serie per coprire l'intero intervallo di misurazione.

I valori ottenuti (O) sono confrontati con i valori stimati (E). Il quoziente O/E è calcolato per gli allergeni prioritari selezionati.

<b>Risultati</b>	<p><u>sIgE:</u>  <b>L'83,8%</b> (ovvero 264 su 315) di tutti i valori O/E per gli allergeni prioritari rientrava nell'intervallo 0,8-1,2</p> <p><u>tIgE:</u>  <b>L'85,0%</b> (ovvero 17 su 20) di tutti i valori O/E delle preparazioni tIgE addizionate rientrava nell'intervallo 0,8-1,2</p>
------------------	--

## 8. Informazioni sulle prestazioni cliniche

Poiché 247 dei 300 allergeni erano già presenti nell'array ALEX<sup>2</sup>, la valutazione delle prestazioni cliniche di ALEX<sup>2</sup> è in parte applicabile ad ALEX<sup>3</sup>. 53 nuovi allergeni sono stati convalidati utilizzando sieri di pazienti clinicamente ben caratterizzati, sensibilizzati alla rispettiva fonte allergenica. Tutti gli allergeni sono stati valutati con sieri clinicamente validati. I nuovi allergeni hanno dimostrato di legarsi specificamente agli anticorpi IgE di almeno cinque pazienti sensibilizzati alla fonte allergenica corrispondente. Ove applicabile, i risultati sono stati confrontati anche con gli allergeni specifici ImmunoCAP dedicati, confermando ulteriormente la specificità. La specificità dei nuovi allergeni è stata convalidata dall'assenza di legame con le IgE nei sieri di individui non sensibilizzati. Nei casi in cui non era disponibile un ImmunoCAP specifico, l'estratto dell'allergene è stato efficacemente utilizzato come surrogato, dimostrando la robustezza delle prestazioni cliniche. Le prestazioni cliniche sono quindi verificate.

### (a) Studio clinico ALEX<sup>2</sup>

Uno studio clinico intitolato "Accuratezza diagnostica del sistema automatizzato di laboratorio MADx Multi Array Xplorer (MAX 45k) e del MADx Allergy Explorer versione 2 (ALEX<sup>2</sup>) - Test IgE Multiplex per la diagnosi di gruppi predefiniti di allergeni specifici ad alta priorità (MADMAX)" (ClinicalTrials.gov ID: NCT04435678) è stato completato con successo nell'aprile 2022.

Sono stati arruolati in totale 837 pazienti, di cui 689 allergici e 148 non allergici.

**(a1) Sensibilità:**

Tipo di allergia	Sensibilità (intervallo di confidenza al 95%)
Allergia al polline di betulla (n=111)	<b>94,6%</b> (88,6-98,0)
Allergia al polline di graminacee (n=113)	<b>98,2%</b> (93,8-99,8)
Allergia agli acari della polvere domestica (n=148)	<b>91,2%</b> (85,4-95,2)
Allergia ai gatti (n=107)	<b>92,5%</b> (85,8-96,7)
Allergia al veleno d'ape (n=104)	<b>76,0%</b> (66,6-83,8)
Allergia al veleno delle vespe (n=106)	<b>94,3%</b> (88,1-97,9)

**(a2) Specificità:**

Test	Specificità (intervallo di confidenza al 95%)
Test ALEX <sup>2</sup> rispetto ai sintomi clinici (n=146)	<b>95,9%</b> (91,3-98,5)

**(a3) Rapporto di verosimiglianza**

Il rapporto di verosimiglianza è stato calcolato dai dati di sensibilità e specificità secondo la seguente formula: Sensibilità / (1 - Specificità).

Tipo di allergia	Rapporto di verosimiglianza calcolato
Allergia al polline di betulla (n=111)	<b>23,1</b> (0,946/(1-0,959))
Allergia al polline di graminacee (n=113)	<b>24,0</b> (0,982/(1-0,959))
Allergia agli acari della polvere domestica (n=148)	<b>22,2</b> (0,912/(1-0,959))
Allergia ai gatti (n=107)	<b>22,6</b> (0,925/(1-0,959))
Allergia al veleno d'ape (n=104)	<b>18,5</b> (0,760/(1-0,959))
Allergia al veleno di vespe (n=106)	<b>23,0</b> (0,943/(1-0,959))

**9. Informazioni sulla stabilità**

I test di stabilità condotti nell'ambito di uno studio accelerato sulla stabilità di ALEX<sup>3</sup> hanno dimostrato un'elevata robustezza, 2 anni dopo la produzione, conservato a 2-8 °C. Pertanto, la durata di conservazione determinata è di 2 anni. Inoltre, nell'ambito dello studio accelerato sulla stabilità, sono stati condotti studi sulla stabilità durante il trasporto. Per lo studio di simulazione del trasporto, i kit sono stati sottoposti a un protocollo di simulazione del trasporto (TS) prima di essere testati. Inoltre, sono state testate la praticità dell'imballaggio e dell'etichettatura.



## XXI. GARANZIA

I dati sulle prestazioni sono stati ottenuti utilizzando la procedura descritta nelle presenti istruzioni per l'uso. Qualsiasi modifica o variazione della procedura può influire sui risultati e MacroArray Diagnostics declina ogni garanzia espressa (inclusa la garanzia implicita di commerciabilità e idoneità all'uso) in tal caso. Di conseguenza, MacroArray Diagnostics e i suoi distributori locali non saranno responsabili per danni indiretti o consequenziali in tal caso.

## XXII. ABBREVIAZIONI

ALEX	Allergy Xplorer
CCD	Determinanti carboidrati cross-reattivi
EDTA	Acido etilendiamminotetraacetico
ELISA	Test immunoenzimatico
IgE	Immunoglobulina E
IVD	Diagnostica in vitro
kU/l	Kilo unità per litro
kU <sub>A</sub> /l	Kilo unità di IgE specifiche per allergeni per litro
MADx	MacroArray Diagnostics
RIF	Numero di riferimento
rpm	Giri al minuto
sIgE	IgE specifiche per allergeni
tIgE	IgE totali
μl	Microlitro



## ELENCO ALLERGENI ALEX<sup>3</sup>

### Estratti allergenici:

Aca m, Aca s, Ach d, Ail a, All c, All s, Ama r, Amb a, Api m, Art v, Ave s, Ber e, Bos d\_meat, Bos d\_milk, Bro pa, Cam d, Can f\_male urine, Can s, Cap h\_epithelia, Cap h\_milk, Car i, Car p, Che a, Che q, Chi spp, Cic a, Cla h, Clu h, Cuc p, Cup s, Equ c\_meat, Equ c\_milk, Fag e, Fic b, Fic c, Gal d\_meat, Gal d\_white, Gal d\_yolk, Hel a, Hom g, Hor v, Jug r\_pollen, Jun a, Lit spp, Loc m, Lol spp, Lup a, Mac i, Mel g, Ory\_meat, Ovi a\_meat, Ovi a\_milk, Pan b, Pan m, Pap s, Par j, Pas n, Pen ch, Per a, Pers a, Phr c, Pin p, Pol d, Pru du, Pyr c, Raj c, Rud spp, Sal k, Sal s, Sco s, Sec c\_flour, Sec c\_pollen, Ses i, Sin a, Sol spp, Sol t, Sola l, Sus d\_epithelia, Ten m, Tri s, Tyr p, Zea m

### Componenti naturali purificati:

$\alpha$ -Gal, nAct d1 nAna o 1, nAna o 3, nApi m 1, nAra h 1, nAra h 3, nBos d 12, nBos d 4, nBos d 5, nBos d 6, nBos d 8, nCan f 3, nCoc n 1, nCor a 11, nCor a 9, nCry j 1, nCup a 1, nEqu c 3, nFag e 2, nGal d 2, nGal d 3, nGal d 4, nGal d 5, nGly m 5, nGly m 6, nJug r 4, nLit v 7, nMac i 1.0101(28-76), nOle e 7, nPap s 1.0101 (27-846), nPis v 2, nPis v 3, nPla a 2, nPru du 6, nSal s 6, nTri a aA\_TI, nZea m 1

### Componenti ricombinanti:

rAct d 10, rAct d 2, rAct d 5, rAln g 1, rAln g 4, rAlt a 1, rAlt a 6, rAmb a 1, rAmb a 4, rAna o 2, rAni s 1, rAni s 3, rApi g 1, rApi g 2, rApi g 6, rApi g 7, rApi m 10, rApi m 2, rAra h 15, rAra h 18, rAra h 2, rAra h 6, rAra h 8, rAra h 9, rArg r 1, rArt v 1.0101, rArt v 3.0201, rAsp f 1, rAsp f 3, rAsp f 4, rAsp f 6, rAsp f 8, rBer e 1, rBet v 1, rBet v 6, rBet v 7, rBla g 1, rBla g 2, rBla g 4, rBla g 5, rBla g 9, rBlo t 10, rBlo t 2, rBlo t 21, rBlo t 5, rBos d 10, rBos d 11, rBos d 2, rBos d 9, rCan f 1, rCan f 2, rCan f 4, rCan f 6, rCan f Fel d 1 like, rCan s 3, rCar i 1, rCari 2 (256-386), rCar i 4, rCav p 1, rChe a 1, rCla h 8, rClu h 1, rCor a 1.0401, rCor a 14, rCor a 8, rCra c 6, rCuc m 2, rCyn d 1, rCyp c 1, rCyp c 2, rDer f 1, rDer f 15, rDer f 18, rDer f 2, rDer p 1, rDer p 10, rDer p 2, rDer p 20, rDer p 21, rDer p 23, rDer p 5, rDer p 7, rDol m 2, rDol m 5, rEqu c 1, rEqu c 4, rFel d 1, rFel d 2, rFel d 4, rFel d 7, rFra a 3, rFra e 1, rGad m 1, rGal d 1, rGal d 7, rGly d 2, rGly m 4, rGly m 8, rHel a 3, rHev b 1, rHev b 11, rHev b 3, rHev b 5, rHev b 6.02, rHom s LF, rJug r 1, rJug r 2, rJug r 3, rJug r 6, rLen c 1, rLen c 3, rLep d 2, rMac r 1, rMac r 2, rMal d 1, rMal d 3, rMala s 11, rMala s 13, rMala s 5, rMala s 6, rMan i 1, rMes a 1, rMus a 2, rMus a 5, rMus m 1, rOle e 1, rOle e 9, rOry c 1, rOry c 2, rOry c 3, rPar j 2, rPen m 1, rPen m 2, rPen m 3, rPen m 4, rPer a 6, rPer a 7, rPers a 1, rPhl p 1, rPhl p 12, rPhl p 2, rPhl p 5.0101, rPhl p 6, rPhl p 7, rPhod s 1, rPin p 1, rPis s 1, rPis s 2, rPis s 3, rPis v 1, rPla a 1, rPla a 3, rPla l 1, rPol d 5, rPru av 3, rPru p 3, rPru p 7, rQue a 1, rRaj c Parvalbumin, rRat n 1, rSal k 1, rSal k 5, rSal s 1, rSco s 1, rSes i 1, rSin a 1, rSola l 6, rSus d 1, rThu a 1, rTri a 14, rTri a 19, rTri a 36, rTri a 37, rTyr p 10, rTyr p 2, rVes v 1, rVes v 5, rVit v 1, rXip g 1, rZea m 14



## RIFERIMENTI

1. Hamilton, R.G. (2008). Assessment of human allergic diseases. *Clinical Immunology*. 1471-1484. doi: 10.1016/B978-0-323-04404-2.10100-9.
2. Harwanegg C, Laffer S, Hiller R, Mueller MW, Kraft D, Spitzauer S, Valenta R. Microarrayed recombinant allergens for diagnosis of allergy. *Clin Exp Allergy*. 2003 Jan;33(1):7-13. doi: 10.1046/j.1365-2222.2003.01550.x. PMID: 12534543.
3. Hiller R, Laffer S, Harwanegg C, Huber M, Schmidt WM, Twardosz A, Barletta B, Becker WM, Blaser K, Breiteneder H, Chapman M, Cramer R, Duchêne M, Ferreira F, Fiebig H, Hoffmann-Sommergruber K, King TP, Kleber-Janke T, Kurup VP, Lehrer SB, Lidholm J, Müller U, Pini C, Reese G, Scheiner O, Scheynius A, Shen HD, Spitzauer S, Suck R, Swoboda I, Thomas W, Tinghino R, Van Hage-Hamsten M, Virtanen T, Kraft D, Müller MW, Valenta R. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB J*. 2002 Mar;16(3):414-6. doi: 10.1096/fj.01-0711fje. Epub 2002 Jan 14. PMID: 11790727
4. Ferrer M, Sanz ML, Sastre J, Bartra J, del Cuvillo A, Montoro J, Jáuregui I, Dávila I, Mullol J, Valero A. Molecular diagnosis in allergology: application of the microarray technique. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19 Suppl 1:19-24. PMID: 19476050.
5. Ott H, Fölster-Holst R, Merk HF, Baron JM. Allergen microarrays: a novel tool for high-resolution IgE profiling in adults with atopic dermatitis. *Eur J Dermatol*. 2010 Jan-Feb;20(1):54-61. doi: 10.1684/ejd.2010.0810. Epub 2009 Oct 2. PMID: 19801343.
6. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010 Oct;40(10):1442-60. doi: 10.1111/j.1365-2222.2010.03585.x. Epub 2010 Aug 2. PMID: 20682003.
7. Gislefoss RE, Grimsrud TK, Mørkrid L. Stability of selected serum proteins after long-term storage in the Janus Serum Bank. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(5):596-603. doi: 10.1515/CCLM.2009.121. PMID: 19290843.
8. Henderson CE, Ownby D, Klebanoff M, Levine RJ. Stability of immunoglobulin E (IgE) in stored obstetric sera. *J Immunol Methods*. 1998 Apr 1;213(1):99-101. doi: 10.1016/S0022-1759(98)00014-3. PMID: 9671128.
9. Rodríguez-Capote K, Schnabl KL, Maries OR, Janzen P, Higgins TN. Stability of specific IgE antibodies to common food and inhalant allergens. *Clin Biochem*. 2016 Dec;49(18):1387-1389. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2016.03.003. Epub 2016 Mar 16. PMID: 26994557.
10. Martins TB, Bandhauer ME, Bunker AM, Roberts WL, Hill HR. New childhood and adult reference intervals for total IgE. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Feb;133(2):589-91.
11. CLSI Protocols for Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline Third Edition CLSI Document EP5-A3 (ISBN 1-56238-968-8) 2014.
12. CLSI Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guidelines. CLSI document EP17-A2 (ISBN ISBN 1-56238-796-0), 2012.



## CRONOLOGIA DELLE MODIFICHE

Versione	Descrizione	Data di emissione	Sostituisce
02	Adaptation to English IFU Version 03	09-2025	01



© Copyright di MacroArray Diagnostics

MacroArray Diagnostics (MADx)

Lemböckgasse 59, Top 4

1230 Vienna, Austria

+43 (0)1 865 2573

[www.madx.com](http://www.madx.com)

Numero versione: 03-IFU-01-IT-02