



ALEX³ ALLERGY XPLORE

MODE D'EMPLOI

TABLE DES MATIÈRES

I.	AVERTISSEMENT RELATIF AUX TRADUCTIONS	2
II.	DÉCLARATION DE RESPONSABILITÉ	2
III.	DESCRIPTION	2
IV.	DESTINATION	3
V.	RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST	3
VI.	PRINCIPE DE LA MÉTHODE	4
VII.	EXPÉDITION ET STOCKAGE	4
VIII.	ÉLIMINATION des déchets	5
IX.	GLOSSAIRE DES SYMBOLES	5
X.	COMPOSANTS DU KIT	7
XI.	ÉQUIPEMENT REQUIS POUR LE TRAITEMENT ET L'ANALYSE	11
XII.	MANIPULATION DES MATRICES	11
XIII.	AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	12
XIV.	PROCÉDURE D'ESSAI	13
XV.	CONTRÔLE QUALITÉ	20
XVI.	ANALYSE DES DONNÉES	21
XVII.	RÉSULTATS	21
XVIII.	LIMITES DE LA MÉTHODE	21
XIX.	VALEURS ATTENDUES	22
XX.	CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	22
XXI.	GARANTIE	27
XXII.	ABRÉVIATIONS	28



I. AVERTISSEMENT RELATIF AUX TRADUCTIONS

La présente notice d'utilisation est fournie en plusieurs langues conformément au règlement (UE) 2017/746. En cas de divergence ou d'incohérence entre la version anglaise et toute version traduite, la version anglaise prévaudra et sera considérée comme la référence faisant autorité.

II. DÉCLARATION DE RESPONSABILITÉ

L'exactitude de cette notice d'utilisation a été vérifiée. Les instructions relatives à l'ALEX³ Allergy Xplorer étaient correctes au moment de la publication. Les versions ultérieures de ce guide peuvent être mises à jour sans préavis.

Le kit ALEX³ Allergy Xplorer est un dispositif de diagnostic in vitro destiné à être utilisé uniquement par du personnel de laboratoire qualifié. Le kit ALEX³ Allergy Xplorer ne peut être utilisé que pour l'usage auquel il est destiné, conformément à ce mode d'emploi. Le mode d'emploi doit être respecté sans exception. Si vous n'êtes pas familiarisé avec l'utilisation du kit ALEX³ Allergy Xplorer, vous êtes tenu d'obtenir des informations auprès de MacroArray Diagnostics (MADx) avant de l'utiliser. MADx décline toute responsabilité en cas d'utilisation inappropriée du kit ALEX³ Allergy Xplorer.

MADx ne pourra être tenu responsable d'un quelconque préjudice ou dommage matériel résultant, directement ou indirectement, d'erreurs contenues dans la présente notice d'utilisation qu'en cas de faute intentionnelle ou de négligence grave.

En ce qui concerne les dommages corporels, la responsabilité de MADx est limitée aux dispositions légales impératives applicables.

Si une clause ou une disposition de la présente notice d'utilisation est jugée illégale ou inapplicable, en tout ou en partie, en vertu d'une loi ou d'une règle de droit, cette clause, disposition ou partie sera réputée ne pas faire partie de la présente notice d'utilisation, sans que la validité ou la force exécutoire du reste de celle-ci n'en soit affectée. La présente notice d'utilisation est protégée par le droit d'auteur. Aucune partie de celle-ci ne peut être reproduite, copiée ou transmise sous quelque forme que ce soit, y compris sous forme électronique ou lisible par machine, sans l'autorisation écrite préalable de MADx.

III. DESCRIPTION

ALEX³ Allergy Xplorer (ALEX³) est un test de diagnostic in vitro basé sur un dosage immuno-enzymatique (ELISA) pour la mesure quantitative des IgE spécifiques d'allergènes (sIgE). Il peut être utilisé comme test manuel en combinaison avec le dispositif ImageXplorer (REF 11-0000-01) ou comme test automatisé avec les systèmes MAX 9k (REF 17-0000-01) ou MAX 45k (REF 16-0000-01).

Ce mode d'emploi s'applique aux produits suivants :



UDI-DI de base	REF	Réf
91201229203JS	03-2001-01	ALEX ³ pour 20 analyses
	03-5001-01	ALEX ³ pour 50 analyses

IV. DESTINATION

ALEX³ Allergy Xplorer est un kit de test utilisé pour l'examen in vitro du sérum ou du plasma humain (à l'exception du plasma EDTA) afin de fournir des informations destinées à faciliter le diagnostic des patients souffrant de maladies à médiation IgE, en association avec d'autres résultats cliniques ou diagnostiques.

Ce dispositif médical IVD détecte quantitativement les IgE spécifiques d'allergènes (sIgE) et les IgE totales (tIgE) dans une plage de 2 à 1 000 kU/l (semi-quantitative 1 001-2 500 kU/l). Le produit est utilisé par du personnel de laboratoire qualifié et des professionnels de santé dans un laboratoire médical.

V. RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

Les réactions allergiques sont des réactions d'hypersensibilité de type I immédiates, médiées par des anticorps appartenant à la classe des immunoglobulines IgE. Après exposition à des allergènes spécifiques, la libération d'histamine et d'autres médiateurs par les mastocytes et les basophiles, sous l'effet des IgE, entraîne des manifestations cliniques telles que l'asthme, la rhino-conjonctivite allergique, l'eczéma atopique et des symptômes gastro-intestinaux [1]. Par conséquent, un profil de sensibilisation détaillé à des allergènes spécifiques facilite l'évaluation des patients allergiques [2-6]. Il n'y a aucune restriction quant à la population testée. Lors de l'élaboration des tests IgE, l'âge et le sexe ne sont généralement pas considérés comme des facteurs critiques, car les taux d'IgE mesurés dans ces tests ne varient pas de manière significative en fonction de ces données démographiques.

Toutes les principales sources d'allergènes de type I sont couvertes par ALEX³. Une liste complète des extraits d'allergènes et des allergènes moléculaires ALEX³ est disponible à la fin de cette notice.

Informations importantes pour l'utilisateur !

Pour une utilisation correcte d'ALEX³, il est nécessaire que l'utilisateur lise attentivement et suive ces instructions d'utilisation. Le fabricant décline toute responsabilité en cas d'utilisation de ce système de test non décrite dans ce document ou en cas de modifications apportées par l'utilisateur du système de test.

Attention : la variante de kit 03-2001-01 du test ALEX³ (20 matrices) est exclusivement destinée à un traitement manuel. Pour utiliser cette variante de kit ALEX³ avec le MAX 9k automatisé, la Washing Solution (REF 00-5003-01) et la Stop Solution (REF 00-5007-01) doivent être commandées séparément. Vous trouverez toutes les informations complémentaires sur le produit dans le mode d'emploi correspondant : <https://www.madx.com/extras>.



La variante de kit ALEX³ 03-5001-01 (50 matrices) doit être utilisée pour le traitement automatisé avec le MAX 9k (REF 17-0000-01) ou avec le MAX 45k (REF 16-0000-01), en aucun cas avec l'appareil ImageXplorer (REF 11-0000-01).

VI. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

ALEX³ est un test immunologique basé sur le dosage immuno-enzymatique (ELISA). Des extraits d'allergènes ou des allergènes moléculaires, couplés à des nanoparticules, sont déposés de manière systématique sur une phase solide formant un réseau macroscopique. Tout d'abord, les allergènes liés aux particules réagissent avec les IgE spécifiques présentes dans l'échantillon du patient. Après incubation, les IgE non spécifiques sont éliminées par lavage. La procédure se poursuit par l'ajout d'un anticorps de détection anti-IgE humaine marqué par une enzyme qui forme un complexe avec les IgE spécifiques liées aux particules. Après une deuxième étape de lavage, un substrat est ajouté, qui est converti en un précipité coloré insoluble par l'enzyme liée à l'anticorps. Enfin, la réaction enzyme-substrat est arrêtée par l'ajout d'un réactif bloquant. La quantité de précipité est proportionnelle à la concentration d'IgE spécifiques dans l'échantillon du patient. La procédure de test en laboratoire est suivie de l'acquisition et de l'analyse des images à l'aide du système manuel (ImageXplorer) ou du système automatisé (MAX 45k ou MAX 9k). Les résultats du test sont analysés à l'aide du RAPTOR SERVER Analysis Software et exprimés en unités de réponse IgE (kU_A/l). Les résultats IgE totaux sont également exprimés en unités de réponse IgE (kU/l). RAPTOR SERVER est disponible en version 1. Pour obtenir le numéro de version complet à quatre chiffres, veuillez vous reporter aux mentions légales du RAPTOR SERVER, disponibles sur le lien suivant : www.raptor-server.com/imprint.

VII. EXPÉDITION ET STOCKAGE

La livraison d'ALEX³ s'effectue à température ambiante. Néanmoins, le kit doit être conservé immédiatement après livraison entre 2 et 8 °C. Lorsqu'ils sont conservés correctement, ALEX³ et ses composants peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée.

	Les réactifs du kit sont stables pendant 6 mois après ouverture (dans les conditions de stockage indiquées).
--	---

Expédition et stockage des échantillons

Type d'échantillon	Sérum	Plasma (citrate)	Plasma (héparine)
Stockage à court terme	1 semaine entre 2 et 8 °C (éviter la croissance microbienne)		
Conservation à long terme	25 à 37 ans à -20 °C [7-8]		
Transport	17 jours à température ambiante [9]		



VIII. ÉLIMINATION DES DÉCHETS

Pour garantir une élimination sûre du kit, les utilisateurs doivent respecter les réglementations locales, régionales et nationales en vigueur en matière de gestion des déchets et de protection de l'environnement. Une attention particulière doit être accordée aux composants ou consommables susceptibles de présenter un risque d'infection ou de contamination microbienne (par exemple, les consommables contaminés par des échantillons de sérum humain). Les cartouches ALEX³ usagées et tous les composants inutilisés du kit doivent être éliminés comme des déchets chimiques de laboratoire.

IX. GLOSSAIRE DES SYMBOLES

	Avertissement (pictogramme GHS) Consultez la fiche de données de sécurité pour plus d'informations.
	Référence
	Suffisant pour <n> tests
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Marquage CE (Notified Body 2962: QMD Services GmbH, Zelinkagasse 10/3, 1010 Vienna, Austria)
	Numéro de lot
	Consulter le mode d'emploi
	Fabricant



	Date de fabrication
	Ne pas réutiliser
	Cartridge (cartouche)
	Date limite d'utilisation
	Limite de température
	Attention
	Identifiant unique des dispositifs
	Icône ALEX ³
	MacroArray Diagnostics (MADx)



X. COMPOSANTS DU KIT

Nouvelle nomenclature pour les lots de réactifs

Attention : nous introduisons une nouvelle nomenclature des lots pour tous les réactifs MADx (la nomenclature des cartouches n'est pas concernée).

Les kits ALEX³ portant le numéro de lot 03EAA01 et les lots produits ultérieurement seront concernés par ce changement.

Informations importantes :

- **Aucun changement pour les étiquettes des cartouches**
- Les réactifs spécifiques d'un lot de réactifs porteront la même nomenclature sur l'étiquette et pourront être combinés avec des cartouches de lots différents.
Seules **les positions 1 et 2** de notre **code à trois lettres** pour les réactifs seront modifiées. Par exemple :
 - Les réactifs portant l'étiquette **DAA** peuvent être combinés avec les lots de cartouches **DAA, DAB, DAC, DAD, ... jusqu'à DAT**.
 - Les réactifs portant l'étiquette **DBA** peuvent être combinés avec les lots de cartouches **DBA, DBB, DBC, DBD, ... jusqu'à DBT**.
- Le RAPTOR SERVER Analysis Software a déjà été mis à jour pour refléter ces changements. **Aucune action n'est requise de la part des clients.**
Le RAPTOR SERVER reconnaîtra et combinera les cartouches correctes avec les réactifs correspondants.

Chaque composant (réactif) est stable jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette de chaque composant individuel. Ne combinez pas et ne mélangez pas des réactifs provenant de lots différents (deux premières lettres différentes). Pour obtenir la liste complète des extraits d'allergènes et des allergènes moléculaires immobilisés sur la matrice ALEX³, veuillez contacter pm@macroarraydx.com.

Composants du kit REF 03-2001-01	Contenu	Propriétés (les ingrédients réactifs sont soulignés)
ALEX ³ Cartridge (cartouche)	2 blisters de 10 ALEX ³ pour 20 analyses au total. Calibrage via courbe de référence disponible via le RAPTOR SERVER Analysis Software.	Cartouche en polystyrène contenant un <u>test immunologique en phase solide</u> . Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption.
ALEX ³ Sample Diluent	1 flacon de 9 ml	<u>CCD Blocker</u> , tampon TBS-Tween (0,2 %), < 0,1 % d'azide de sodium. Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption. Laisser le réactif atteindre la température



Composants du kit REF 03-2001-01	Contenu	Propriétés (les ingrédients réactifs sont soulignés)
		ambiante avant utilisation. Une fois ouvert, le réactif est stable pendant 6 mois entre 2 et 8 °C.
Washing Solution	2 flacons de 50 ml	<u>Tampon TBS-Tween (0,2 %)</u> , < 0,1 % d'azide de sodium. Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption. Laisser le réactif atteindre la température ambiante avant utilisation. Une fois ouvert, le réactif est stable pendant 6 mois entre 2 et 8 °C.
ALEX ³ Detection Antibody	1 flacon de 11 ml	<u>Anticorps de détection anti-IgE humaine</u> dans un tampon conjugué avec additifs. Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption. Laisser le réactif atteindre la température ambiante avant utilisation. Une fois ouvert, le réactif est stable pendant 6 mois entre 2 et 8 °C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 flacon de 11 ml	<u>Substrat NBT/BCIP</u> (NBT : chlorure de 4-nitro bleu tétrazolium, solution, BCIP : 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate, sel de 4-toluidine). Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption. Laisser le réactif atteindre la température ambiante avant utilisation. Une fois ouvert, le réactif est stable pendant 6 mois à une température comprise entre 2 et 8 °C.



Composants du kit REF 03-2001-01	Contenu	Propriétés (les ingrédients réactifs sont soulignés)
(ALEX ³) Stop Solution	1 flacon de 2,4 ml	<u>Acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA)</u> - Solution Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption. Laisser le réactif atteindre la température ambiante avant utilisation. Une fois ouvert, le réactif est stable pendant 6 mois entre 2 et 8 °C. Une solution trouble peut apparaître après un stockage prolongé. Cela n'a aucune incidence sur les résultats.

Composants du kit REF 03-5001-01	Contenu	Propriétés (les ingrédients réactifs sont soulignés)
ALEX ³ Cartridge (cartouche)	5 blisters de 10 ALEX ³ pour 50 analyses au total. Calibrage via courbe maître disponible via le RAPTOR SERVER Analysis Software.	Cartouche en polystyrène contenant un <u>test immunologique en phase solide</u> . Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption.
ALEX ³ Sample Diluent	1 flacon de 30 ml	<u>CCD Blocker</u> , tampon TBS-Tween (0,2 %), < 0,1 % d'azide de sodium. Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date d'expiration. Laisser le réactif atteindre la température ambiante avant utilisation. Une fois ouvert, le réactif est stable pendant 6 mois entre 2 et 8 °C.
Washing Solution	4 x conc. 1 flacon de 250 ml	<u>Tampon TBS-Tween (0,2 %)</u> , < 0,1 % d'azide de sodium. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date d'expiration. Avant utilisation, diluer 1 partie de Washing Solution 4x conc. dans 4 parties d'eau déminéralisée (250 ml de Washing Solution 4x conc. + 750 ml d'eau déminéralisée). Laisser le réactif atteindre la température ambiante avant utilisation. Une fois ouvert, le



Composants du kit REF 03-5001-01	Contenu	Propriétés (les ingrédients réactifs sont soulignés)
		réactif est stable pendant 6 mois entre 2 et 8 °C.
ALEX ³ Detection Antibody	1 flacon de 30 ml	<u>Anticorps anti-IgE humain</u> dans un tampon conjugué avec additifs. Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption. Laisser le réactif atteindre la température ambiante avant utilisation. Une fois ouvert, le réactif est stable pendant 6 mois entre 2 et 8 °C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 flacon de 30 ml	<u>Substrat NBT/BCIP</u> . Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption. Laisser le réactif atteindre la température ambiante avant utilisation. Une fois ouvert, le réactif est stable pendant 6 mois entre 2 et 8 °C.
(ALEX ³) Stop Solution	1 flacon de 10 ml	Solution <u>EDTA</u> . Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption. Laisser le réactif atteindre la température ambiante avant utilisation. Une fois ouvert, le réactif est stable pendant 6 mois entre 2 et 8 °C. Une solution trouble peut apparaître après un stockage prolongé. Cela n'a aucune incidence sur les résultats.



XI. ÉQUIPEMENT REQUIS POUR LE TRAITEMENT ET L'ANALYSE

Accessoires	Description
Accessoires/produits pour le traitement <u>MANUEL</u>	
ImageXplorer (REF 11-0000-01)	Dispositif d'imagerie spécialement conçu pour acquérir des images de cartouches de test basées sur la technologie ALEX pour la manipulation <u>manuelle</u>
Array holder (en option)	Produit facilitant la manipulation des cartouches lors du traitement <u>manuel</u>
Lab Rocker	Un plateau d'agitation vertical est nécessaire pendant la procédure de test <u>manuelle</u> (L x P x H – 28 x 15 x 33 cm, angle d'inclinaison 8°, vitesse requise 8 tr/min).
Incubation chamber	Nécessaire pendant la procédure de test <u>manuelle</u> (L x P x H – 35 x 25 x 2 cm)
Accessoires/produits pour le traitement <u>AUTOMATISÉ</u>	
Systèmes MAX : MAX 45k (REF 16-0000-01) MAX 9k (REF 17-0000-01)	Instruments pour le traitement <u>automatisé</u> des cartouches de test basées sur la technologie ALEX
Washing Solution 4x conc. (REF 00-5003-01)	Réactifs pour le traitement <u>automatisé</u> des cartouches de test basées sur la technologie ALEX. La solution de lavage et la solution d'arrêt sont des composants du kit, mais peuvent également être achetées séparément si des volumes plus importants sont nécessaires.
Stop Solution (REF 00-5007-01)	
Autres accessoires/produits requis	
RAPTOR SERVER Analysis Software (REF 22-0000-01)	Logiciel pour l'acquisition et l'analyse des images prises par les systèmes ImageXplorer ou MAX.
PC ou ordinateur portable	-
Pipettes et embouts	10 - 100 µl et 100 - 1000 µl
Eau déminéralisée	-

XII. MANIPULATION DES MATRICES

Ne touchez pas la surface de la matrice. Tout défaut de surface causé par des objets contondants ou tranchants peut nuire à la lecture correcte des résultats. N'acquérir aucune image ALEX³ avant que le réseau soit complètement sec (à température ambiante).



XIII. AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

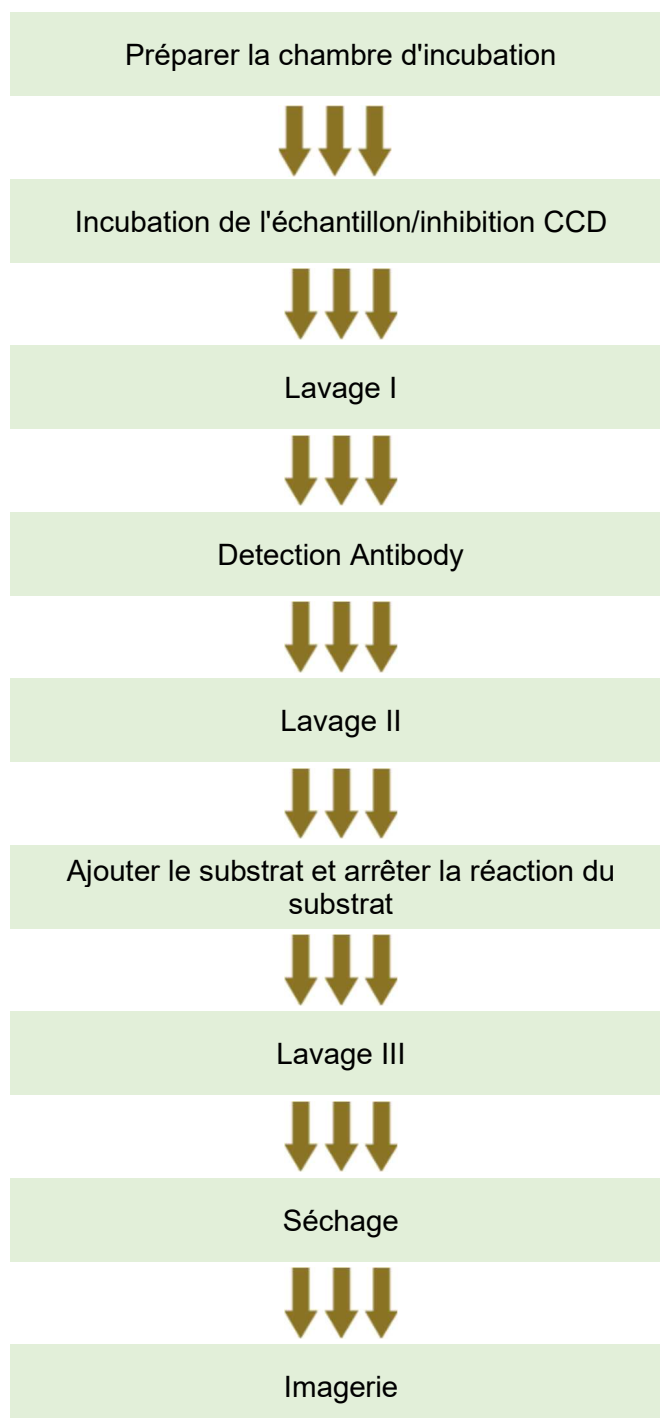
- Il est recommandé de porter des gants et des lunettes de protection ainsi qu'une blouse de laboratoire et de respecter les bonnes pratiques de laboratoire lors de la préparation et de la manipulation des réactifs et des échantillons.
- Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, tous les matériaux d'origine sanguine (par exemple, les ingrédients des réactifs ou autres composants) doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés avec les mêmes précautions que les échantillons sanguins.
- ALEX³ Sample Diluent et Washing Solution contiennent de l'azide de sodium (<0,1 %) comme conservateur et doivent être manipulés avec précaution. Une fiche de données de sécurité est disponible sur demande.
- La solution Stop Solution (ALEX³) contient de l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) et doit être manipulée avec précaution. La fiche de données de sécurité est disponible sur demande.
- À usage diagnostique in vitro uniquement. Ne pas utiliser en interne ou en externe chez l'homme ou l'animal.
- Ce kit doit être utilisé uniquement par du personnel formé aux pratiques de laboratoire.
- À la réception, vérifiez que les composants du kit ne sont pas endommagés. Si l'un des composants est endommagé (par exemple, les flacons de tampon), contactez MADx (support@madx.com) ou votre distributeur local. N'utilisez pas les composants endommagés du kit, car leur utilisation pourrait nuire aux performances du kit.
- N'utilisez pas les réactifs après leur date de péremption.
- Ne mélangez pas les réactifs provenant de lots différents.
- Les cartouches ALEX³ sont à **usage unique** et ne doivent pas être réutilisées. Les réactifs peuvent être ouverts et réutilisés dans un délai de 6 mois à compter de la date de première ouverture ou jusqu'à épuisement du contenu du kit, selon la première éventualité.
- Pour des instructions détaillées sur l'élimination sûre du dispositif, reportez-vous au chapitre VIII du mode d'emploi.
- Les mentions P et H suivantes s'appliquent à la Stop Solution : H319 - Provoque une sévère irritation des yeux ; P264 - Se laver la peau après utilisation ; P305+ P351+ P338 - En cas de contact avec les yeux : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si le produit s'y trouve et si elles peuvent être facilement enlevées avec le doigt. Continuer à rincer ; P337 + P313 - Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin.
- Tout **incident grave** lié à l'utilisation de ce dispositif doit être signalé au **fabricant** à l'adresse support@madx.com et à **l'autorité compétente** de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.



XIV. PROCÉDURE D'ESSAI

Procédure d'analyse manuelle

Les kits ALEX³ peuvent être utilisés comme test manuel en combinaison avec l'appareil ImageXplorer (REF 11-0000-01).





Préparatifs

Préparation des échantillons : des échantillons de sérum ou de plasma (héparine, citrate, sans EDTA) provenant de sang capillaire ou veineux peuvent être utilisés. Les échantillons de sang peuvent être prélevés selon les procédures standard. Conservez les échantillons à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant une semaine maximum. Conservez les échantillons de sérum et de plasma à -20 °C pour une conservation prolongée. L'expédition des échantillons de sérum/plasma à température ambiante est possible. Toujours laisser les échantillons atteindre la température ambiante avant utilisation.

Chambre d'incubation: Fermez le couvercle pendant toutes les étapes du test afin d'éviter toute baisse d'humidité.

Paramètres de la procédure :

- 100 µl d'échantillon + 400 µl d'ALEX³ Sample Diluent
- 500 µl d'ALEX³ Detection Antibody
- 500 µl de ALEX³ Substrate Solution
- 100 µl (ALEX³) Stop Solution
- 4500 µl de Washing Solution

La durée du test est d'environ 3 h 30 min (sans séchage de la matrice traitée).

Il n'est pas recommandé d'effectuer plus de tests que ce qui peut être pipeté en 8 minutes. Toutes les incubations sont effectuées à température ambiante, entre 20 et 26 °C.



Tous les réactifs doivent être utilisés à température ambiante (20-26 °C). Le test ne doit pas être effectué à la lumière directe du soleil.

Préparation de la chambre d'incubation

Ouvrez la chambre d'incubation et placez du papier absorbant sur le fond. Imbibez les serviettes en papier avec de l'eau déminéralisée jusqu'à ce qu'aucune partie sèche ne soit visible.

Exécution manuelle du test

1. Incubation de l'échantillon/inhibition CCD

Prélevez le nombre nécessaire de cartouches ALEX³ et placez-les dans le ou les supports de cartouches. Ajoutez 400 µl de (ALEX³) Sample Diluent dans chaque cartouche. Ajoutez 100 µl de l'échantillon patient dans les cartouches. Veillez à ce que la solution obtenue soit répartie uniformément. Placez les cartouches dans la chambre d'incubation préparée, puis placez la chambre d'incubation contenant les cartouches sur le lab rocker, de façon que les cartouches se balancent le long de leur côté longitudinal.



Démarrez l'incubation du sérum à 8 tr/min pendant 2 heures. Fermez la chambre d'incubation avant de démarrer le lab rocker.

Après 2 heures, évacuez les échantillons dans un récipient de collecte. Essayez soigneusement les gouttelettes présentes sur les cartouches à l'aide d'un papier absorbant.



Évitez de toucher la surface de la matrice avec le papier absorbant ! Évitez tout transfert ou contamination croisée des échantillons entre les différentes cartouches ALEX³ !

Hom s LF (marqueur CCD) facultatif ou positif : Avec le protocole standard d'inhibition des anticorps CCD (tel que décrit au paragraphe 2 : incubation des échantillons/inhibition CCD), 98 % de tous les échantillons testés présentent un résultat négatif pour le marqueur de contrôle de l'inhibition CCD Hom s LF.

Si Hom s LF est positif avec le protocole standard, la procédure suivante est recommandée :

Préparez un tube à échantillon de 1 ml, ajoutez 400 µl d'ALEX³ Sample Diluent et 100 µl de sérum. Incubez pendant 30 minutes (sans agiter), puis procédez comme d'habitude.

Remarque : l'étape supplémentaire d'inhibition de la CCD conduit dans de nombreux cas, mais pas dans tous, à une inhibition complète des anticorps CCD (Hom s LF négatif).

1a. Lavage I

Ajoutez 500 µl de Washing Solution dans chaque cartouche et incubez sur le lab rocker (à 8 tr/min) pendant 5 minutes. Vider la Washing Solution dans un récipient collecteur et tapoter vigoureusement les cartouches sur une pile de serviettes en papier sèches. Essayez soigneusement les gouttelettes restantes sur les cartouches à l'aide d'une serviette en papier.

Répétez cette étape 2 fois supplémentaires.

2. Ajoutez la Detection Antibody

Ajoutez 500 µl d'ALEX³ Detection Antibody dans chaque cartouche.



Assurez-vous que toute la surface de la matrice est recouverte par la solution ALEX³ Detection Antibody.

Placez les cartouches dans la chambre d'incubation sur le lab rocker et incubez à 8 tr/min pendant 30 minutes.



Évacuez la Detection Antibody Solution dans un récipient de collecte, puis tapez vigoureusement les cartouches sur une pile de papiers absorbants secs. Essayez soigneusement les gouttelettes résiduelles présentes sur les cartouches à l'aide d'un support absorbant en papier.

2a. Lavage II

Ajoutez 500 µl de Washing Solution dans chaque cartouche et incubez sur le lab rocker à 8 tr/min pendant 5 minutes. Videz la Washing Solution dans un récipient collecteur et tapotez vigoureusement les cartouches sur une pile de papiers absorbants secs. Essayez soigneusement les gouttelettes restantes sur les cartouches à l'aide d'un papier absorbant.

Répétez cette étape 4 fois supplémentaires.

3+4. Ajoutez la ALEX³ Substrate Solution et arrêtez la réaction du substrat

Ajoutez 500 µl de ALEX³ Substrate Solution dans chaque cartouche. Démarrez un minuteur lorsque vous remplissez la première cartouche et procédez au remplissage des cartouches restantes. Assurez-vous que toute la surface de la matrice est recouverte par la solution de substrat et incubez les matrices pendant exactement 8 minutes sans agiter (**lab rocker à 0 tr/min et en position horizontale**).

Après exactement 8 minutes, ajoutez 100 µl de (ALEX³) Stop Solution à toutes les cartouches, en commençant par la première cartouche afin de vous assurer que toutes les matrices sont incubées pendant le même laps de temps avec la solution ALEX³ Substrate Solution. Agitez soigneusement pour répartir uniformément la solution (ALEX³) Stop Solution dans les cartouches de la matrice, après avoir pipeté la solution (ALEX³) Stop Solution sur toutes les matrices. Videz ensuite la solution (ALEX³) Substrate/Stop Solution des cartouches et tapotez vigoureusement les cartouches sur une pile de papier absorbant sec. Essayez soigneusement toute gouttelette restante sur les cartouches à l'aide d'un papier absorbant.



Le Lab Rocker ne doit PAS ÊTRE AGITÉ pendant l'incubation du substrat !

4a. Lavage III

Ajoutez 500 µl de Washing Solution dans chaque cartouche et incubez sur le Lab Rocker à 8 tr/min pendant 30 secondes. Vider la Washing Solution dans un récipient de collecte et tapotez vigoureusement les cartouches sur une pile de papier absorbant sec. Essuyer soigneusement toute gouttelette restante sur les cartouches à l'aide de papier absorbant.



5. Acquisition des images d'analyse

Une fois la procédure de test terminée, laissez sécher les matrices à l'air libre à température ambiante jusqu'à ce qu'elles soient complètement sèches (cela peut prendre jusqu'à 45 minutes). Si les matrices nécessitent une période de séchage plus longue, elles doivent être conservées à l'abri de la lumière jusqu'à leur analyse.



Le séchage complet est essentiel pour la sensibilité du test. Seuls les réseaux complètement secs offrent un rapport signal/bruit optimal.

Les matrices séchées sont ensuite scannées à l'aide de l'ImageXplorer.

Procédure de test automatisée

Les kits ALEX³ peuvent être utilisés pour un test automatisé avec les systèmes MAX 9k (REF 17-0000-01) ou MAX 45k (REF 16-0000-01). Ces produits médicaux IVD traitent automatiquement les réseaux basés sur la technologie ALEX et acquièrent des images de ceux-ci.



Le personnel doit être formé à l'utilisation des systèmes MAX (MAX 45k ou MAX 9k). La version actuelle du mode d'emploi MAX (systèmes) est disponible ci-après : <https://www.madx.com/extras>.

Préparatifs

Préparation des échantillons : des échantillons de sérum ou de plasma (héparine, citrate, sans EDTA) provenant de sang capillaire ou veineux peuvent être utilisés. Les échantillons de sang peuvent être prélevés selon les procédures standard. Conservez les échantillons à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant une semaine maximum. Conservez les échantillons de sérum et de plasma à -20 °C pour une conservation prolongée. L'expédition des échantillons de sérum/plasma à température ambiante est possible. Laissez toujours les échantillons atteindre la température ambiante avant utilisation.

Préparation de la solution de lavage (uniquement pour les références 03-5001-01 et 00-5003-01 en cas d'utilisation avec le système MAX) : Versez le contenu d'un flacon de solution de lavage dans le récipient de lavage de l'instrument. Complétez avec de l'eau déminéralisée jusqu'au repère rouge et mélangez soigneusement la solution plusieurs fois sans faire mousser. Le réactif ouvert est stable pendant 6 mois à une température comprise entre 2 et 8 °C.



Exécution automatique du test

Les instructions relatives à l'exécution d'un test sont fournies dans les sous-chapitres XVII.7-10 du mode d'emploi MAX et doivent être respectées.

En fonction du volume de l'échantillon, deux modes de fonctionnement sont disponibles pour l'utilisation d'ALEX³ : prédilué manuellement et non prédilué.

Élément	MAX 45k	MAX 9k
Tubes à faible volume	Tubes "false-bottom" Sarstedt 2,5 ml, 75 x 13 (ronds) Référence : 60.614.010	
Volume d'échantillon minimum pour 1 test ALEX ³ , tube pour petits volumes	Non prédilué : 200 µl Prédilué manuellement : 120 µl de sérum + 480 µl de Sample Diluent	
Tubes standard de 13 mm	Hauteur : 75-100 mm Exemple : tubes Sarstedt 5 ml 75x13 mm Référence PS : 55.475 À utiliser avec l'adaptateur fourni	Hauteur : 75 mm Exemple : tubes Sarstedt 5 ml 75 x 13 mm PS Référence : 55.475
Tubes standard de 16 mm	Hauteur minimale : 75 mm, hauteur maximale : 100 mm Exemple : tubes Sarstedt 13 ml 100 x 16 mm Référence PS : 55.459	-
Volume d'échantillon minimum pour 1 test ALEX ³ , tube standard de 13/16 mm	Non prédilué : 400 µl Prédilué manuellement : 145 µl de sérum + 580 µl de Sample Diluent	



Avant d'utiliser tout autre tube que ceux spécifiés ci-dessus, veuillez contacter l'assistance MADx ou votre distributeur.

Les exigences détaillées relatives aux tubes et les instructions de dilution sont disponibles dans le chapitre XXI (Spécifications techniques) du mode d'emploi MAX. La version actuelle du mode d'emploi MAX (Systèmes) est disponible ici : <https://www.madx.com/extras>.

Hom s LF (marqueur CCD) facultatif ou positif : Avec le protocole standard d'inhibition des anticorps CCD (tel que décrit au paragraphe 2 : incubation de l'échantillon/inhibition CCD), 98 % de tous les échantillons testés présentent un résultat négatif pour le marqueur de contrôle de l'inhibition CCD Hom s LF.

Si Hom s LF est positif avec le protocole standard, les échantillons de sérum doivent être prédilués manuellement (voir tableau ci-dessus) et incubés pendant 30 minutes (sans agitation) avant de placer les tubes d'échantillons dans le carrousel d'échantillons.



Analyse d'image

Les matrices ALEX numérisées sont analysées à l'aide du logiciel RAPTOR SERVER Analysis Software (voir la notice d'utilisation du RAPTOR SERVER sur <https://www.madx.com/extras>)

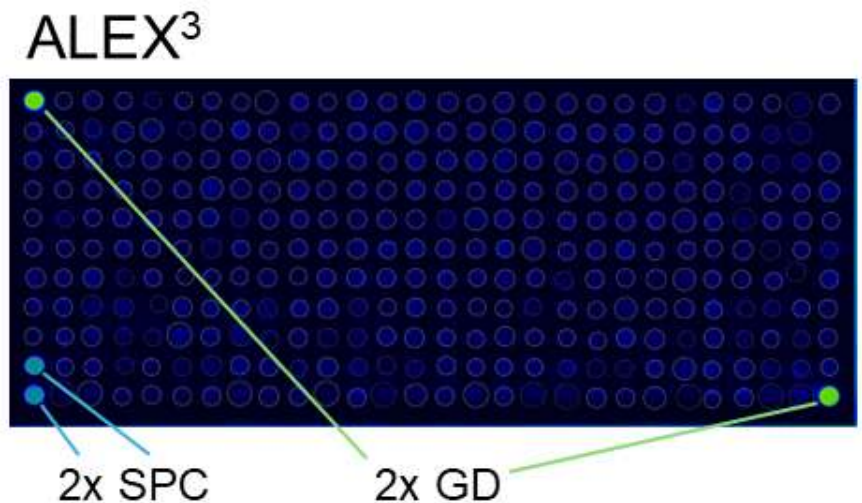
Le logiciel RAPTOR SERVER Analysis Software a été validé uniquement pour une utilisation avec l'instrument ImageXplorer et les systèmes MAX. Par conséquent, MADx ne peut être tenue responsable des résultats générés à l'aide d'un autre dispositif de capture d'images (par exemple un scanner). Il y a deux points de contrôle du pipetage des échantillons (Sample Pipetting Control; SPC) sur ALEX³. Ces deux points permettent de s'assurer que les échantillons des patients ont bien été transférés vers chaque matrice de la série de tests correspondante. Après le traitement, les points SPC doivent être facilement visibles à l'œil nu. S'ils ne sont pas visibles, veuillez contacter votre distributeur local ou l'assistance MADx pour savoir comment procéder. Si les points SPC sont visibles, les échantillons des patients ont été pipetés correctement.

La matrice de mesure avec grille s'affiche dans la zone d'image analytique. Le logiciel identifie automatiquement la position de la matrice dans les données d'image à l'aide des points de guidage (Guide Dots; GD). Il y a 2 points de guidage sur ALEX³.

Après le traitement, les points de repère doivent être facilement visibles à l'œil nu. Veuillez également vérifier leur orientation correcte, comme indiqué dans l'image ci-dessous pour ALEX³. S'ils ne sont pas visibles, veuillez contacter votre distributeur local ou l'assistance MADx pour savoir comment procéder. Si les points de guidage sont visibles, la cartouche peut être analysée plus en détail.

Pendant l'acquisition de l'image d'une cartouche ALEX³, le RAPTOR SERVER évalue le signal de tous les points de guidage ainsi que le signal de fond de la surface de la membrane. Si tous les critères de qualité sont remplis, le champ « automatic QC » sous l'image est défini sur « OK ».

Afin d'exclure l'influence d'artefacts dans l'analyse automatisée des images (points satellites, contaminations de l'échantillon, poussière, taches, etc.), les images doivent être vérifiées par un opérateur qualifié avant que les résultats ne soient approuvés, afin d'exclure tout résultat erroné. En cas de divergences entre la matrice traitée et l'image acquise par le RAPTOR SERVER, veuillez consulter votre distributeur local ou le support MADx.



Étalonnage du test

La courbe d'étalonnage principale ALEX³ a été établie par des tests de référence sur des préparations sériques contenant des IgE spécifiques (slgE) contre différents antigènes couvrant la plage de mesure prévue. Les paramètres d'étalonnage pour chaque lot sont ajustés par un système de test de référence interne, par rapport à des préparations sériques testées avec ImmunoCAP (Thermo Fisher), qui est actuellement considéré comme la « méthode de référence » pour les tests IgE in vitro (publication de référence de la WAO). Il n'existe actuellement aucun matériel de référence pour les slgE. Pour les tlgE, une préparation de référence de l'OMS (11/234) est disponible et a été utilisée pour l'établissement de la courbe de référence des tlgE.

Les résultats slgE sont quantitatifs et exprimés en kU_A/l. Les résultats tlgE (IgE totale) sont exprimés en unités de réponse IgE (kU/l), où 1 kU/l correspond à 2,42 ng/ml. Les résultats IgE totales de 2 à 1000 kU/l sont quantitatifs et calculés à partir de mesures anti-IgE avec des facteurs d'étalonnage spécifiques au lot, qui sont fournis par le RAPTOR SERVER Analysis Software et sélectionnés en fonction des codes QR spécifiques au lot. Pour les tlgE, les résultats de 1001 à 2500 kU/l sont semi-quantitatifs.

Les variations systématiques des niveaux de signal entre les lots sont normalisées par un étalonnage hétérologue par rapport à une courbe de référence IgE. Un facteur de correction est utilisé pour ajuster systématiquement les écarts de mesure spécifiques au lot.

XV. CONTRÔLE QUALITÉ

Tenue d'un registre pour chaque essai

Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, il est recommandé d'enregistrer les numéros de lot de tous les réactifs utilisés.



Échantillons de contrôle

Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, il est recommandé d'inclure des échantillons de contrôle de qualité à intervalles définis. Les valeurs de référence pour certains sérums de contrôle disponibles dans le commerce peuvent être fournies par MADx sur demande.

XVI. ANALYSE DES DONNÉES

Pour l'analyse d'images des matrices traitées, il convient d'utiliser ImageXplorer ou un système MAX. Les images ALEX³ sont automatiquement analysées à l'aide du RAPTOR SERVER Analysis Software et un rapport résumant les résultats est généré pour l'utilisateur.

XVII. RÉSULTATS

ALEX³ détecte quantitativement les sIgE (dans la plage de 0,3 à 50 kU_A/l) et les tIgE (dans la plage de 2 à 1000 kU/l). Pour les taux de tIgE compris entre 1001 et 2500 kU/l, la détection est semi-quantitative.

Les anticorps IgE spécifiques d'allergènes sont exprimés en unités de réponse IgE (kU_A/l), les résultats IgE totaux en kU/l. Le RAPTOR SERVER Analysis Software calcule et rapporte automatiquement les résultats sIgE et tIgE.

Interprétation des résultats

Les résultats du test ALEX³ sont automatiquement analysés et présentés dans un rapport généré par le RAPTOR SERVER Analysis Software. Afin de faciliter l'interprétation clinique des résultats du test, un module logiciel spécialisé, RAVEN Interpretation Guidance, a été mis en place. **Vous trouverez plus de détails sur la génération du rapport RAPTOR SERVER et l'interprétation par RAVEN dans le mode d'emploi du RAPTOR SERVER Analysis Software, sous-chapitres VII.2.1-2.4.**

La version actuelle des instructions d'utilisation du RAPTOR SERVER Analysis Software est disponible à l'adresse suivante : <https://www.madx.com/extras>

XVIII. LIMITES DE LA MÉTHODE

Un diagnostic clinique définitif ne doit être posé qu'en conjonction avec tous les résultats cliniques disponibles par des professionnels de santé et ne doit pas être basé uniquement sur les résultats d'une seule méthode diagnostique.

Dans certains domaines d'application (par exemple, les allergies alimentaires), les anticorps IgE circulants peuvent rester indétectables bien qu'une manifestation clinique d'allergie alimentaire à un certain allergène soit présente, car ces anticorps peuvent être spécifiques à



des allergènes qui sont modifiés au cours de la transformation industrielle, de la cuisson ou de la digestion et n'existent donc pas dans l'aliment d'origine pour lequel le patient est testé.

Des résultats négatifs pour le venin indiquent uniquement des niveaux indétectables d'anticorps IgE spécifiques au venin (par exemple en raison d'une non-exposition à long terme) et n'excluent pas l'existence d'une hypersensibilité clinique aux piqûres d'insectes.

Chez les enfants, en particulier jusqu'à l'âge de 2 ans, la fourchette normale de tIgE est inférieure à celle des adolescents et des adultes [10]. Il faut donc s'attendre à ce que, chez une proportion plus élevée d'enfants de moins de 2 ans, le taux total d'IgE soit inférieur à la limite de détection spécifiée. Cette limitation ne s'applique pas à la mesure spécifique des IgE.

XIX. VALEURS ATTENDUES

Le lien étroit entre les taux d'anticorps IgE spécifiques à un allergène et les maladies allergiques est bien connu et décrit en détail dans la littérature [1]. Chaque patient sensibilisé présente un profil IgE individuel lorsqu'il est testé avec ALEX³. La réponse IgE avec des échantillons provenant d'individus sains non-allergiques sera inférieure à 0,3 kU_A/l pour les allergènes moléculaires uniques et pour les extraits d'allergènes lors d'un test avec ALEX³. La zone de référence pour les IgE totales chez les adultes est inférieure à 100 kU/l. Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent que chaque laboratoire établisse sa propre plage de valeurs attendues.

XX. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Le résumé des caractéristiques de sécurité et de performance est disponible sur le site Web de MADx : <https://www.madx.com/extras>.

1. Exactitude

ALEX³ a démontré une grande précision, comme le montrent la bonne répétabilité (CV de 6,6 %) et la grande fidélité par rapport à la méthode de référence ($R^2 > 0,9$).

(a) Fidélité

La fidélité du test ALEX³ a été évaluée selon le protocole « étude sur un seul site » décrit dans la directive EP05-A3. Dans ce protocole, plusieurs échantillons sont analysés pendant 20 jours, à raison d'un test par jour et de trois réplicats par test (« protocole 20 x 1 x 3 »). L'analyse statistique traite les sources de variation associées aux « jours » et aux « séries » comme des facteurs. Cette méthode permet d'obtenir des estimations pour deux types de fidélité : la répétabilité (= fidélité intra-série) et la précision intra-laboratoire (= fidélité intra-appareil = fidélité totale). [11]



Répétabilité	Résultats
CV [0,3 - 1,0 kU _A /l]	13,7 %
CV [1,0 - 10,0 kU _A /l]	7,0 %
CV [>10,0 kU _A /l]	5,7 %
CV [>1,0 kU _A /l]	6,6 %
Fidélité totale	Résultats
CV [0,3 - 1,0 kU _A /l]	25,7 %
CV [1,0 - 10,0 kU _A /l]	14,4 %
CV [>10,0 kU _A /l]	12,6 %
CV [>1,0 kU _A /l]	13,8 %

(b1) Justesse de la mesure (slgE)

63 échantillons différents ont été testés avec les 3 méthodes ALEX³ et ALEX² (MAX 45k uniquement). Des échantillons sélectionnés ont également été testés avec la méthode ImmunoCAP pour les allergènes prioritaires. Le coefficient de détermination observé, R², entre les différentes méthodes est indiqué pour tous les allergènes prioritaires :

Ara h 2

R ²	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					

Phl p 1

R ²	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 ²	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 ²	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 ²	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 ²	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 ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,949	0,993	0,967	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 ²	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 ²	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 ²	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					

Car i

R ²	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 ²	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					



Résultats	La moyenne R^2 entre toutes les méthodes est de 0,972 La moyenne R^2 entre ImmunoCAP et ALEX³_MAX 45k est de 0,949 La moyenne R^2 entre ImmunoCAP et ALEX³_MAX 9k est de 0,969 La moyenne R^2 entre ImmunoCAP et ALEX³_ImageXplorer est de 0,947 (pour plus de détails, voir la figure ci-dessus)
------------------	---

(b2) Justesse de la mesure (tlgE)

28 échantillons ont été testés avec les 3 méthodes ALEX³ et ImmunoCAP comme méthode de référence pour le tlgE. De plus, un échantillon négatif a été enrichi avec la norme OMS 11/234 et testé en double à 9 dilutions différentes.

Résultats	<u>Comparaison des méthodes tlgE « échantillons réels » :</u> R^2 tlgE ImmunoCAP et ALEX³_MAX 45k est de 0,963 R^2 tlgE ImmunoCAP et ALEX³_MAX 9k est de 0,919 R^2 tlgE ImmunoCAP et ALEX³_ImageXplorer est de 0,963 <u>Comparaison des méthodes tlgE « échantillons enrichis » :</u> R^2 MAX 45k est de 0,996 et le CV interdilution est de 5,62 %. R^2 MAX 9k est de 0,981 et CV interdilution : 5,67 % R^2 ImageXplorer est de 0,966 et CV interdilution : 7,19 %
------------------	--

4. Sensibilité analytique

La limite de détection (LoD) pour les slgE a été déterminée pour des composants allergènes représentatifs (allergènes prioritaires) et est de 0,3 kU_A /l pour tous les composants allergènes testés. La limite de détection (LoD) pour les tlgE est de 1,27 kU/l. [12]

5. Spécificité analytique

Il n'y a pas de réactivité croisée détectable avec d'autres immunoglobulines humaines (IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 et IgM) à des concentrations physiologiques normales.

Il n'y a pas d'interférence détectable avec le citrate ou l'héparine provenant de la préparation des échantillons, ni avec la bilirubine, le cholestérol/les triglycérides et l'hémoglobine à des concentrations physiologiques normales. Il n'y a pas non plus d'interférence avec les tlgE, qui ont été testées à des concentrations allant jusqu'à 3000 kU/l.

6. Traçabilité métrologique des valeurs du calibrateur et du matériel de contrôle

N/A



7. Plage de mesure du test

La plage de mesure a été définie comme suit :

IgE spécifiques (quantitative) : 0,3-50 kU_A /l

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

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

Ces valeurs sont basées sur la limite de détection (LoD) et la limite supérieure de la plage de mesure (effet crochet), calculées conformément à la directive CLSI I/LA20, 3rd ed.

Le seuil de coupure du test est de 0,3 kU_A /l pour les IgE spécifiques.

(a) Linéarité

Les échantillons de sérum positifs ont été dilués en série avec un échantillon blanc à 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 et 1:128. Les échantillons non dilués et dilués ont été testés conformément au protocole de dosage ALEX³.

Pour les IgE totales, un échantillon blanc a été enrichi avec la préparation 11/234 de l'OMS, troisième norme internationale pour les IgE sériques, à une concentration de 2500 kU/l, puis dilué en série pour couvrir toute la plage de mesure.

Les valeurs obtenues (O) sont comparées aux valeurs estimées (E). Le quotient O/E est calculé pour les allergènes prioritaires sélectionnés.

Résultats	<u>slgE :</u> 83,8 % (soit 264 sur 315) de toutes les valeurs O/E pour les allergènes prioritaires se situaient entre 0,8 et 1,2 <u>tlgE :</u> 85,0 % (soit 17 sur 20) de toutes les valeurs O/E des préparations enrichies en tlgE se situaient entre 0,8 et 1,2
------------------	---

8. Informations sur les performances cliniques

Étant donné que 247 des 300 allergènes étaient déjà présents dans le panel ALEX², l'évaluation des performances cliniques d'ALEX² est en partie applicable à ALEX³. 53 nouveaux allergènes ont été validés à l'aide de sérums provenant de patients cliniquement bien caractérisés, sensibilisés à la source allergène correspondante. Tous les allergènes ont été évalués à l'aide de sérums cliniquement validés. Les nouveaux allergènes se sont révélés se lier spécifiquement aux anticorps IgE d'au moins cinq patients sensibilisés à la source allergène correspondante. Le cas échéant, les résultats ont également été comparés aux allergènes spécifiques ImmunoCAP dédiés, confirmant ainsi leur spécificité. La spécificité des nouveaux allergènes a été validée par l'absence de liaison des IgE dans les sérums de personnes non sensibilisées. Dans les cas où aucun ImmunoCAP spécifique n'était



disponible, l'extrait d'allergène a été utilisé efficacement comme substitut, démontrant ainsi la robustesse des performances cliniques. Les performances cliniques sont donc vérifiées.

(a) Étude clinique ALEX²

Une étude clinique intitulée « Diagnostic Accuracy of the MADx Multi Array Xplorer (MAX 45k) Automated Laboratory System and the MADx Allergy Explorer Version 2 (ALEX²) – Test multiplex IgE pour le diagnostic de groupes prédéfinis d'allergènes spécifiques hautement prioritaires (MADMAX) » (ClinicalTrials.gov ID : NCT04435678) a été menée à bien en avril 2022.

Au total, 837 patients ont été recrutés, dont 689 personnes allergiques et 148 personnes non-allergiques.

(a1) Sensibilité :

Type d'allergie	Sensibilité (intervalle de confiance à 95 %)
Allergie au pollen de bouleau (n = 111)	94,6 % (88,6-98,0)
Allergie au pollen de graminées (n = 113)	98,2 % (93,8-99,8)
Allergie aux acariens (n = 148)	91,2 % (85,4-95,2)
Allergie aux chats (n = 107)	92,5 % (85,8-96,7)
Allergie au venin d'abeille (n = 104)	76,0 % (66,6-83,8)
Allergie au venin de guêpes (n = 106)	94,3 % (88,1-97,9)

(a2) Spécificité :

Test	Spécificité (intervalle de confiance à 95 %)
Test ALEX ² comparé aux symptômes cliniques (n = 146)	95,9 % (91,3-98,5)

(a3) Rapport de vraisemblance

Le rapport de vraisemblance a été calculé à partir des données de sensibilité et de spécificité selon la formule suivante : Sensibilité / (1 - Spécificité).



Type d'allergie	Rapport de vraisemblance calculé
Allergie au pollen de bouleau (n = 111)	23,1 (0,946/(1-0,959))
Allergie au pollen de graminées (n = 113)	24,0 (0,982/(1-0,959))
Allergie aux acariens (n=148)	22,2 (0,912/(1-0,959))
Allergie aux chats (n = 107)	22,6 (0,925/(1-0,959))
Allergie au venin d'abeille (n=104)	18,5 (0,760/(1-0,959))
Allergie au venin de guêpes (n=106)	23,0 (0,943/(1-0,959))

9. Informations sur la stabilité

Les tests de stabilité réalisés dans le cadre d'une étude de stabilité accélérée d'ALEX³ ont montré une grande robustesse, deux ans après la production, à une température de conservation comprise entre 2 et 8 °C. La durée de conservation déterminée est donc de deux ans. En outre, dans le cadre de l'étude de stabilité accélérée, des études de stabilité au transport ont été réalisées. Pour l'étude de simulation de transport, les kits ont été soumis à un protocole de simulation de transport (TS) avant d'être testés. De plus, la commodité de l'emballage et de l'étiquetage a été testée.

XXI. GARANTIE

Les données de performance ont été obtenues en suivant la procédure décrite dans le présent mode d'emploi. Toute modification de la procédure peut affecter les résultats, et MacroArray Diagnostics décline toute garantie expresse ou implicite (y compris les garanties implicites de qualité marchande et d'adéquation à un usage particulier) dans un tel cas. Par conséquent, MacroArray Diagnostics et ses distributeurs locaux ne peuvent être tenus responsables des dommages indirects ou consécutifs dans un tel cas.



XXII. ABRÉVIATIONS

ALEX	Allergy Xplorer
CCD	Déterminants glucidiques à réaction croisée
EDTA	Acide éthylènediaminetétraacétique
ELISA	Essai immuno-enzymatique
IgE	Immunoglobuline E
IVD	Diagnostic in vitro
kU/l	Kilo unités par litre
kU _A /l	Kilo-unités d'IgE spécifiques à un allergène par litre
MADx	MacroArray Diagnostics
REF	Numéro de référence
tr/min	Rotations par minute
sIgE	IgE spécifique à un allergène
tIgE	IgE totales
µl	Microlitre



LISTE DES ALLERGENES ALEX³

Extraits d'allergènes :

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

Composants naturels purifiés :

α-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_Tl, nZea m 1

Composants recombinants :

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



RÉFÉRENCES

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 1-56238-796-0), 2012.



HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Version	Description	Date de publication	Remplace
02	Adaptation to English IFU Version 03	10-2025	01



© Copyright par MacroArray Diagnostics

MacroArray Diagnostics (MADx)

Lemböckgasse 59, Top 4

1230 Vienna, Austria

+43 (0)1 865 2573

www.madx.com

Numéro de version : 03-IFU-01-FR-02