



ALEX³ ALLERGY XPLORE

NÁVOD K POUŽITÍ

OBSAH

I.	JAZYKOVÉ UPOZORNĚNÍ	2
II.	PROHLÁŠENÍ O ODPOVĚDNOSTI	2
III.	POPIS	2
IV.	URČENÝM ÚČELEM.....	3
V.	SOUHRN A VYSVĚTLENÍ TESTU	3
VI.	PRINCIP POSTUPU.....	4
VII.	DOPRAVA A SKLADOVÁNÍ	4
VIII.	LIKVIDACE.....	4
IX.	SEZNAM SYMBOLŮ	5
X.	SOUČÁSTI SADY	6
XI.	VYŽADOVANÉ VYBAVENÍ PRO ZPRACOVÁNÍ A ANALÝZU	10
XII.	MANIPULACE S KAZETAMI	11
XIII.	UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ.....	11
XIV.	POSTUP TESTU	12
XV.	KONTROLA KVALITY	19
XVI.	ANALÝZA DAT	19
XVII.	VÝSLEDKY	19
XVIII.	OMEZENÍ POSTUPU	20
XIX.	OČEKÁVANÉ HODNOTY.....	20
XX.	VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY	21
XXI.	ZÁRUKA.....	25
XXII.	ZKRATKY	26



I. JAZYKOVÉ UPOZORNĚNÍ

Tyto pokyny k použití (IFU) jsou poskytovány v několika jazycích v souladu s nařízením (EU) 2017/746. V případě jakýchkoli rozporů nebo nesrovnalostí mezi anglickou verzí a jakoukoli přeloženou verzí má anglická verze přednost a je považována za autoritativní.

II. PROHLÁŠENÍ O ODPOVĚDNOSTI

Tento návod k použití byl zkontrolován z hlediska správnosti. Pokyny pro ALEX³ Allergy Xplorer byly v době vydání správné. Následující verze tohoto návodu mohou být aktualizovány bez předchozího upozornění.

Souprava ALEX³ Allergy Xplorer je in vitro diagnostická souprava určená výhradně pro použití vyškoleným laboratorním personálem. Sada ALEX³ Allergy Xplorer smí být používána pouze k účelu, ke kterému je určena, v souladu s tímto návodem k použití. Návod k použití musí být bez výjimky dodržován. Pokud nejste seznámeni s používáním sady ALEX³ Allergy Xplorer, jste povinni si před jejím použitím vyžádat informace od společnosti MacroArray Diagnostics (MADx). Společnost MADx nenese žádnou odpovědnost za nesprávné použití soupravy ALEX³ Allergy Xplorer. Společnost MADx odpovídá pouze za újmu nebo škody na majetku, které přímo nebo nepřímo vzniknou v důsledku chyb v tomto návodu k použití, pouze v případě hrubé nedbalosti nebo úmyslu, a za újmu na zdraví pouze v rozsahu povinných zákonných ustanovení.

Pokud bude jakékoli ustanovení nebo podmínka v tomto návodu k použití shledána nezákonnou nebo nevymahatelnou, a to zcela nebo zčásti, na základě jakéhokoli právního předpisu nebo pravidla, nebude takové ustanovení nebo podmínka nebo její část v tomto rozsahu považována za součást tohoto návodu k použití, ale vymahatelnost zbývajících částí tohoto návodu k použití tím nebude dotčena.

Tento návod je chráněn autorským právem. Žádná jeho část nesmí být duplikována, reprodukována nebo kopírována v jakékoli elektronické nebo strojově čitelné formě bez předchozího písemného souhlasu společnosti MADx.

III. POPIS

ALEX³ Allergy Xplorer (ALEX³) je diagnostický test in vitro založený na enzymatické imunoanalýze (ELISA) pro kvantitativní měření alergen-specifického IgE (sIgE). Může být použit jako manuální test v kombinaci se zařízením ImageXplorer (REF 11-0000-01) nebo jako automatizovaný test se systémy MAX 9k (REF 17-0000-01) nebo MAX 45k (REF 16-0000-01).

Tento návod k použití se vztahuje na následující produkty:

Basic UDI-DI	REF	Produkt
91201229203JS	03-2001-01	ALEX ³ pro 20 analýz
	03-5001-01	ALEX ³ pro 50 analýz



IV. URČENÝM ÚČELEM

ALEX³ Allergy Xplorer je testovací souprava pro in vitro vyšetření lidského séra nebo plazmy (s výjimkou EDTA-plazmy) za účelem poskytnutí informací, které pomáhají při diagnostice pacientů trpících IgE-zprostředkovanými onemocněními ve spojení s dalšími klinickými nálezy nebo výsledky diagnostických testů.

Tento zdravotnický prostředek pro in vitro diagnostiku kvantitativně stanoví alergen-specifický IgE (sIgE) a celkový IgE (tIgE) v rozmezí 2–1000 kU/l (semikvantitativně 1001–2500 kU/l). Produkt je určen pro použití vyškoleným laboratorním personálem a zdravotnickými pracovníky v lékařské laboratoři.

V. SOUHRN A VYSVĚTLENÍ TESTU

Alergické reakce jsou okamžité hypersenzitivní reakce typu I a jsou zprostředkovány protilátkami patřícími do třídy imunoglobulinů IgE. Po expozici specifickým alergenům dochází k IgE-zprostředkovanému uvolnění histaminu a dalších mediátorů z žírných buněk a bazofilů, což vede k klinickým projevům, jako je astma, alergická rýma a konjunktivitida, atopický ekzém a gastrointestinální symptomy [1]. Proto podrobný senzibilizační profil na specifické alergeny pomáhá při hodnocení alergických pacientů [2-6]. Neexistují žádná omezení ohledně testované populace. Při vývoji testů IgE se věk a pohlaví obvykle nepovažují za kritické faktory, protože hladiny IgE, které se v těchto testech měří, se na základě těchto demografických údajů významně neliší.

ALEX³ pokrývá všechny hlavní zdroje alergenů typu I. Kompletní seznam alergenových extraktů a molekulárních alergenů ALEX³ naleznete na konci tohoto návodu.

Důležité informace pro uživatele!

Pro správné použití ALEX³ je nutné, aby uživatel pečlivě přečetl a dodržoval tento návod k použití. Výrobce nenese žádnou odpovědnost za použití tohoto testovacího systému, které není popsáno v tomto dokumentu, ani za úpravy testovacího systému provedené uživatelem.

Upozornění: Varianta soupravy 03-2001-01 testu ALEX³ (20 testů) je určena výhradně pro manuální zpracování. Pro použití této varianty soupravy ALEX³ s automatizovaným MAX 9k je nutné samostatně objednat Washing Solution (REF 00-5003-01) a Stop Solution (REF 00-5007-01). Veškeré další informace o produktu naleznete v příslušném návodu k použití: <https://www.madx.com/extras>.

Varianta soupravy ALEX³ 03-5001-01 (50 testů) je určena pro automatizované zpracování pomocí MAX 9k (REF 17-0000-01) a MAX 45k (REF 16-0000-01), v žádném případě se zařízením ImageXplorer (REF 11-0000-01).



VI. PRINCIP POSTUPU

ALEX³ je imunologický test založený na enzymatické immunoanalýze (ELISA). Alergenové extrakty nebo molekulární alergenů, které jsou navázány na nanočástice, se systematicky nanášejí na pevnou fázi, kde tvoří makroskopickou matici. Nejprve alergenů navázané na částice reagují se specifickým IgE přítomným ve vzorku pacienta. Po inkubaci se nespecifické IgE odplaví. Postup pokračuje přidáním enzymaticky značené detekční protilátky proti lidskému IgE, která tvoří komplex s částicemi vázanými specifickým IgE. Po druhém promytí se přidá substrát, který se enzymaticky vázanou protilátkou přemění na nerozpustnou barevnou sraženinu. Nakonec se reakce enzymu a substrátu zastaví přidáním blokujícího činidla. Množství sraženiny je úměrné koncentraci specifického IgE ve vzorku pacienta. Po laboratorním testu následuje pořízení a analýza obrazu pomocí manuálního systému (ImageXplorer) nebo automatizovaného systému (MAX 45k nebo MAX 9k). Výsledky testu se analyzují pomocí RAPTOR SERVER Analysis Software a uvádějí se v jednotkách IgE (kU_A/l). Celkové výsledky IgE se také uvádějí v jednotkách IgE (kU/l). RAPTOR SERVER je k dispozici ve verzi 1, úplné čtyřmístné číslo verze najdete v tiráži RAPTOR SERVER na adrese www.raptor-server.com/imprint.

VII. DOPRAVA A SKLADOVÁNÍ

Přeprava ALEX³ se provádí při pokojové teplotě. Nicméně, souprava musí být ihned po dodání skladována při teplotě 2–8 °C. Při správném skladování lze ALEX³ a jeho komponenty používat do data expirace uvedeného na obalu.



Reagencie soupravy jsou po otevření stabilní po dobu 6 měsíců (za uvedených skladovacích podmínek).

Přeprava a skladování vzorků

Typ vzorku	Sérum	Plazma (citrát)	Plazma (heparin)
Krátkodobé skladování	1 týden při teplotě 2–8 °C (zabraňte růstu mikroorganismů)		
Dlouhodobé skladování	25–37 let při teplotě -20 °C [7–8]		
Přeprava	17 dní při pokojové teplotě [9]		

VIII. LIKVIDACE

Aby byla zajištěna bezpečná likvidace zařízení, musí uživatelé dodržovat příslušné místní, regionální a národní předpisy týkající se nakládání s odpady a ochrany životního prostředí. Zvláštní pozornost je třeba věnovat všem komponentám nebo spotřebnímu materiálu, které mohou představovat riziko infekce nebo mikrobiální kontaminace (např. spotřební materiál



kontaminovaný vzorky lidského séra). Použité kazety ALEX³ a všechny nepoužité komponenty soupravy je třeba likvidovat jako laboratorní chemický odpad.

IX. SEZNAM SYMBOLŮ

	Varování (piktogram GHS) Další informace naleznete v bezpečnostním listu.
	Katalogové číslo
	Dostatečné pro <n> testů
	Nepoužívejte, pokud je obal poškozený.
	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek
	Značka CE (Notified Body 2962: QMD Services GmbH, Zelinkagasse 10/3, 1010 Vienna, Austria)
	Kód šarže
	Viz návod k použití
	Výrobce
	Datum výroby
	Nepoužívejte opakovaně



	Cartridge (kazeta)
	Datum spotřeby
	Teplotní limit
	Upozornění
	Jedinečným identifikátorem prostředku
	Ikona ALEX
	MacroArray Diagnostics (MADx)

X. SOUČÁSTI SADY

Nová nomenklatura pro šarže reagentů

Upozornění: Zavádíme novou nomenklaturu šarží pro všechny reagenty MADx (nomenklatura pro kazety se nemění).

Tato změna se týká sad ALEX³ s číslem šarže 03EAA01 a následně vyrobených šarží.



Klíčové informace:

- **Žádná změna u štítků kazet**
- Konkrétní reagentie z jedné šarže reagentií budou mít stejnou nomenklaturu štítků a lze je kombinovat s různými šaržemi kazet.
Změníme pouze **pozici 1 a 2 třípísmenného kódu** reagentií. Například:
 - Reagentie s označením **DAA** lze kombinovat s kazetami šarží **DAA, DAB, DAC, DAD,... až po DAT**.
 - Reagentie s označením **DBA** lze kombinovat s kazetami ze sérií **DBA, DBB, DBC, DBD,... až po DBT**.
- RAPTOR SERVER Analysis Software již byl aktualizován tak, aby tyto změny zohledňoval. **Ze strany zákazníků není třeba provádět žádné kroky.**
RAPTOR SERVER rozpozná a zkombinuje správné kazety s odpovídajícími reagentiemi.

Každá složka (reagentie) je stabilní do data uvedeného na štítku jednotlivých složek. Nekombinujte ani nemíchejte reagentie z různých šarží (různé první dvě písmena). Kompletní seznam alergenních extraktů a molekulárních alergenů imobilizovaných na poli ALEX³ si vyžádejte na adrese pm@macroarraydx.com.

Součásti sady REF 03-2001-01	Obsah	Vlastnosti (reaktivní složky jsou podtrženy)
ALEX ³ cartridge (kazeta)	2 blistry po 10 ALEX ³ pro celkem 20 analýz. Kalibrace pomocí master křivky je k dispozici prostřednictvím RAPTOR SERVER Analysis Software.	Polystyrolová kazeta obsahující <u>imunotest v pevné fázi</u> . Připraveno k použití. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace.
ALEX ³ Sample Diluent	1 lahvička o obsahu 9 ml	<u>CCD Blocker</u> , TBS-Tween (0,2 %) pufr, < 0,1 % azid sodný. Připraveno k použití. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace. Před použitím nechte reagentii dosáhnout pokojové teploty. Otevřená reagentie je stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8 °C.
Washing Solution	2 lahvičky po 50 ml	<u>TBS-Tween (0,2 %) pufr</u> , < 0,1 % azid sodný. Připraveno k použití. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace. Před použitím nechte reagentii dosáhnout pokojové teploty. Otevřená reagentie je stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8 °C.



Součásti sady REF 03-2001-01	Obsah	Vlastnosti (reaktivní složky jsou podtrženy)
ALEX ³ Detection Antibody	1 lahvička à 11 ml	<u>Detekční protilátka proti lidskému IgE</u> v konjugovaném pufru s přísadami. Připraveno k použití. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace. Před použitím nechte reagens dosáhnout pokojové teploty. Otevřená reagensie je stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8 °C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 lahvička à 11 ml	<u>Substrát NBT/BCIP</u> (NBT: 4-nitro-modrý tetrazoliumchlorid, roztok, BCIP: 5- brom-4-chlor-3-indolyl-fosfát, 4-toluidinová sůl). Připraveno k použití. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace. Před použitím nechte reagensie dosáhnout pokojové teploty. Otevřená reagensie je stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8 °C.
(ALEX ³) Stop Solution	1 lahvička à 2,4 ml	<u>Kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA)</u> – roztok Připraveno k použití. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace. Před použitím nechte reagensie dosáhnout pokojové teploty. Otevřená reagensie je stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8 °C. Po delším skladování se může objevit zakalení roztoku. To nemá žádný vliv na výsledky.

Součásti soupravy REF 03-5001-01	Obsah	Vlastnosti (reaktivní složky jsou podtrženy)
ALEX ³ cartridge (kazeta)	5 blistrů po 10 ALEX ³ pro celkem 50 analýz. Kalibrace pomocí master křivky je k dispozici prostřednictvím RAPTOR SERVER Analysis Software.	Polystyrolová kazeta obsahující <u>imunotest v pevné fázi</u> . Připraveno k použití. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace.



Součásti soupravy REF 03-5001-01	Obsah	Vlastnosti (reaktivní složky jsou podtrženy)
ALEX ³ Sample Diluent	1 lahvička po 30 ml	<u>CCD Blocker</u> , TBS-Tween (0,2 %) pufr, < 0,1 % azid sodný. Připraveno k použití. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace. Před použitím nechte reagensi dosáhnout pokojové teploty. Otevřená reagensie je stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8 °C.
Washing Solution	4 x conc. 1 láhev à 250 ml	<u>TBS-Tween (0,2 %) pufr</u> , < 0,1 % azid sodný. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace. Před použitím zředte v poměru 1:4 demineralizovanou vodou (250 ml Washing Solution 4x conc. + 750 ml demineralizované vody). Před použitím nechte reagensi dosáhnout pokojové teploty. Otevřená reagensie je stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8 °C.
ALEX ³ Detection Antibody	1 lahvička à 30 ml	<u>Detekční protilátka proti lidskému IgE</u> v konjugovaném pufru s přísadami. Připraveno k použití. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace. Před použitím nechte reagensi dosáhnout pokojové teploty. Otevřená reagensie je stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8 °C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 lahvička à 30 ml	<u>Substrát NBT/BCIP</u> . Připraveno k použití. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace. Před použitím nechte reagensi dosáhnout pokojové teploty. Otevřená reagensie je stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8 °C.



Součásti soupravy REF 03-5001-01	Obsah	Vlastnosti (reaktivní složky jsou podtrženy)
(ALEX ³) Stop Solution	1 lahvička à 10 ml	Roztok EDTA. Připraveno k použití. Skladujte při teplotě 2–8 °C do data expirace. Před použitím nechte reagenci dosáhnout pokojové teploty. Otevřená reagentie je stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8 °C. Po delším skladování může roztok zakalit. To nemá žádný vliv na výsledky.

XI. VYŽADOVANÉ VYBAVENÍ PRO ZPRACOVÁNÍ A ANALÝZU

Příslušenství	Popis
Příslušenství/produkty pro <u>MANUÁLNÍ</u> zpracování	
ImageXplorer (REF 11-0000-01)	Zobrazovací zařízení speciálně vyvinuté pro pořizování snímků testovacích kazet založených na technologii ALEX pro <u>manuální</u> manipulaci.
Array holder (volitelné)	Produkt pro snazší manipulaci s kazetami během <u>manuálního</u> zpracování
Lab Rocker	Vertikální rotační zařízení je nezbytné během <u>manuálního</u> testování (š x h x v – 28 x 15 x 33 cm, úhel sklonu 8°, požadovaná rychlost 8 ot/min).
Incubation chamber	Nutná při <u>manuálním</u> testovacím postupu (Š x H x V – 35 x 25 x 2 cm)
Příslušenství/produkty pro <u>AUTOMATIZOVANÉ</u> zpracování	
Přístroje MAX: MAX 45k (REF 16-0000-01) MAX 9k (REF 17-0000-01)	Přístroje pro <u>automatizované</u> zpracování testovacích kazet založených na technologii ALEX
Washing Solution 4x conc. (REF 00-5003-01)	Reagencie pro <u>automatické</u> zpracování testovacích kazet založených na technologii ALEX. Washing Solution a Stop Solution jsou součástí soupravy, ale lze je zakoupit i samostatně, pokud je potřeba větší množství roztoku.
Stop Solution (REF 00-5007-01)	
Další potřebné příslušenství/produkty	
RAPTOR SERVER Analysis Software (REF 22-0000-01)	Software pro pořizování a analýzu snímků pořízených přístroji ImageXplorer nebo MAX.
PC nebo notebook	-
Pipety a špičky	10–100 µl a 100–1000 µl
Demineralizovaná voda	-



XII. MANIPULACE S KAZETAMI

Nedotýkejte se povrchu pole. Jakékoli povrchové vady způsobené tupými nebo ostrými předměty mohou narušit správné čtení výsledků. Nezaznamenávejte snímky ALEX³ před úplným vyschnutím pole (vysušte při pokojové teplotě).

XIII. UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

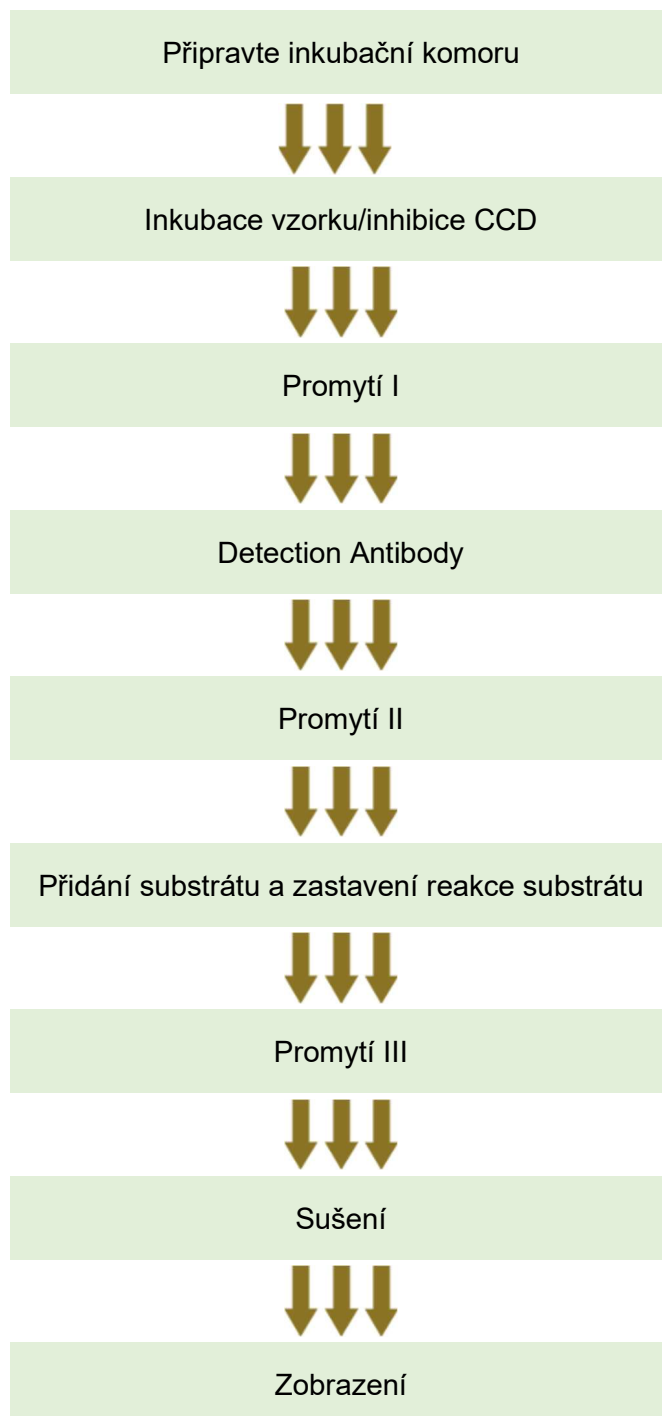
- Při přípravě a manipulaci s reagensiemi a vzorky se doporučuje nosit ochranné rukavice a brýle, laboratorní plášť a dodržovat správné laboratorní postupy.
- V souladu se správnou laboratorní praxí je třeba veškerý materiál pocházející z krve (např. složky reagensů nebo jiné komponenty) považovat za potenciálně infekční a zacházet s ním se stejnými bezpečnostními opatřeními jako s krevními vzorky.
- ALEX³ Sample Diluent a Washing Solution obsahují jako konzervační látku azid sodný (<0,1 %) a je třeba s nimi zacházet opatrně. Bezpečnostní list je k dispozici na vyžádání.
- Roztok (ALEX³) Stop Solution obsahuje roztok kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA) a musí se s ním zacházet opatrně. Bezpečnostní list je k dispozici na vyžádání.
- Pouze pro diagnostické použití in vitro. Není určeno k vnitřnímu ani vnějšímu použití u lidí nebo zvířat.
- Tento kit smí používat pouze personál proškolený v laboratorní praxi.
- Po dodání zkontrolujte, zda nejsou komponenty soupravy poškozené. Pokud je některá z komponent poškozená (např. lahvičky s pufrem), kontaktujte MADx (support@madx.com) nebo svého místního distributora. Nepoužívejte poškozené komponenty soupravy, protože jejich použití může vést ke snížení účinnosti soupravy.
- Nepoužívejte reagensie po uplynutí doby použitelnosti.
- Nemíchejte reagensie z různých šarží.
- Kazety ALEX³ jsou určeny **pouze k jednorázovému použití** a nesmějí být znovu použity. Reagensie mohou být otevřeny a znovu použity do 6 měsíců od data prvního otevření nebo do úplného spotřebování obsahu soupravy, podle toho, co nastane dříve.
- Podrobné pokyny k bezpečné likvidaci kitu naleznete v kapitole VIII návodu k použití.
- Na přípravek Stop Solution se vztahují následující bezpečnostní a zdravotní pokyny: H319 – Způsobuje vážné podráždění očí; P264 – Po manipulaci důkladně omyjte pokožku; P305+ P351+ P338 – Při zasažení očí: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování; P337 + P313 – Přetrvává-li podráždění očí: vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
- Jakýkoli **závažný incident**, který se vyskytne v souvislosti s používáním tohoto zařízení, musí být nahlášen **výrobci** na adrese support@madx.com a **příslušnému orgánu** členského státu, ve kterém je uživatel a/nebo pacient usazen.



XIV. POSTUP TESTU

Postup manuálního testování

Sady ALEX³ lze použít jako manuální test v kombinaci se zařízením ImageXplorer (REF 11-0000-01).





Příprava

Příprava vzorků: Lze použít vzorky séra nebo plazmy (heparin, citrát, bez EDTA) z kapilární nebo žilní krve. Krevní vzorky lze odebrat standardními postupy. Vzorky uchovávejte při teplotě 2–8 °C po dobu maximálně jednoho týdne. Pro dlouhodobé skladování uchovávejte vzorky séra a plazmy při teplotě -20 °C. Přeprava vzorků séra/plazmy je možná při pokojové teplotě. Vzorky před použitím vždy nechte dosáhnout pokojové teploty.

Inkubační komora: Uzavřete víko během všech kroků testu, aby nedošlo ke snížení vlhkosti.

Parametry postupu:

- 100 µl vzorku + 400 µl ALEX³ Sample Diluent
- 500 µl ALEX³ Detection Antibody
- 500 µl ALEX³ Substrate Solution
- 100 µl (ALEX³) Stop Solution
- 4500 µl Washing Solution

Doba trvání testu je přibližně 3 hodiny a 30 minut (bez sušení zpracovaného pole).

Nedoporučuje se provádět více testů, než kolik lze pipetovat za 8 minut. Všechny inkubace se provádějí při pokojové teplotě 20–26 °C.



Všechny reagenty se používají při pokojové teplotě (20–26 °C). Test se nesmí provádět na přímém slunečním světle.

Připravte inkubační komoru

Otevřete inkubační komoru a na dno položte papírové utěrky. Papírové utěrky nasákněte demineralizovanou vodou, dokud nejsou viditelné žádné suché části papírových utěrek.

Manuální provedení testu

1. Inkubace vzorku/inhibice CCD

Vyjměte potřebný počet kazet ALEX³ a vložte je do držáku (držáků) Array holder. Do každé kazety přidejte 400 µl ALEX³ Sample Diluent. Do kazet přidejte 100 µl vzorku pacienta. Zajistěte, aby byl výsledný roztok rovnoměrně rozprostřen. Vložte kazety do připravené inkubační komory a inkubační komoru s kazetami umístěte na lab rocker tak, aby se kazety kývaly podél své delší strany. Zahajte inkubaci séra při 8 otáčkách za minutu po dobu 2 hodin. Před spuštěním lab rocker uzavřete inkubační komoru. Po 2 hodinách vyprázdněte vzorky do sběrné nádoby. Opatrně otřete kapky z kazety papírovým ubrouskem.



Nedotýkejte se povrchu pole papírovou utěrkou! Zabraňte přenosu nebo křížové kontaminaci vzorků mezi jednotlivými kazetami ALEX³!

Volitelný nebo pozitivní Hom s LF (CCD marker): Při standardním protokolu inhibice protilátek CCD (jak je popsáno v odstavci 2: inkubace vzorků/inhibice CCD) vykazuje 98 % všech testovaných vzorků negativní výsledek pro kontrolní marker inhibice CCD Hom s LF. V případě, že je Hom s LF pozitivní při standardním protokolu, doporučuje se následující postup:

Připravte 1ml zkumavku na vzorek, přidejte 400 µl ALEX³ Sample Diluent a 100 µl séra. Inkubujte po dobu 30 minut (bez protřepávání) a poté pokračujte obvyklým postupem testu.

Poznámka: Dodatečný krok inhibice CCD vede v mnoha, ale ne ve všech případech k úplné inhibici protilátek CCD (negativní Hom s LF).

1a. Promývání I

Do každé kazety přidejte 500 µl Washing Solution a inkubujte na lab rocker (při 8 otáčkách za minutu) po dobu 5 minut. Washing Solution vypusťte do sběrné nádoby a kazety energicky poklepejte o stoh suchých papírových utěrek. Zbývající kapky z kazet opatrně setřete papírovou utěrkou.

Tento krok opakujte ještě 2krát.

2. Přidejte Detection Antibody

Do každé kazety přidejte 500 µl ALEX³ Detection Antibody.



Ujistěte se, že je celý povrch pole pokryt roztokem ALEX³ Detection Antibody.

Vložte kazety do inkubační komory na lab rocker a inkubujte při 8 otáčkách za minutu po dobu 30 minut. Vypusťte roztok detekční protilátky do sběrné nádoby a kazety energicky poklepejte o stoh suchých papírových utěrek. Zbytky kapek z kazet opatrně setřete papírovou utěrkou.

2a. Promývání II

Do každé kazety přidejte 500 µl Washing Solution a inkubujte na lab rocker při 8 ot/min po dobu 5 minut. Washing Solution vypusťte do sběrné nádoby a kazety s detekčními protilátkami důkladně poklepejte o stoh suchých papírových utěrek. Zbytky kapek z kazet opatrně otřete papírovou utěrkou.



Tento krok opakujte ještě 4krát.

3+4. Přidejte ALEX³ Substrate Solution a zastavte reakci substrátu

Do každé kazety přidejte 500 µl ALEX³ Substrate Solution. Spusťte časovač při naplnění první kazety a pokračujte v plnění zbývajících kazet. Ujistěte se, že je celý povrch pole pokryt Substrate Solution, a inkubujte pole přesně 8 minut bez protřepávání (**lab rocker při 0 ot./min. a v horizontální poloze**).

Po přesně 8 minutách přidejte 100 µl (ALEX³) Stop Solution do všech kazet, počínaje první kazetou, aby bylo zajištěno, že všechny pole jsou inkubovány po stejnou dobu s ALEX³ Substrate Solution. Po pipetování roztoku (ALEX³) Stop Solution do všech políček pečlivě protřepejte, aby se roztok (ALEX³) Stop Solution rovnoměrně rozdělil. Poté vyprázdněte roztok (ALEX³) Substrate/Stop Solution z políček a políčka energicky poklepejte o stoh suchých papírových utěrek. Zbývající kapky z kazet opatrně otřete papírovou utěrkou.



Během inkubace substrátu se nesmí lab rocker pohybovat!

4a. Promývání III

Do každé kazety přidejte 500 µl Washing Solution a inkubujte na lab rocker při 8 otáčkách za minutu po dobu 30 sekund. Washing Solution vypusťte do sběrné nádoby a kazety důkladně poklepejte o stoh suchých papírových utěrek. Zbytky kapek z kazet opatrně setřete papírovou utěrkou.

5. Získání obrazu

Po dokončení testu nechte pole při pokojové teplotě volně schnout, dokud nejsou zcela suchá (může trvat až 45 minut). Pokud pole vyžadují delší dobu schnutí, uložte je do prostředí chráněného před světlem až do analýzy.



Úplné vysušení je nezbytné pro citlivost testu. Pouze zcela vysušené pole poskytují optimální poměr signálu k šumu.

Vysušené pole se následně naskenují pomocí ImageXplorer.



Automatizovaný postup testu

Sady ALEX³ lze použít jako automatizovaný test se systémy MAX 9k (REF 17-0000-01) nebo MAX 45k (REF 16-0000-01). Tyto zdravotnické prostředky IVD automaticky zpracovávají pole založená na technologii ALEX a pořizují jejich snímky.



Personál musí být proškolen v zacházení s přístroji MAX (MAX 45k nebo MAX 9k). Aktuální verzi návodu k použití MAX (systémy) naleznete zde: <https://www.madx.com/extras>.

Příprava

Příprava vzorků: Lze použít vzorky séra nebo plazmy (heparin, citrát, bez EDTA) z kapilární nebo žilní krve. Krevní vzorky lze odebírat standardními postupy. Vzorky skladujte při teplotě 2–8 °C po dobu maximálně jednoho týdne. Pro dlouhodobé skladování uchovávejte vzorky séra a plazmy při teplotě -20 °C. Přeprava vzorků séra/plazmy je možná při pokojové teplotě. Před použitím vždy nechte vzorky ohřát na pokojovou teplotu.

Příprava Washing Solution (pouze pro REF 03-5001-01 a REF 00-5003-01 při použití s přístrojem MAX): Obsah 1 lahvičky Washing Solution nalijte do mycí nádoby přístroje. Naplňte demineralizovanou vodou po červenou značku a nádobu několikrát opatrně promíchejte, aby nevznikla pěna. Otevřené činidlo je stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8 °C.

Automatické provedení testu

Pokyny k provedení testu jsou uvedeny v podkapitolách XVII.7-10 návodu k použití MAX a je nutné je dodržovat.

V závislosti na objemu vzorku jsou pro použití ALEX³k dispozici dva provozní režimy: Manuálně předředený a nepředředený.



Položka	MAX 45k	MAX 9k
Zkumavky pro malé objemy vzorků	Zkumavky Sarstedt „false-bottom“ 2,5 ml, 75x13 (kulaté) Objednací číslo: 60.614.010	
Minimální objem vzorku pro 1 test ALEX ³ , zkumavka pro malé objemy	Nezředěný: 200 µl Předředěno manuálně: 120 µl séra + 480 µl Sample Diluent	
13 mm standardní zkumavky	Výška: 75–100 mm Příklad: zkumavky Sarstedt 5 ml 75x13 mm Objednací číslo PS: 55.475 Použijte s dodaným adaptérem	Výška: 75 mm Příklad: zkumavky Sarstedt 5 ml 75x13 mm PS Objednací číslo: 55.475
16 mm standardní zkumavky	Minimální výška: 75 mm, maximální výška: 100 mm Příklad: zkumavky Sarstedt 13 ml 100 x 16 mm PS Objednací číslo: 55.459	-
Minimální objem vzorku pro 1 test ALEX ³ , standardní zkumavka 13/16 mm	Nezředěný: 400 µl Manuálně předředěný: 145 µl séra + 580 µl Sample Diluent	



Před použitím jiné, než výše uvedené zkumavky kontaktujte podporu MADx nebo svého distributora.

Podrobné požadavky na zkumavky a pokyny pro ředění jsou k dispozici v kapitole XXI MAX IFU (Technická specifikace). Aktuální verzi MAX IFU (Systémy) naleznete zde: <https://www.madx.com/extras>.

Volitelný nebo pozitivní Hom s LF (CCD marker): Při použití standardního protokolu inhibice CCD protilátek (jak je popsáno v odstavci 2: inkubace vzorku/inhibice CCD) vykazuje 98 % všech testovaných vzorků negativní výsledek pro kontrolní marker inhibice CCD Hom s LF.

V případě, že je Hom s LF pozitivní při standardním protokolu, je třeba sérové vzorky předem manuálně naředit (viz tabulka výše) a inkubovat po dobu 30 minut (bez protřepávání) před vložením zkumavek se vzorky do karuselu na vzorky.

Analýza obrazu

Naskenované pole založené na technologii ALEX se analyzuje pomocí RAPTOR SERVER Analysis Software (podrobnosti viz návod k použití RAPTOR SERVER na adrese <https://www.madx.com/extras>).

RAPTOR SERVER Analysis Software je ověřen pouze v kombinaci s přístrojem ImageXplorer a přístroji MAX, proto společnost MADx nenese žádnou odpovědnost za výsledky, které byly získány s jiným zařízením pro snímání obrazu (např. skenery).



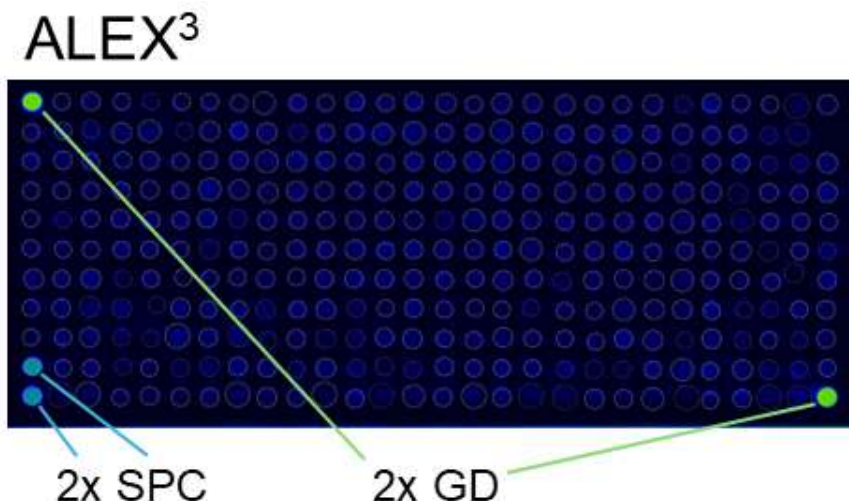
Na ALEX³ jsou dva kontrolní body pro pipetování vzorků (Sample Pipetting Control; SPC). Oba body slouží k zajištění toho, že vzorky pacientů byly přeneseny do každého pole příslušného testu. Po zpracování musí být kontrolní body SPC snadno viditelné pouhým okem. Pokud nejsou viditelné, obraťte se na místního distributora nebo podporu MADx a zeptejte se, jak postupovat. Pokud jsou kontrolní body SPC viditelné, vzorky pacientů byly pipetovány správně.

Řada měření s mřížkou se zobrazí v oblasti analytického obrazu. Software automaticky identifikuje polohu řady v obrazových datech na základě vodících bodů (Guide Dots; GD). Na zařízení ALEX³ jsou 2 vodící body.

Po zpracování musí být vodící body snadno viditelné pouhým okem. Zkontrolujte také jejich správnou orientaci, jak je znázorněno na obrázku pro ALEX³ níže. Pokud nejsou viditelné, obraťte se na místního distributora nebo podporu MADx a zeptejte se, jak postupovat. Pokud jsou vodící body viditelné, lze kazetu dále analyzovat.

Během snímání obrazu kazety ALEX³ vyhodnotí RAPTOR SERVER signál všech vodících bodů i signál pozadí povrchu membrány. Pokud jsou splněna všechna kritéria kvality, pole „automatic QC“ pod obrázkem se nastaví na „OK“.

Aby se vyloučil vliv artefaktů v automatické analýze obrazu (satelitní skvrny, kontaminace vzorků, prach, rozmazané skvrny atd.), musí být snímky před schválením výsledků zkontrolovány vyškoleným operátorem, aby se vyloučily nesprávné výsledky. V případě nesrovnalostí mezi zpracovaným polem a snímkem pořízeným RAPTOR SERVEREM se obraťte na místního distributora nebo podporu MADx.



Kalibrace testu

Hlavní kalibrační křivka ALEX³ byla stanovena referenčním testováním proti sérovým preparátům se specifickým IgE (sIgE) proti různým antigenům pokrývajícím zamýšlený měřicí rozsah. Parametry křivky pro každou šarži jsou upraveny interním referenčním testovacím systémem proti sérovým preparátům testovaným pomocí ImmunoCAP (Thermo Fisher), který



je v současné době považován za „referenční metodu“ pro in vitro testování IgE (stanovisko WAO). Pro sIgE není k dispozici žádný referenční materiál. Pro tIgE je k dispozici referenční přípravek WHO 11/234, který byl použit pro vytvoření hlavní křivky tIgE.

Výsledky sIgE jsou kvantitativní a uvádějí se v kU_A/l. Výsledky celkového IgE (tIgE) se uvádějí v jednotkách IgE (kU/l), kde 1 kU/l odpovídá 2,42 ng/ml. Výsledky celkového IgE v rozmezí 2–1000 kU/l jsou kvantitativní a jsou vypočítány z měření anti-IgE pomocí kalibračních faktorů specifických pro danou šarži, které jsou poskytovány RAPTOR SERVER Analysis Software a vybírány podle QR kódů specifických pro danou šarži. Pro tIgE jsou výsledky v rozmezí 1001–2500 kU/l semikvantitativní.

Systematické odchylky v úrovních signálu mezi šaržemi jsou normalizovány heterologní kalibrací proti referenční křivce IgE. Korekční faktor se používá k systematické úpravě odchylek měření specifických pro danou šarži.

XV. KONTROLA KVALITY

Vedení záznamů pro každý test

V souladu se správnou laboratorní praxí se doporučuje zaznamenat čísla šarží všech použitých reagensů.

Kontrolní vzorky

V souladu se správnou laboratorní praxí se doporučuje zahrnout vzorky pro kontrolu kvality v definovaných intervalech. Referenční hodnoty pro některá komerčně dostupná kontrolní séra může MADx poskytnout na vyžádání.

XVI. ANALÝZA DAT

Pro analýzu obrazu zpracovaných polí je třeba použít ImageExplorer nebo přístroj MAX. Obrazy ALEX³ jsou automaticky analyzovány pomocí RAPTOR SERVER Analysis Software a je vygenerována zpráva shrnující výsledky pro uživatele.

XVII. VÝSLEDKY

ALEX³ kvantitativně detekuje sIgE (v rozmezí 0,3–50 kU_A/l) a tIgE (v rozmezí 2–1000 kU/l). U hladin tIgE v rozmezí 1001–2500 kU/l je detekce semikvantitativní.

Alergen-specifické IgE protilátky jsou vyjádřeny jako IgE response units (kU_A/l), celkové IgE výsledky jako kU/l. RAPTOR SERVER Analysis Software automaticky vypočítá a vyhodnotí výsledky sIgE a tIgE.



Interpretace výsledků

Výsledky testu ALEX³ jsou automaticky analyzovány a prezentovány ve zprávě generované analytickým RAPTOR SERVER Analysis Software. Pro další podporu klinické interpretace výsledků testu byl implementován specializovaný softwarový modul – RAVEN Interpretation Guidance. **Podrobnosti o generování zprávy RAPTOR SERVER a interpretaci pomocí RAVEN jsou uvedeny v návodu k použití RAPTOR SERVER Analysis Software, podkapitoly VII.2.1-2.4.**

Aktuální verzi návodu k použití RAPTOR SERVER Analysis Software naleznete na adrese: <https://www.madx.com/extras>

XVIII. OMEZENÍ POSTUPU

Definitivní klinická diagnóza by měla být stanovena pouze na základě všech dostupných klinických nálezů odborným lékařem a neměla by být založena pouze na výsledcích jedné diagnostické metody.

V určitých oblastech použití (např. potravinová alergie) mohou cirkulující protilátky IgE zůstat nejistitelné, i když se může projevit klinická manifestace potravinové alergie na určitý alergen, protože tyto protilátky mohou být specifické pro alergeny, které se během průmyslového zpracování, vaření nebo trávení mění, a proto se nevyskytují v původní potravíně, na kterou je pacient testován.

Negativní výsledky testů na jed pouze indikují nedetekovatelné hladiny protilátek IgE specifických pro jed (např. v důsledku dlouhodobé neexpozice) a nevylučují existenci klinické hypersenzitivity na bodnutí hmyzem.

U dětí, zejména do 2 let věku, je normální rozmezí tIgE nižší než u adolescentů a dospělých [10]. Proto je třeba očekávat, že u vyššího podílu dětí mladších 2 let bude celková hladina IgE pod stanovenou mezí detekce. Toto omezení se nevztahuje na měření specifického IgE.

XIX. OČEKÁVANÉ HODNOTY

Úzká souvislost mezi hladinami alergen-specifických protilátek IgE a alergickými onemocněními je dobře známa a podrobně popsána v literatuře [1]. Každý senzibilizovaný pacient vykazuje při testování pomocí ALEX³ individuální profil IgE. IgE reakce u vzorků od zdravých nealergických jedinců bude při testování pomocí ALEX³ nižší než 0,3 kU_A/l pro jednotlivé molekulární alergeny a pro alergenové extrakty. Referenční oblast pro celkové IgE u dospělých je <100 kU/l. Správná laboratorní praxe doporučuje, aby každá laboratoř stanovila vlastní rozsah očekávaných hodnot.



XX. VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Shrnutí bezpečnosti a výkonu lze nalézt na webových stránkách MADx: <https://www.madx.com/extras>.

1. Správnost

ALEX³ prokázal vysokou přesnost, jak dokazuje dobrá preciznost (opakovatelnost CV 6,6 %, celková preciznost CV 13,8 %) a vysoká správnost ve srovnání s referenční metodou ($R^2 > 0,9$).

(a) Přesnost

Přesnost testu ALEX³ byla hodnocena podle návrhu „studie na jednom místě“ uvedeného v pokynu EP05-A3. Zde se analyzuje více vzorků po dobu 20 dnů, s jedním měřením denně a třemi opakováními měření („návrh 20 x 1 x 3“). Statistická analýza považuje zdroje variability spojené s „dny“ a „cykly“ za faktory. Tato metoda poskytuje odhady pro dva typy přesnosti: opakovatelnost (= přesnost v rámci cyklu) a přesnost v rámci laboratoře (= přesnost v rámci zařízení = celková přesnost). [11]

Opakovatelnost	Výsledky
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 %
Celková přesnost	Výsledky
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) Pravdivosti měření (slgE)

Bylo testováno 63 různých vzorků všemi 3 metodami ALEX³ a metodou ALEX² (pouze MAX 45k). Vybrané vzorky byly také testovány metodou ImmunoCAP na prioritní alergen. Pozorovaný koeficient determinace R^2 mezi různými metodami je uveden pro všechny prioritní alergen:



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 t 1

R ²	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 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					

Výsledky

Průměrná hodnota R² mezi všemi metodami je **0,972**
 Průměrná hodnota R² mezi ImmunoCAP a ALEX³_MAX 45k je **0,949**
 Průměrná hodnota R² mezi ImmunoCAP a ALEX³_MAX 9k je **0,969**
 Průměrná hodnota R² mezi ImmunoCAP a ALEX³_ImageXplorer je **0,947**
 (podrobnosti viz obrázky výše)

(b2) Pravdivosti měření (tlgE)

Bylo testováno 28 vzorků všemi 3 metodami ALEX³ a ImmunoCAP jako referenční metodou pro tlgE. Navíc byl negativní vzorek obohacen standardem WHO 11/234 a testován ve dvojicích v 9 různých ředěních.

Výsledky

Srovnání metod tlgE „skutečné vzorky“:
 R² tlgE ImmunoCAP a ALEX³_MAX 45k je **0,963**
 R² tlgE ImmunoCAP a ALEX³_MAX 9k je **0,919**
 R² tlgE ImmunoCAP a ALEX³_ImageXplorer je **0,963**

Srovnání metod tlgE „vzorky s přidavkem“:
 R² MAX 45k je **0,996** a mezidiluční CV: **5,62 %**
 R² MAX 9k je **0,981** a mezidiluční CV: **5,67 %**
 R² ImageXplorer je **0,966** a mezidiluční CV: **7,19 %**



4. Analytická citlivost

Limit detekce (LoD) pro sIgE byl stanoven pro reprezentativní alergenní složky (prioritní alergenů) a je 0,3 kU_A/l pro všechny testované alergenní složky. Limit detekce (LoD) pro tIgE je 1,27 kU/l. [12]

5. Analytická specifita

Při normálních fyziologických koncentracích není detekována žádná zkřížená reaktivita s jinými lidskými imunoglobuliny (IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 a IgM).

Není detekována žádná interference s citrátem nebo heparinem z přípravy vzorku ani s bilirubinem, cholesterolem/triglyceridy a hemoglobinem v normálních fyziologických koncentracích. Není detekována ani interference s tIgE, který byl testován v koncentracích až 3000 kU/l.

6. Metrologická sledovatelnost hodnot kalibrátoru a kontrolního materiálu

N/A

7. Rozsah měření testu

Měřicí rozsah byl stanoven takto:

Specifické IgE (kvantitativní): 0,3–50 kU_A/l

Celkové IgE (kvantitativní): 2–1000 kU/l

Celkové IgE (semikvantitativní): 1001–2500 kU/l

Toto je založeno na LoD a horní mez měřicího rozsahu (Hookův efekt), která byla vypočítána v souladu s pokyny CLSI I/IA20, 3rd ed.

Hranice detekce je 0,3 kU_A/l pro specifické IgE.

(a) Linearita

Pozitivní vzorky séra byly sériově zředěny slepým vzorkem v poměru 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 a 1:128. Nezředěné a zředěné vzorky byly testovány podle protokolu testu ALEX³.

Pro celkové IgE byl slepý vzorek obohacen přípravkem WHO 11/234 jako 3. mezinárodním standardem pro sérové IgE v koncentraci 2500 kU/l a sériově zředěn tak, aby pokryl celý měřicí rozsah.



Získané hodnoty (O) se porovnávají s odhadovanými hodnotami (E). Pro vybrané prioritní alergenů se vypočítá poměr O/E.

Výsledky	<u>slgE:</u> 83,8 % (nebo 264 z 315) všech hodnot O/E pro prioritní alergenů bylo v rozmezí 0,8–1,2
	<u>tlgE:</u> 85,0 % (nebo 17 z 20) všech hodnot O/E přípravků s přidavkem tlgE bylo v rozmezí 0,8–1,2

8. Informace o klinické účinnosti

Vzhledem k tomu, že 247 z 300 alergenů již bylo přítomno v testu ALEX², je hodnocení klinické účinnosti testu ALEX² částečně použitelné i pro test ALEX³. 53 nových alergenů bylo validováno pomocí séra od klinicky dobře charakterizovaných pacientů senzibilizovaných na příslušný zdroj alergenů. Všechny alergenů byly hodnoceny pomocí klinicky validovaných sér. Bylo prokázáno, že nové alergenů specificky vážou protilátky IgE od alespoň pěti pacientů senzibilizovaných na odpovídající zdroj alergenů. Tam, kde to bylo možné, byly výsledky také porovnány s dedikovanými specifickými alergenů ImmunoCAP, což dále potvrdilo jejich specifitu. Specifičnost nových alergenů byla validována absencí vazby IgE v sérech nesenzibilizovaných jedinců. V případech, kdy nebyl k dispozici specifický ImmunoCAP, byl jako náhrada účinně použit alergenový extrakt, což prokázalo robustnost klinické účinnosti. Klinická účinnost je proto ověřena.

(a) Klinická studie ALEX²

Klinická studie s názvem „Diagnostická přesnost automatizovaného laboratorního systému MADx Multi Array Xplorer (MAX 45k) a MADx Allergy Explorer verze 2 (ALEX²) – IgE Multiplex Test for the Diagnosis of Pre-defined Groups of Specific High-priority Allergens (MADMAX)“ (ClinicalTrials.gov ID: NCT04435678) byla úspěšně dokončena v dubnu 2022.

Do studie bylo zařazeno celkem 837 pacientů, z toho 689 alergiků a 148 nealergiků.

(a1) Citlivost:

Typ alergie	Citlivost (95% interval spolehlivosti)
Alergie na pyl břízy (n=111)	94,6 % (88,6–98,0)
Alergie na pyl trav (n=113)	98,2 % (93,8–99,8)
Alergie na roztoče domácího prachu (n=148)	91,2 % (85,4–95,2)
Alergie na kočky (n=107)	92,5 % (85,8–96,7)
Alergie na včelí jed (n=104)	76,0 % (66,6–83,8)
Alergie na jed vosy (n=106)	94,3 % (88,1–97,9)

**(a2) Specifičnost:**

Test	Specifičnost (95% interval spolehlivosti)
Test ALEX ² ve srovnání s klinickými příznaky (n=146)	95,9 % (91,3–98,5)

(a3) Poměr pravděpodobnosti

Poměr pravděpodobnosti byl vypočítán z údajů o citlivosti a specifitě podle následujícího vzorce: Citlivost / (1 - Specifita).

Typ alergie	Vypočtený poměr pravděpodobnosti
Alergie na pyl břízy (n=111)	23,1 (0,946/(1-0,959))
Alergie na pyl trav (n=113)	24,0 (0,982/(1-0,959))
Alergie na roztoče domácího prachu (n=148)	22,2 (0,912/(1-0,959))
Alergie na kočky (n=107)	22,6 (0,925/(1-0,959))
Alergie na včelí jed (n=104)	18,5 (0,760/(1-0,959))
Alergie na jed vosy (n=106)	23,0 (0,943/(1-0,959))

9. Informace o stabilitě

Testování stability v rámci zrychlené studie stability přípravku ALEX³ prokázalo vysokou odolnost po 2 letech skladování při teplotě 2–8 °C. Stanovená doba použitelnosti je tedy 2 roky. V rámci zrychlené studie stability byly navíc provedeny studie stability při přepravě. Pro studii simulace přepravy byly soupravy před testováním podrobeny protokolu simulace přepravy (TS). Dále byla testována praktičnost balení a označení.

XXI. ZÁRUKA

Údaje o výkonu byly získány postupem popsáním v tomto návodu k použití. Jakákoli změna nebo úprava postupu může ovlivnit výsledky a společnost MacroArray Diagnostics v takovém případě odmítá veškeré záruky (včetně předpokládané záruky prodejnosti a vhodnosti pro použití). V důsledku toho společnost MacroArray Diagnostics a její místní distributoři nenesou v takovém případě odpovědnost za nepřímé nebo následné škody.



XXII. ZKRATKY

ALEX	Allergy Xplorer
CCD	Křížově reaktivní sacharidové determinanty
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
ELISA	Enzymová imunoanalýza
IgE	Imunoglobulin E
IVD	In vitro diagnostika
kU/l	Kilogramové jednotky na litr
kU _A /l	Kilo jednotek alergen-specifického IgE na litr
MADx	MacroArray Diagnostics
REF	Referenční číslo
ot	Otáčky za minutu
slgE	Alergen-specifický IgE
tlgE	Celkový IgE
μl	Mikrolitr



SEZNAM ALERGENŮ ALEX³

Alergenové extrakty:

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

Čištěné přírodní složky:

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

Rekombinantní komponenty:

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



ODKAZY

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.



HISTORIE ZMĚN

Verze	Popis	Datum vydání	Nahrazuje
01	First compilation in this language; Adaptation to English IFU V03	09-2025	-



2962



© Copyright MacroArray Diagnostics

MacroArray Diagnostics (MADx)

Lemböckgasse 59, Top 4

1230 Vienna, Austria

+43 (0)1 865 2573

www.madx.com

Číslo verze: 03-IFU-01-CZ-01