



ALEX³ ALLERGY XPLORE^R

UPUTE ZA UPORABU

SADRŽAJ

I.	ODRICANJE OD ODGOVORNOSTI ZA JEZIK	2
II.	IZJAVA O ODGOVORNOSTI	2
III.	OPIS.....	2
IV.	NAMJENA	3
V.	SAŽETAK I OBJAŠNJENJE TESTA.....	3
VI.	NAČELO POSTUPKA	4
VII.	OTPREMA I SKLADIŠTENJE.....	4
VIII.	ZBRINJAVANJE OTPADA.....	4
IX.	RJEČNIK SIMBOLA	5
X.	KOMPONENTE KITA	7
XI.	POTREBNA OPREMA ZA OBRADU I ANALIZU	10
XII.	UKLOVANJE NIZOVIMA.....	11
XIII.	UPOZORENJA I MJERE OPREZA.....	11
XIV.	POSTUPAK ISPITIVANJA.....	12
XV.	KONTROLA KVALITETE.....	19
XVI.	ANALIZA PODATAKA	19
XVII.	REZULTATI	19
XVIII.	OGRANIČENJA POSTUPKA	20
XIX.	OČEKIVANE VRIJEDNOSTI	20
XX.	KARAKTERISTIKE PERFORMANSI	21
XXI.	JAMSTVO	26
XXII.	KRATICE.....	26



I. ODRICANJE OD ODGOVORNOSTI ZA JEZIK

Ove upute za uporabu (IFU) dostupne su na više jezika u skladu s uredbom (EU) 2017/746. U slučaju bilo kakvih neslaganja ili nedosljednosti između engleske verzije i bilo koje prevedene verzije, engleska verzija će imati prednost i smatrat će se mjerodavnom referencom.

II. IZJAVA O ODGOVORNOSTI

Točnost ovih Uputa za uporabu pregledana je. Upute za ALEX³ Allergy Xplorer bile su točne u trenutku objave. Naknadne verzije ovog vodiča mogu se ažurirati bez prethodne najave.

ALEX³ Allergy Xplorer komplet je in vitro dijagnostički uređaj namijenjen isključivo za korištenje od strane obučenog laboratorijskog osoblja. ALEX³ Allergy Xplorer komplet smije se koristiti samo u predviđene svrhe u skladu s ovim Uputama za uporabu (IFU). Uputa za uporabu mora se poštivati bez iznimke. Ako niste upoznati s korištenjem ALEX³ Allergy Xplorer kompleta, dužni ste pribaviti informacije od MacroArray Diagnostics (MADx) prije njegove upotrebe. MADx ne preuzima nikakvu odgovornost za nepravilnu upotrebu ALEX³ Allergy Xplorer kompleta. MADx će biti odgovoran samo za bilo kakvu štetu ili materijalnu štetu koja izravno ili neizravno proizlazi iz pogrešaka u ovim Uputama za uporabu u slučaju grube nepažnje ili namjere, a za tjelesne ozljede samo u okviru obveznih zakonskih odredbi.

Ako se bilo koja odredba ili uvjet u ovim Uputama za uporabu (IFU) utvrdi kao nezakonita ili neprovediva, u cijelosti ili djelomično, prema bilo kojem zakonskom propisu ili pravilu zakona, takva odredba ili dio u toj mjeri neće se smatrati dijelom ovih IFU-a, ali provedivost ostatka ovih IFU-a neće biti pogođena.

Ovaj vodič je zaštićen autorskim pravima. Nijedan njegov dio ne smije se umnožavati, reproducirati ili kopirati u bilo kojem elektroničkom ili strojno čitljivom formatu bez prethodnog pismenog dopuštenja tvrtke MADx.

III. OPIS

ALEX³ Allergy Xplorer (ALEX³) je in vitro dijagnostički test temeljen na enzimskom imunosorbentnom testu (ELISA) za kvantitativno mjerenje alergen-specifičnog IgE (sIgE). Može se koristiti kao ručni test u kombinaciji s uređajem ImageXplorer (REF 11-0000-01) ili kao automatizirani test sa sustavima MAX 9k (REF 17-0000-01) ili MAX 45k (REF 16-0000-01).

Ove upute za uporabu primjenjuju se na sljedeće proizvode:

Osnovni UDI-DI	REF	Proizvod
91201229203JS	03-2001-01	ALEX ³ za 20 analiza
	03-5001-01	ALEX ³ za 50 analiza



IV. NAMJENA

ALEX³ Allergy Xplorer je testni komplet koji se koristi za in vitro ispitivanje ljudskog seruma ili plazme (osim EDTA-plazme) kako bi se pružile informacije koje pomažu u dijagnosticiranju pacijenata koji pate od bolesti posredovanih IgE-om, u kombinaciji s drugim kliničkim nalazima ili rezultatima dijagnostičkih testova.

Medicinski uređaj IVD kvantitativno detektira alergen-specifični IgE (sIgE) i kvantitativno ukupni IgE (tIgE) u rasponu od 2 - 1000 kU/l (semikvantitativno 1001-2500 kU/l). Proizvod koriste obučeni laboratorijski djelatnici i medicinski stručnjaci u medicinskom laboratoriju.

V. SAŽETAK I OBJAŠNJENJE TESTA

Alergijske reakcije su neposredne reakcije preosjetljivosti tipa I i posredovane su antitijelima koja pripadaju IgE klasi imunoglobulina. Nakon izlaganja specifičnim alergenima, IgE - posredovano oslobađanje histamina i drugih medijatora iz mastocita i bazofila rezultira kliničkim manifestacijama poput astme, alergijskog rinokonjunktivitisa, atopijskog ekcema i gastrointestinalnih simptoma [1]. Stoga detaljan obrazac senzibilizacije na specifične alergene pomaže u procjeni alergijskih pacijenata [2-6]. Nema ograničenja u pogledu testne populacije. Prilikom razvoja IgE testova, dob i spol se obično ne smatraju ključnim čimbenicima jer se razine IgE, koje se mjere u tim testovima, ne razlikuju značajno na temelju tih demografskih podataka.

ALEX³ pokriva sve glavne izvore alergena tipa I. Potpuni popis ekstrakata alergena i molekularnih alergena ALEX³ možete pronaći na dnu ovih uputa.

Važne informacije za korisnika!

Za pravilnu upotrebu ALEX³ uređaja, korisnik mora pažljivo pročitati i slijediti ove upute za upotrebu. Proizvođač ne preuzima nikakvu odgovornost za bilo kakvu upotrebu ovog testnog sustava koja nije opisana u ovom dokumentu ili za modifikacije testnog sustava od strane korisnika.

Pažnja: Varijanta kita 03-2001-01 ALEX³ testa (20 nizova) namijenjena je isključivo za ručnu obradu. Za korištenje ove varijante ALEX³ kita s automatiziranim MAX 9k, Washing Solution (REF 00-5003-01) i Stop Solution (REF 00-5007-01) moraju se naručiti zasebno. Sve daljnje informacije o proizvodu mogu se pronaći u odgovarajućim uputama za uporabu: <https://www.madx.com/extras>.

ALEX³ komplet varijante 03-5001-01 (50 nizova) smije se koristiti za automatiziranu obradu samo s MAX 9k (REF 17-0000-01) kao i MAX 45k (REF 16-0000-01), ni pod kojim uvjetima s uređajem ImageXplorer (REF 11-0000-01).



VI. NAČELO POSTUPKA

ALEX³ je imunološki test temeljen na enzimsko-imunosorbentnom testu (ELISA). Ekstrakti alergena ili molekularni alergeni, koji su vezani za nanočestice, sustavno se talože na čvrstu fazu tvoreći makroskopski niz. Prvo, alergeni vezani za čestice reagiraju sa specifičnim IgE koji je prisutan u uzorku pacijenta. Nakon inkubacije, nespecifični IgE se ispiru. Postupak se nastavlja dodavanjem enzimski obilježenog antitijela za detekciju ljudskog IgE koje tvori kompleks sa specifičnim IgE vezanim za čestice. Nakon drugog koraka ispiranja, dodaje se supstrat koji se pretvara u netopljivi, obojeni talog enzimom vezanim za antitijelo. Konačno, reakcija enzim-supstrat se zaustavlja dodavanjem blokirajućeg reagensa. Količina taloga proporcionalna je koncentraciji specifičnog IgE u uzorku pacijenta. Nakon postupka laboratorijskog testiranja slijedi snimanje i analiza slike pomoću ručnog sustava (ImageXplorer) ili automatiziranog sustava (MAX 45k ili MAX 9k). Rezultati testa analiziraju se pomoću RAPTOR SERVER Analysis Softwarea i prikazuju se u jedinicama IgE odgovora (kU_A/l). Rezultati ukupnog IgE također se prikazuju u jedinicama IgE odgovora (kU/l). RAPTOR SERVER dostupan je u verziji 1, za puni četveroznamenkasti broj verzije pogledajte imprint RAPTOR SERVER-a dostupan na www.raptor-server.com/imprint.

VII. OTPREMA I SKLADIŠTENJE

Otprema ALEX³-a odvija se na sobnoj temperaturi. Unatoč tome, komplet se mora odmah po isporuci pohraniti na 2-8°C. Uz pravilno skladištenje, ALEX³ i njegove komponente mogu se koristiti do naznačenog roka valjanosti.

	Reagensi iz kita su stabilni 6 mjeseci nakon otvaranja (u navedenim uvjetima skladištenja).
--	---

Otprema i skladištenje uzoraka

Vrsta uzorka	Serum	Plazma (citrat)	Plazma (heparin)
Kratkoročno skladištenje	1 tjedan na 2-8°C (spriječiti rast mikroba)		
Dugoročno skladištenje	25-37 godina na -20°C [7-8]		
Prijevoz	17 dana na sobnoj temperaturi [9]		

VIII. ZBRINJAVANJE OTPADA

Kako bi se osiguralo sigurno zbrinjavanje uređaja, korisnici se moraju pridržavati relevantnih lokalnih, regionalnih i nacionalnih propisa o gospodarenju otpadom i zaštiti okoliša. Posebnu pozornost treba posvetiti svim komponentama ili potrošnom materijalu koji mogu predstavljati rizik od infekcije ili mikrobne kontaminacije (npr. potrošni materijal kontaminiran uzorcima



ljudskog seruma). Rabljene ALEX³ uložak i sve neiskorištene komponente kompleta treba odložiti kao laboratorijski kemijski otpad.

IX. RJEČNIK SIMBOLA

	Upozorenje (GHS piktogram) Više informacija potražite u Sigurnosno-tehničkom listu.
	Kataloški broj
	Dovoljno za <n> testova
	Ne koristiti ako je pakiranje oštećeno
	In vitro dijagnostički medicinski uređaj
	CE oznaka (Notified Body 2962: QMD Services GmbH, Zelinkagasse 10/3, 1010 Vienna, Austria)
	Šifra serije
	Proučite upute za uporabu
	Proizvođač
	Datum proizvodnje
	Ne koristiti ponovno



	Cartridge (uložak)
	Rok upotrebe
	Ograničenje temperature
	Oprez
	Jedinstvena identifikacija proizvoda
	Ikona ALEX ³
	MacroArray Diagnostics (MADx)



X. KOMPONENTE KITA

Nova nomenklatura za serije reagensa

Pažnja: Uvodimo novu nomenklaturu serija za sve MADx reagense (nomenklatura za uložak ostaje nepromijenjena).

ALEX³ kompleti s brojem serije 03EAA01 i naknadno proizvedene serije bit će pogođeni ovom promjenom.

Ključni detalji:

- **Nema promjena za oznake uložak**
- Specifični reagensi jedne serije reagensa imat će istu nomenklaturu na naljepnici i mogu se kombinirati s različitim serijama uložaka.
Za reagense ćemo mijenjati samo **pozicije 1 i 2** našeg **troslovnog koda** . **Na primjer:**
 - Reagensi s oznakama **DAA** mogu se kombinirati s serijama uložaka **DAA, DAB, DAC, DAD,... do DAT** .
 - Reagensi s oznakama **DBA** mogu se kombinirati s serijama uložaka **DBA, DBB, DBC, DBD,... do DBT-a**.
- RAPTOR SERVER Analysis Software već je ažuriran kako bi podržavao ove promjene.
Korisnici ne moraju ništa poduzeti.
RAPTOR SERVER će prepoznati i kombinirati ispravne uložak s odgovarajućim reagensima.

Svaka komponenta (reagens) je stabilna do datuma navedenog na naljepnici svake pojedinačne komponente. Nemojte kombinirati ili miješati reagense iz različitih serija reagensa (različita prva dva slova). Za sveobuhvatan popis ekstrakata alergena i molekularnih alergena imobiliziranih na ALEX³ nizu, obratite se na pm@macroarraydx.com.

Komponente kompleta REF 03-2001-01	Sadržaj	Svojstva (reaktivni sastojci su podcrtani)
ALEX ³ Cartridge (uložak)	2 blistera po 10 ALEX ³ za ukupno 20 analiza. Kalibracija putem glavne krivulje dostupna je putem RAPTOR SERVER Analysis Software.	Polistirolni uložak koji sadrži imunotest <u>na čvrstoj fazi</u> . Spremno za upotrebu. Čuvati na temperaturi od 2-8°C do isteka roka valjanosti.
ALEX ³ Sample Diluent	1 bočica od 9 ml	<u>CCD blokator</u> , TBS-Tween (0,2%) pufer, <0,1% natrijev azid . Spremno za upotrebu. Čuvati na 2-8°C do isteka roka valjanosti. Prije upotrebe pustite da reagens dostigne sobnu temperaturu. Otvoreni reagens je stabilan 6 mjeseci na 2-8°C.



Komponente kompleta REF 03-2001-01	Sadržaj	Svojstva (reaktivni sastojci su podcrtani)
Washing Solution	2 bočice od 50 ml	<u>TBS-Tween (0,2%) pufer</u> , < 0,1 % natrijevog azida. Spremno za upotrebu. Čuvati na 2-8°C do isteka roka valjanosti. Prije upotrebe pustite da reagens dostigne sobnu temperaturu. Otvoreni reagens je stabilan 6 mjeseci na 2-8°C.
ALEX ³ Detection Antibody	1 bočica od 11 ml	<u>Ljudsko anti- IgE antitijelo za detekciju</u> u konjugiranom puferu s aditivima. Spremno za upotrebu. Čuvati na 2-8°C do isteka roka valjanosti. Prije upotrebe pustite da reagens dostigne sobnu temperaturu. Otvoreni reagens je stabilan 6 mjeseci na 2-8°C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 bočica od 11 ml	<u>NBT/BCIP supstrat</u> (NBT: 4-nitro plavi tetrazolijev klorid, otopina, BCIP: 5- bromo- 4-kloro-3-indolil-fosfat, 4- toluidinska sol) . Spremno za upotrebu. Čuvati na 2-8°C do isteka roka valjanosti. Prije upotrebe pustite da reagens dostigne sobnu temperaturu. Otvoreni reagens je stabilan 6 mjeseci na 2-8°C.
(ALEX ³) Stop Solution	1 bočica od 2,4 ml	<u>Otopina etilendiamintetraoctene kiseline (EDTA)</u> Spremno za upotrebu. Čuvati na 2-8 °C do isteka roka valjanosti. Prije upotrebe pustite da reagens dostigne sobnu temperaturu. Otvoreni reagens je stabilan 6 mjeseci na 2-8 °C. Nakon duljeg skladištenja može se pojaviti kao mutna otopina. To nema utjecaja na rezultate.



Komponente kompleta REF 03-5001-01	Sadržaj	Svojstva (reaktivni sastojci su podcrtani)
ALEX ³ Cartridge (uložak)	5 blistera à 10 ALEX ³ za ukupno 50 analiza. Kalibracija putem glavne krivulje dostupna je putem RAPTOR SERVER Analysis Software.	Polistirolni uložak koji sadrži imunotest <u>na čvrstoj fazi</u> . Spremno za upotrebu. Čuvati na temperaturi od 2-8°C do isteka roka valjanosti.
ALEX ³ Sample Diluent	1 bočica od 30 ml	<u>CCD blokator</u> , TBS-Tween (0,2%) pufer, <0,1% natrijev azid . Spremno za upotrebu. Čuvati na 2-8°C do isteka roka valjanosti. Prije upotrebe pustite da reagens dostigne sobnu temperaturu. Otvoreni reagens je stabilan 6 mjeseci na 2-8°C.
Washing Solution	4 x conc. 1 bočica od 250 ml	<u>TBS-Tween (0,2%) pufer</u> , < 0,1 % natrijevog azida . Čuvati na temperaturi od 2-8 °C do isteka roka valjanosti. Prije upotrebe razrijediti demineraliziranom vodom u omjeru 1:4 (250 ml Washing Solution 4x conc. + 750 ml demineralizirane vode). Prije upotrebe pustiti da reagens postigne sobnu temperaturu. Otvoreni reagens je stabilan 6 mjeseci na temperaturi od 2-8 °C.
ALEX ³ Detection Antibody	1 bočica od 30 ml	<u>Ljudsko anti- IgE antitijelo za detekciju</u> u konjugatnom puferu s aditivima. Spremno za upotrebu. Čuvati na 2-8°C do isteka roka valjanosti. Prije upotrebe pustite da reagens dostigne sobnu temperaturu. Otvoreni reagens je stabilan 6 mjeseci na 2-8°C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 bočica od 30 ml	<u>NBT/BCIP supstrat</u> . Spremno za upotrebu. Čuvati na 2-8°C do isteka roka valjanosti. Prije upotrebe pustite da reagens dostigne sobnu temperaturu. Otvoreni reagens je stabilan 6 mjeseci na 2-8°C.



Komponente kompleta REF 03-5001-01	Sadržaj	Svojstva (reaktivni sastojci su podcrtani)
(ALEX ³) Stop Solution	1 bočica od 10 ml	<u>EDTA</u> -otopina. Spremno za upotrebu. Čuvati na 2-8°C do isteka roka valjanosti. Prije upotrebe pustite da reagens dostigne sobnu temperaturu. Otvoreni reagens je stabilan 6 mjeseci na 2-8°C. Nakon duljeg skladištenja može se pojaviti kao mutna otopina. To nema utjecaja na rezultate.

XI. POTREBNA OPREMA ZA OBRADU I ANALIZU

Pribor	Opis
Pribor/Proizvodi za <u>RUČNU</u> obradu	
ImageXplorer (REF 11-0000-01)	Uređaj za snimanje posebno izrađen za snimanje slika testnih uložaka temeljenih na ALEX tehnologiji za <u>ručno</u> rukovanje
Array holder (neobavezno)	Proizvod za lakše rukovanje ulošcima tijekom <u>ručne</u> obrade
Lab Rocker	Vertikalna klackalica je neophodna tijekom <u>ručnog</u> postupka ispitivanja (ŠxDxV – 28x15x33 cm, kut nagiba 8°, potrebna brzina 8 o/min).
Incubation chamber	Potrebno tijekom <u>ručnog</u> postupka ispitivanja (ŠxDxV – 35x25x2 cm)
Pribor/Proizvodi za <u>AUTOMATIZIRANU</u> obradu	
MAX uređaji: MAX 45k (REF 16-0000-01) MAX 9k (REF 17-0000-01)	Instrumenti za <u>automatiziranu</u> obradu testnih uložaka temeljenih na ALEX tehnologiji
Washing Solution 4x conc. (REF 00-5003-01)	Reagensi za <u>automatiziranu</u> obradu testnih uložaka temeljenih na ALEX tehnologiji. Washing Solution i Stop Solution sastavni su dio kompleta, ali se mogu kupiti i zasebno ako su potrebni veći volumeni otopine.
Stop Solution (REF 00-5007-01)	
Ostali potrebni pribor/proizvodi	
RAPTOR SERVER Analysis Software (REF 22-0000-01)	Softver za akviziciju i analizu slika snimljenih uređajima ImageXplorer ili MAX uređaji
Računalo ili prijenosno računalo	-
Pipete i vrhovi	10 - 100 µl i 100 - 1000 µl
Demineralizirana voda	-



XII. RUKOVANJE NIZOVIMA

Ne dodirujte površinu niza. Bilo kakvi površinski nedostaci uzrokovani tupim ili oštrim predmetima mogu ometati ispravno očitavanje rezultata. Nemojte snimati ALEX³ slike prije nego što se niz antena potpuno osuši (suši se na sobnoj temperaturi).

XIII. UPOZORENJA I MJERE OPREZA

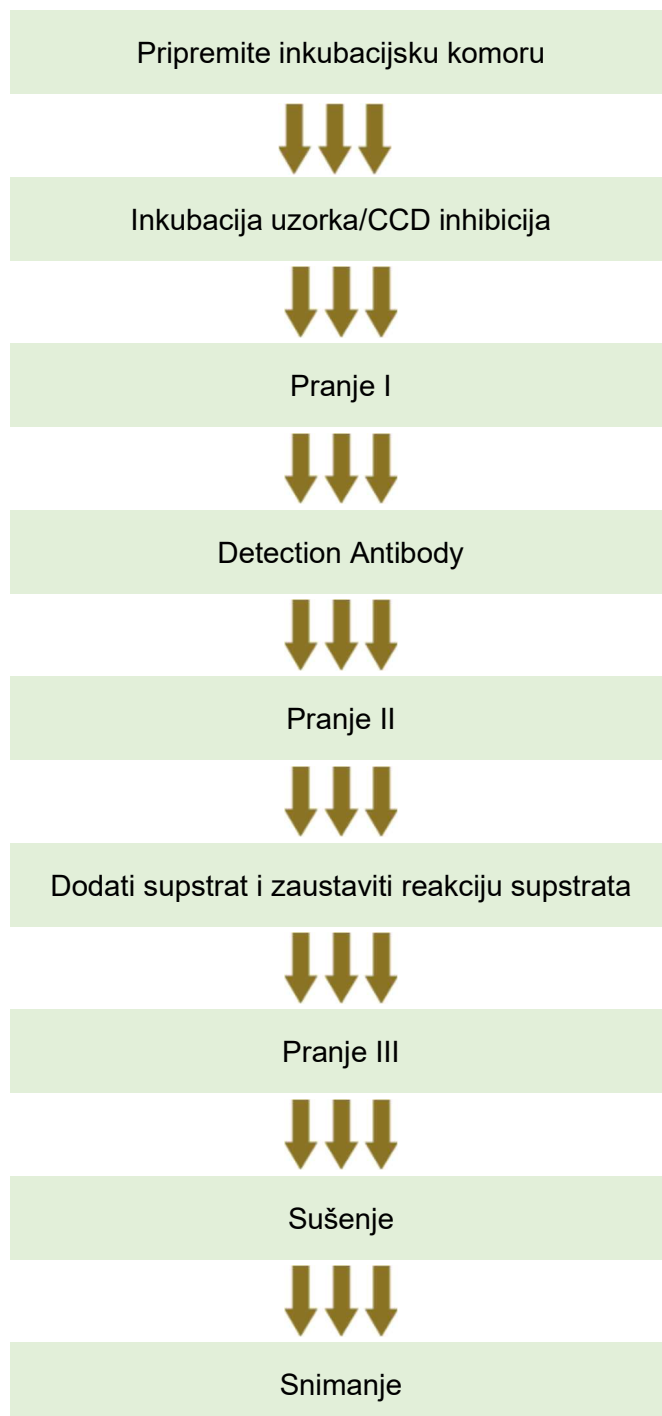
- Preporučuje se nošenje zaštite za ruke i oči, kao i laboratorijskih kuta te pridržavanje dobre laboratorijske prakse prilikom pripreme i rukovanja reagensima i uzorcima.
- U skladu s dobrom laboratorijskom praksom, sav materijal za uzorke krvi (npr. sastojci u reagensima ili druge komponente) treba smatrati potencijalno zaraznim i s njim treba postupati s istim mjerama opreza kao i s uzorcima krvi.
- ALEX³ Sample Diluent i Washing Solution sadrže natrijev azid (<0,1%) kao konzervans i s njima se mora pažljivo rukovati. Sigurnosno- tehnički list dostupan je na zahtjev.
- (ALEX³) Stop Solution sadrži otopinu etilendiamintetraoctene kiseline (EDTA) i s njom se mora pažljivo rukovati. Sigurnosno- tehnički list dostupan je na zahtjev.
- Samo za in vitro dijagnostičku uporabu. Nije za unutarnju ili vanjsku uporabu kod ljudi ili životinja.
- Ovaj komplet treba koristiti samo osoblje obučeno za laboratorijsku praksu.
- Po dolasku provjerite jesu li komponente kompleta oštećene. Ako je neka od komponenti oštećena (npr. boce s puferom), obratite se tvrtki MADx (support@madx.com) ili lokalnom distributeru. Nemojte koristiti oštećene komponente kompleta jer njihova upotreba može dovesti do loših performansi kompleta.
- Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
- Ne miješajte reagense iz različitih serija.
- ALEX³ uložak su namijenjene **samo za jednokratnu upotrebu** i ne smiju se ponovno koristiti. Reagensi se mogu otvoriti i ponovno koristiti unutar razdoblja do 6 mjeseci od datuma prvog otvaranja ili dok se sadržaj kompleta u potpunosti ne potroši, ovisno o tome što nastupi prije.
- Za detaljne upute o sigurnom odlaganju uređaja pogledajte Poglavlje VIII Uputa za uporabu.
- Sljedeće P i H oznake primjenjuju se na Stop Solution: H319 - Uzrokuje ozbiljnu iritaciju oka; P264 - Intenzivno oprati kožu nakon upotrebe; P305 + P351 + P338 - U slučaju kontakta s očima: Pažljivo ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće, ako ih nosite i ako se lako uklanjaju. Nastaviti ispirati; P337 + P313 - U slučaju trajne iritacije oka: potražiti liječnički savjet.
- Svaki **ozbiljan incident** koji se dogodi u vezi s korištenjem ovog uređaja mora se prijaviti proizvođaču **na** support@madx.com i nadležnom **tijelu** države članice u kojoj se korisnik i/ili pacijent nalazi.



XIV. POSTUPAK ISPITIVANJA

Postupak ručnog ispitivanja

ALEX³ kompleti mogu se koristiti kao ručni test u kombinaciji s uređajem ImageXplorer (REF 11-0000-01).





Pripreme

Priprema uzoraka: Mogu se koristiti uzorci seruma ili plazme (heparin, citrat, bez EDTA) iz kapilarne ili venske krvi. Uzorci krvi mogu se prikupljati standardnim postupcima. Uzorke čuvajte na 2–8 °C do tjedan dana. Uzorke seruma i plazme čuvajte na -20 °C za dulje skladištenje. Primjenjivo je slanje uzoraka seruma/plazme na sobnoj temperaturi. Uvijek pustite da uzorci dosegnu sobnu temperaturu prije upotrebe.

Inkubacijska komora: Zatvorite poklopac za sve korake ispitivanja kako biste spriječili pad vlažnosti.

Parametri postupka:

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

Vrijeme ispitivanja je približno 3 sata i 30 minuta (bez sušenja obrađenog niza).

Ne preporučuje se provođenje više testova nego što se može pipetirati u 8 minuta. Sve inkubacije se provode na sobnoj temperaturi, 20-26°C.



Svi reagensi se moraju koristiti na sobnoj temperaturi (20-26 °C). Test se ne smije provoditi na izravnoj sunčevoj svjetlosti.

Pripremite inkubacijsku komoru

Otvorite inkubacijsku komoru i stavite papirnate ručnike na donji dio. Natopite papirnate ručnike demineraliziranom vodom dok se ne vide svi suhi dijelovi papirnatih ručnika.

Ručno izvršavanje

1. Inkubacija uzorka/CCD inhibicija

Izvadite potreban broj ALEX³ uložaka i stavite ih u držač(e) niza. Dodajte 400 µl ALEX³ Sample Diluent u svaki uložak. Dodajte 100 µl uzorka pacijenta u uloške. Osigurajte da je dobivena otopina ravnomjerno raspoređena. Stavite uloške u pripremljenu inkubacijsku komoru i stavite inkubacijsku komoru s ulošcima na lab rocker tako da se ulošci ljuljaju duž duge strane uložka. Pokrenite inkubaciju seruma pri 8 okretaja u minuti tijekom 2 sata. Zatvorite inkubacijsku komoru prije pokretanja lab rocker. Nakon 2 sata, ispraznite uzorke u posudu za prikupljanje. Pažljivo obrišite kapljice s uložka papirnatim ručnikom.



Izbjegavajte dodirivanje površine niza papirnatim ručnikom! Izbjegavajte bilo kakvo prenošenje ili unakrsnu kontaminaciju uzoraka između pojedinačnih ALEX³ uložaka!

Neobavezni ili pozitivni Hom s LF (CCD marker): Sa standardnim protokolom inhibicije CCD antitijela (kao što je opisano u odlomku 2: inkubacija uzorka/CCD inhibicija) 98% svih testiranih uzoraka pokazuje negativan rezultat za kontrolni marker CCD inhibicije Hom s LF. U slučaju da je Hom s LF pozitivan sa standardnim protokolom, preporučuje se sljedeći postupak:

Pripremite epruvetu za uzorak od 1 ml, dodajte 400 µl ALEX³ Sample Diluent i 100 µl seruma. Inkubirajte 30 minuta (bez trešnje) i zatim nastavite s uobičajenim postupkom ispitivanja.

Napomena: Dodatni korak inhibicije CCD-a u mnogim, ali ne svim slučajevima, dovodi do potpune inhibicije CCD antitijela (negativni Hom s LF).

1a. Pranje I

Dodajte 500 µl Washing Solution i inkubirajte na lab rocker (pri 8 okretaja u minuti) 5 minuta. Ispraznite Washing Solution u posudu za sakupljanje i snažno kucnite uloške o hrpu suhih papirnatih ručnika. Pažljivo obrišite preostale kapljice s uložaka papirnatim ručnikom.

Ponovite ovaj korak još 2 puta.

2. Dodajte Detection Antibody

U svaki uložak dodajte 500 µl Detection Antibody ALEX³.



Provjerite je li cijela površina polja prekrivena otopinom ALEX³ Detection Antibody.

Stavite uložak u inkubacijsku komoru na lab rocker i inkubirajte pri 8 okretaja u minuti tijekom 30 minuta. Ispustite Detection Antibody Solution u posudu za sakupljanje i snažno kucnite uloške o hrpu suhih papirnatih ručnika. Pažljivo obrišite preostale kapljice s uložaka papirnatim ručnikom.

2a. Pranje II

Dodajte 500 µl Washing Solution i inkubirajte na lab rocker pri 8 okretaja u minuti tijekom 5 minuta. Ispraznite Washing Solution u posudu za sakupljanje i snažno kucnite uloške o hrpu suhih papirnatih ručnika. Pažljivo obrišite preostale kapljice s uložaka papirnatim ručnikom.

Ponovite ovaj korak još 4 puta.



3+4. Dodajte ALEX³ Substrate Solution i zaustavite reakciju supstrata

Dodajte 500 µl Substrate Solution ALEX³. Pokrenite mjerač vremena punjenjem prvog uložka i nastavite s punjenjem preostalih uložaka. Pazite da je cijela površina niza prekrivena Substrate Solution i inkubirajte nizove točno 8 minuta bez mućkanja (**lab rocker na 0 okretaja u minuti i u horizontalnom položaju**) .

Nakon točno 8 minuta, dodajte 100 µl (ALEX³) Stop Solution u sve uložak, počevši od prvog uložka kako biste osigurali da su svi nizovi inkubirani isto vrijeme sa ALEX³ Substrate Solution. Pažljivo protresite kako biste ravnomjerno rasporedili (ALEX³) Stop Solution u uložak s nizovima, nakon što ste (ALEX³) Stop Solution pipetirali na sve nizove. Nakon toga ispraznite (ALEX³) Substrate/Stop Solution iz uložaka i snažno kucnite uložak o hrpu suhih papirnatih ručnika. Pažljivo obrišite preostale kapljice sa uložaka papirnatim ručnikom.



Lab rocker se NE SMIJE TRESATI tijekom inkubacije supstrata!

4a. Pranje III

Dodajte 500 µl Washing Solution i inkubirajte na lab rocker pri 8 okretaja u minuti tijekom 30 sekundi. Ispraznite Washing Solution u posudu za sakupljanje i snažno kucnite uloške o hrpu suhih papirnatih ručnika. Pažljivo obrišite preostale kapljice sa uložaka papirnatim ručnikom.

5. Snimanje slike

Nakon završetka postupka analize, osušite nizove na zraku na sobnoj temperaturi dok se potpuno ne osuše (može potrajati i do 45 minuta). Ako nizovi zahtijevaju dulje razdoblje sušenja, treba ih čuvati u okruženju zaštićenom od svjetlosti do analize.



Potpuno sušenje je ključno za osjetljivost testa. Samo potpuno osušeni nizovi pružaju optimalni omjer signala i šuma.

Osušeni nizovi se potom skeniraju pomoću ImageXplorera .



Automatizirani postupak ispitivanja

ALEX³ kompleti mogu se koristiti kao automatizirani test s MAX 9k (REF 17-0000-01) ili MAX 45k (REF 16-0000-01) sustavima. Ovi IVD medicinski proizvodi automatski obrađuju nizove temeljene na ALEX tehnologiji i prikupljaju njihove slike.



Osoblje mora biti obučeno za rukovanje MAX uređajima (MAX 45k ili MAX 9k). Trenutnu verziju MAX IFU (Sustavi) možete pronaći ovdje: <https://www.madx.com/extras>.

Pripreme

Priprema uzoraka: Mogu se koristiti uzorci seruma ili plazme (heparin, citrat, bez EDTA) iz kapilarne ili venske krvi. Uzorci krvi mogu se prikupljati standardnim postupcima. Uzorke čuvajte na 2–8 °C do tjedan dana. Uzorke seruma i plazme čuvajte na -20 °C za dulje skladištenje. Primjenjivo je slanje uzoraka seruma/plazme na sobnoj temperaturi. Uvijek pustite da uzorci dosegnu sobnu temperaturu prije upotrebe.

Priprema Washing Solution (samo za REF 03-5001-01 i REF 00-5003-01 kada se koristi s MAX uređajem): Ulijte sadržaj 1 bočice Washing Solution u posudu za pranje instrumenta. Napunite demineraliziranom vodom do crvene oznake i pažljivo promiješajte posudu nekoliko puta bez stvaranja pjene. Otvoreni reagens stabilan je 6 mjeseci na 2-8°C.

Automatizirano izvršavanje pokretanja

Upute o provođenju testa nalaze se u MAX IFU podpoglavljima XVII.7-10 i moraju se slijediti.

Ovisno o volumenu uzorka, dostupna su dva načina rada za korištenje ALEX³: s ručnim razrjeđivanjem i bez prethodnog razrjeđivanja.



Artikal	MAX 45k	MAX 9k
Epruvete za uzorke malog volumena	Sarstedt epruvete „false-bottom“ 2,5 ml, 75x13 (okrugle) Broj narudžbe: 60.614.010	
Minimalni volumen uzorka za 1 ALEX ³ test, epruveta niskog volumena	Nije prethodno razrijeđeno: 200 µl Ručno prethodno razrijeđeno: 120 µl seruma + 480 µl Sample Diluent	
Standardne cijevi od 13 mm	Visina: 75-100 mm Primjer: Sarstedt epruvete 5 ml 75x13 mm Broj narudžbe PS: 55.475 Koristite s priloženim adapterom	Visina: 75 mm Primjer: Sarstedt tube 5ml 75x13mm Broj narudžbe PS: 55.475
Standardne cijevi od 16 mm	Minimalna visina: 75 mm, maksimalna visina: 100 mm Primjer: Sarstedt epruvete 13 ml 100x16 mm Broj narudžbe PS: 55.459	-
Minimalni volumen uzorka za 1 ALEX ³ test, standardna epruveta 13/16 mm	Nije prethodno razrijeđeno: 400 µl Ručno prethodno razrijeđeno: 145 µl seruma + 580 µl Sample Diluent	



Prije upotrebe bilo koje druge cijevi osim one navedene gore, obratite se podršci MADx-a ili svom distributeru.

Detaljni zahtjevi za epruvete i upute za razrjeđivanje dostupni su u MAX IFU poglavlju XXI (Tehničke specifikacije). Trenutna verzija MAX IFU-a (Sustavi) može se pronaći ovdje: <https://www.madx.com/extras>.

Neobavezni ili pozitivni Hom s LF (CCD marker): Sa standardnim protokolom inhibicije CCD antitijela (kao što je opisano u odlomku 2: inkubacija uzorka/CCD inhibicija) 98% svih testiranih uzoraka pokazuje negativan rezultat za kontrolni marker CCD inhibicije Hom s LF.

U slučaju da je Hom s LF pozitivan standardnim protokolom, uzorke seruma treba prethodno ručno razrijediti (vidi tablicu gore) i inkubirati 30 minuta (bez trešnje) prije stavljanja epruveta s uzorcima u spremnik za uzorke.

Analiza slike

Skenirani nizovi temeljeni na ALEX tehnologiji analiziraju se pomoću RAPTOR SERVER Analysis Software (pojediniosti potražite u uputama za uporabu RAPTOR SERVER-a na <https://www.madx.com/extras>).



RAPTOR SERVER Analysis Software verificiran je samo u kombinaciji s instrumentom ImageXplorer i MAX uređajima, stoga MADx ne preuzima nikakvu odgovornost za rezultate koji su dobiveni bilo kojim drugim uređajem za snimanje slika (poput skenera).

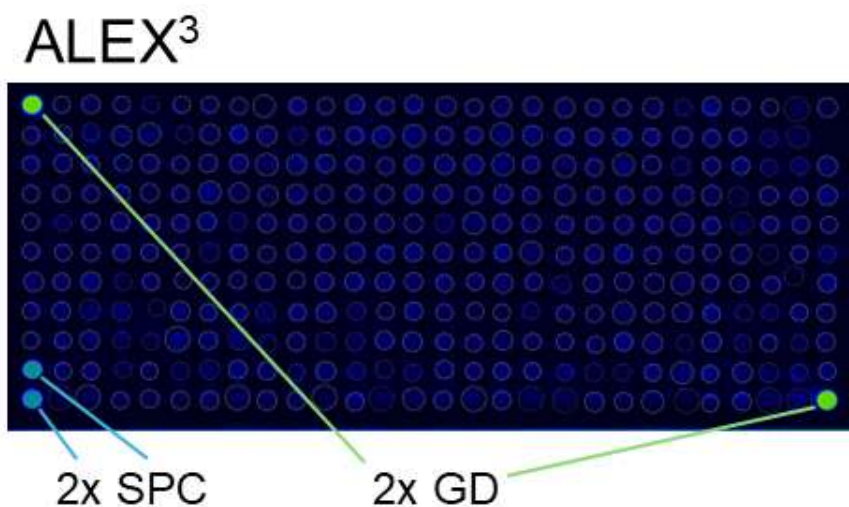
Na ALEX³ uređaju nalaze se dvije točke za kontrolu pipetiranja uzoraka (Sample Pipetting Control; SPC). Obje točke služe za osiguranje da su uzorci pacijenata preneseni u svaki niz odgovarajućeg testa. Nakon obrade, SPC točke moraju biti lako vidljive golim okom. Ako nisu vidljive, obratite se lokalnom distributeru ili MADx podršci za daljnje upute. U slučaju da su SPC točke vidljive, uzorci pacijenata su ispravno pipetirani.

Niz mjerenja s mrežom prikazuje se u analitičkom području slike. Softver automatski identificira položaj niza u podacima slike na temelju točkica za vođenje (Guide Dots; GD). Na ALEX³-u postoje 2 točke za vođenje.

Nakon obrade, točkice za označavanje moraju biti lako vidljive golim okom. Također provjerite njihovu ispravnu orijentaciju kao što je prikazano na slici za ALEX³ u nastavku. Ako nisu vidljive, obratite se lokalnom distributeru ili MADx podršci za daljnje upute. U slučaju da su točkice za označavanje vidljive, uložak se može dodatno analizirati.

Tijekom snimanja ALEX³ uložak, RAPTOR SERVER procjenjuje signal svih Guide Dots kao i pozadinski signal površine membrane. Ako su ispunjeni svi kriteriji kvalitete, polje „automatic QC“ ispod slike postavlja se na „OK“.

Kako bi se isključio utjecaj artefakata u automatiziranoj analizi slike (satelitske mrlje, kontaminacija uzoraka, prašina, razmazane mrlje, ...), slike mora provjeriti obučeni operater prije nego što se rezultati odobre kako bi se isključili lažni rezultati. U slučaju odstupanja između obrađenog niza i slike koju je prikupio RAPTOR SERVER, obratite se lokalnom distributeru ili MADx podršci.





Kalibracija testa

Glavna kalibracijska krivulja ALEX³ utvrđena je referentnim testiranjem u odnosu na serumske pripravke sa specifičnim IgE (slgE) protiv različitih antigena koji pokrivaju predviđeni raspon mjerenja. Parametri krivulje za svaku seriju prilagođavaju se internim referentnim sustavom testiranja, u odnosu na serumske pripravke testirane s ImmunoCAP-om (Thermo Fisher), koji se trenutno smatra „referentnom metodom“ za in vitro IgE testiranje (dokument o stavu WAO). Referentni materijal za slgE nije dostupan. Za tlgE dostupan je referentni pripravak WHO 11/234 koji je korišten za generiranje glavne krivulje tlgE .

Rezultati slgE su kvantitativni i prikazani su u kU_A/l. Rezultati ukupnog IgE (tlgE) prikazani su u jedinicama odgovora IgE (kU/l), gdje 1 kU/l odgovara 2,42 ng/ml. Rezultati ukupnog IgE od 2-1000 kU/l su kvantitativni i izračunati iz mjerenja anti- IgE s faktorima kalibracije specifičnim za seriju, koje pruža RAPTOR SERVER Analysis Software i odabrani su prema QR-kodovima specifičnim za seriju. Za tlgE , rezultati od 1001-2500 kU/l su semikvantitativni.

Sustavne varijacije u razinama signala između serija normalizirane su heterolognom kalibracijom u odnosu na referentnu krivulju IgE . Korekcijski faktor se koristi za sustavno prilagođavanje odstupanja mjerenja specifičnih za seriju.

XV. KONTROLA KVALITETE

Vođenje evidencije za svako ispitivanje

Sukladno dobroj laboratorijskoj praksi preporučuje se zabilježiti brojeve serija svih korištenih reagensa.

Kontrolni uzorci

Sukladno dobroj laboratorijskoj praksi preporučuje se da se uzorci kontrole kvalitete uključe unutar definiranih intervala. MADx može na zahtjev pružiti referentne vrijednosti za određene komercijalno dostupne kontrolne serume.

XVI. ANALIZA PODATAKA

Za analizu slike obrađenih nizova koristi se ImageXplorer ili MAX uređaj. ALEX³ slike se automatski analiziraju pomoću RAPTOR SERVER Analysis Softwarea i generira se izvješće koje sažima rezultate za korisnika.

XVII. REZULTATI

ALEX³ kvantitativno detektira slgE (u rasponu od 0,3-50 kU_A/l) i tlgE (u rasponu od 2-1000 kU/l). Za razine tlgE između 1001-2500 kU/l, detekcija je semikvantitativna.



Specifična IgE antitijela za alergene izražena su kao jedinice IgE odgovora (kU_A/l), ukupni rezultati IgE kao kU/l . RAPTOR SERVER Analysis Software automatski izračunava i izvještava o rezultatima $slgE$ i $tlgE$.

Interpretacija rezultata

Rezultati ALEX³ testa automatski se analiziraju i prikazuju u izvješću koje generira RAPTOR SERVER Analysis Software. Za dodatnu podršku kliničkoj interpretaciji ishoda testa implementiran je specijalizirani softverski modul - RAVEN Interpretation Guidance. **Pojedinosti o generiranju RAPTOR SERVER izvješća i interpretaciji od strane RAVEN-a navedene su u Uputama za uporabu RAPTOR SERVER Analysis Software, podpoglavlja VII.2.1-2.4.**

Trenutnu verziju Uputa za uporabu RAPTOR SERVER Analysis Software možete pronaći na: <https://www.madx.com/extras>

XVIII. OGRANIČENJA POSTUPKA

Konačnu kliničku dijagnozu trebaju postaviti samo medicinski stručnjaci u kombinaciji sa svim dostupnim kliničkim nalazima i ne smije se temeljiti samo na rezultatima jedne dijagnostičke metode.

U određenim područjima primjene (npr. alergija na hranu), cirkulirajuća IgE antitijela mogu ostati neotkrivena iako može biti prisutna klinička manifestacija alergije na hranu protiv određenog alergena, jer ta antitijela mogu biti specifična za alergene koji su modificirani tijekom industrijske obrade, kuhanja ili probave te stoga ne postoje na izvornoj hrani na koju se pacijent testira.

Negativni rezultati testa na otrov ukazuju samo na nedetektabilne razine specifičnih IgE antitijela na otrov (npr. zbog dugotrajnog neizlaganja) i ne isključuju postojanje kliničke preosjetljivosti na ubode insekata.

U djece, posebno do 2 godine, normalan raspon $tlgE$ je niži nego u adolescenata i odraslih [10]. Stoga je za očekivati da će u većem udjelu djece mlađe od 2 godine ukupna razina IgE biti ispod određene granice detekcije. Ovo ograničenje se ne odnosi na mjerenje specifičnog IgE.

XIX. OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

Uska povezanost između razine alergen-specifičnih IgE antitijela i alergijske bolesti dobro je poznata i detaljno je opisana u literaturi [1]. Svaki senzibilizirani pacijent pokazat će individualni IgE profil kada se testira s ALEX³. IgE odgovor s uzorcima zdravih nealergičnih osoba bit će ispod $0,3 kU_A/l$ za pojedinačne molekularne alergene i za ekstrakte alergena kada se testira s



ALEX³. Referentno područje za ukupni IgE u odraslih je < 100 kU/l. Dobra laboratorijska praksa preporučuje da svaki laboratorij utvrdi vlastiti raspon očekivanih vrijednosti.

XX. KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

Sažetak sigurnosti i učinkovitosti može se pronaći na web stranici MADx-a: <https://www.madx.com/extras>.

1. Točnost

ALEX³ je pokazao visoku točnost što se vidi iz dobre preciznosti (ponovljivost CV 6,6%, ukupni CV preciznosti 13,8%) i visoke istinitosti s referentnom metodom ($R^2 > 0,9$).

(a) Preciznost

Preciznost ALEX³ testa procijenjena je prema dizajnu „studije na jednom mjestu“ opisanom u smjernicama EP05-A3. Ovdje se više uzoraka analizira tijekom 20 dana, s jednim ciklusom dnevno i tri ponavljanja po ciklusu („dizajn 20 x 1 x 3“). Statistička analiza tretira izvore varijacija povezane s „danima“ i „ciklusima“ kao faktore. Ova metoda daje procjene za dvije vrste preciznosti: ponovljivost (= preciznost unutar ciklusa) i preciznost unutar laboratorija (= preciznost unutar uređaja = ukupna preciznost). [11]

Ponovljivost	Rezultati
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 %
Potpuna preciznost	Rezultati
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) Istinitost mjerenja (slgE)

63 različita uzorka testirana su svim 3 ALEX³ metodama i ALEX² (samo MAX 45k). Odabrani uzorci također su testirani ImmunoCAP metodom na prioritete alergene. Opaženi koeficijent determinacije, R^2 , između različitih metoda prikazan je za sve prioritete alergene:



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					

Rezultati

Prosječni R² između svih metoda je **0,972**
 Srednja vrijednost R² između ImmunoCAP-a i ALEX³_MAX 45k iznosi **0,949**
 Srednja vrijednost R² između ImmunoCAP-a i ALEX³_MAX 9k iznosi **0,969**
 Srednja vrijednost R² između ImmunoCAP-a i ALEX³_ImageXplorer-a iznosi **0,947** (za detalje pogledajte gornju sliku)

(b2) Istinitost mjerenja (tlgE)

28 uzoraka testirano je sa sve 3 ALEX³ metode i ImmunoCAP-om kao referentnom metodom za tlgE. Dodatno, negativni uzorak je obogaćen WHO standardom 11/234 i testiran u duplikatima u 9 različitih razrjeđenja.



Rezultati	<u>tlgE metode "pravi uzorci":</u> R^2 tlgE ImmunoCAP i ALEX³_MAX 45k su 0,963 R^2 tlgE ImmunoCAP i ALEX³_MAX 9k su 0,919 R^2 tlgE ImmunoCAP i ALEX³_ImageXplorer su 0,963 <u>tlgE metode "uzorci s dodatkom antitijela":</u> R^2 MAX 45k je 0,996 , a interdilucijski CV: 5,62 % R^2 MAX 9k je 0,981 , a interdilucijski CV: 5,67 % R^2 ImageXplorer je 0,966 , a interdilucijski CV: 7,19 %
------------------	---

4. Analitička osjetljivost

Granica detekcije (LoD) za slgE određena je za reprezentativne alergenske komponente (prioritetne alergene) i iznosi 0,3 kU_A/l za sve testirane alergenske komponente. Granica detekcije (LoD) za tlgE iznosi 1,27 kU/l. [12]

5. Analitička specifičnost

Nema uočljive križne reaktivnosti s drugim ljudskim imunoglobulinima (IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 i IgM) pri normalnim fiziološkim koncentracijama.

Nema uočljive interferencije s citratom ili heparinom iz pripreme uzorka niti s bilirubinom, kolesterolom/trigliceridima i hemoglobinom pri normalnim fiziološkim koncentracijama. Također nema interferencije s tlgE , koji je testiran u koncentracijama do 3000 kU/l.

6. Metrološka sljedivost vrijednosti kalibratora i kontrolnog materijala

N/A

7. Mjerni raspon testa

Mjerni raspon je postavljen na sljedeći način:

Specifični IgE (kvantitativni): 0,3-50 kU_A/l

Ukupni IgE (kvantitativno): 2-1000 kU/l

Ukupni IgE (polukvantitativno): 1001-2500 kU/l

To se temelji na LoD-u i gornjoj granici mjernog raspona (hook efekt), koji je izračunat u općoj usklađenosti sa smjernicama CLSI I/LA20, 3rd ed.

Granična vrijednost testa je 0,3 kU_A/l za specifični IgE .



(a) Linearnost

Pozitivni uzorci seruma serijski su razrijeđeni slijepim uzorkom na 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 i 1:128. Nerazrijeđeni i razrijeđeni uzorci testirani su prema ALEX³ protokolu ispitivanja.

Za ukupni IgE, slijepi uzorak je obogaćen WHO preparatom 11/234 kao 3. međunarodnim standardom za serumski IgE u koncentraciji od 2500 kU/l i serijski razrijeđen kako bi se pokrio cijeli raspon mjerenja.

Dobivene vrijednosti (O) uspoređuju se s procijenjenim vrijednostima (E). Za odabrane prioritetne alergene izračunava se kvocijent O/E.

Rezultati	<u>slgE :</u> 83,8% (ili 264 od 315) svih O/E vrijednosti za prioritetne alergene bilo je unutar 0,8 - 1,2. <u>tlgE :</u> 85,0% (ili 17 od 20) svih O/E vrijednosti obogaćenih tlgE pripravaka bilo je unutar 0,8 - 1,2
------------------	---

8. Informacije o kliničkoj učinkovitosti

Budući da je 247 od 300 alergena već bilo prisutno na ALEX² nizu, evaluacija kliničke učinkovitosti ALEX² djelomično je primjenjiva na ALEX³. 53 nova alergena validirana su korištenjem seruma klinički dobro karakteriziranih pacijenata, senzibiliziranih na odgovarajući izvor alergena. Svi alergeni procijenjeni su klinički validiranim serumima. Pokazalo se da novi alergeni specifično vežu IgE antitijela od najmanje pet pacijenata senzibiliziranih na odgovarajući izvor alergena. Gdje je bilo primjenjivo, rezultati su također uspoređeni s namjenskim specifičnim alergenima ImmunoCAP- a , čime je dodatno potvrđena specifičnost. Specifičnost novih alergena potvrđena je odsutnošću vezanja IgE u serumima nesenzibiliziranih osoba. U slučajevima kada specifični ImmunoCAP nije bio dostupan, ekstrakt alergena učinkovito je korišten kao zamjena, pokazujući robusnost kliničke učinkovitosti. Klinička učinkovitost je stoga provjerena.

(a) Klinička studija ALEX²

Klinička studija pod nazivom "Dijagnostička točnost automatiziranog laboratorijskog sustava MADx Multi Array Xplorer (MAX 45k) i MADx Allergy Explorer verzije 2 (ALEX²) – IgE multipleks testa za dijagnozu unaprijed definiranih skupina specifičnih alergena visokog prioriteta (MADMAX)" (ClinicalTrials.gov ID: NCT04435678) uspješno je završena u travnju 2022.

Ukupno je uključeno 837 pacijenata, uključujući 689 alergičnih i 148 nealergičnih osoba.

**(a1) Osjetljivost:**

Vrsta alergije	Osjetljivost (95% interval pouzdanosti)
Alergija na pelud breze (n=111)	94,6% (88,6-98,0)
Alergija na pelud trava (n=113)	98,2% (93,8-99,8)
Alergija na grinje kućne prašine (n=148)	91,2% (85,4-95,2)
Alergija na mačke (n=107)	92,5% (85,8-96,7)
Alergija na pčelinji otrov (n=104)	76,0% (66,6-83,8)
Alergija na otrov vespida (n=106)	94,3% (88,1-97,9)

(a2) Specifičnost:

Test	Specifičnost (95% interval pouzdanosti)
ALEX ² test u usporedbi s kliničkim simptomima (n=146)	95,9% (91,3-98,5)

(a3) Omjer vjerojatnosti

Omjer vjerojatnosti izračunat je iz podataka o osjetljivosti i specifičnosti prema sljedećoj formuli: $\text{Osjetljivost} / (1 - \text{Specifičnost})$.

Vrsta alergije	Izračunati omjer vjerojatnosti
Alergija na pelud breze (n=111)	23,1 (0,946 / (1-0,959))
Alergija na pelud trava (n=113)	24,0 (0,982 / (1-0,959))
Alergija na grinje kućne prašine (n=148)	22,2 (0,912 / (1-0,959))
Alergija na mačke (n=107)	22,6 (0,925 / (1-0,959))
Alergija na pčelinji otrov (n=104)	18,5 (0,760 / (1-0,959))
Alergija na otrov vespida (n=106)	23,0 (0,943 / (1-0,959))

9. Informacije o stabilnosti

Ispitivanje stabilnosti u ubrzanoj studiji stabilnosti ALEX³ pokazalo je visoku robusnost, 2 godine nakon proizvodnje pohranjene na 2-8°C. Stoga je utvrđeni rok trajanja 2 godine. Osim toga, kao dio ubrzane studije stabilnosti, provedene su studije stabilnosti pri transportu. Za studiju simulacije transporta, kompleti su podvrgnuti protokolu simulacije transporta (TS) prije testiranja. Osim toga, pakiranje i označavanje testirani su radi njihove praktičnosti.



XXI. JAMSTVO

Podaci o performansama dobiveni su postupkom opisanim u ovim Uputama za uporabu. Svaka promjena ili modifikacija postupka može utjecati na rezultate, a MacroArray Diagnostics odriče se svih izraženih jamstava (uključujući implicitno jamstvo o prodajnosti i prikladnosti za uporabu) u takvom slučaju. Slijedom toga, MacroArray Diagnostics i njegovi lokalni distributeri neće biti odgovorni za neizravnu ili posljedičnu štetu u takvom slučaju.

XXII. KRATICE

ALEX	Allergy Xplorer
CCD	Unakrsno reaktivne determinante ugljikohidrata
EDTA	Etilendiamintetraoctena kiselina
ELISA	Enzimski imunosorbentni test
IgE	Imunoglobulin E
IVD	In vitro dijagnostika
kU/l	Kilojedinice po litri
kU _A /l	Kilojedinice alergen-specifičnog IgE po litri
MADx	MacroArray Diagnostics
REF	Referentni broj
okretaja u minuti	Rundi u minuti
sIgE	Alergen-specifični IgE
tIgE	Ukupni IgE
μl	Mikrolitar



POPIS ALERGENA ALEX³

Ekstrakti alergena:

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

Pročiščene prirodne komponente:

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

Rekombinantne komponente:

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



REFERENCE

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.



POVIJEST PROMJENA

Verzija	Opis	Datum izdavanja	Zamjenjuje
01	First compilation in this language; Adaptation to English IFU V03	09-2025	-



© Autorska prava MacroArray Diagnostics

MacroArray Diagnostics (MADx)

Lemböckgasse 59, Top 4

1230 Vienna, Austria

+43 (0)1 865 2573

www.madx.com

Broj verzije: 03-IFU-01-HR-01