



ALEX³ ALLERGY XPLORE^R

INSTRUKCJA OBSŁUGI

SPIS TREŚCI

I.	ZASTRZEŻENIE JĘZYKOWE	2
II.	OŚWIADCZENIE O ODPOWIEDZIALNOŚCI	2
III.	OPIS	2
IV.	PRZEWIDZIANE ZASTOSOWANIE	3
V.	PODSUMOWANIE I WYJAŚNIENIE TESTU	3
VI.	ZASADA PROCEDURY	4
VII.	TRANSPORT I PRZECHOWYWANIE	4
VIII.	UTYLIZACJA ODPADÓW	5
IX.	SŁOWNIK SYMBOLI	5
X.	ELEMENTY ZESTAWU	7
XI.	WYMAGANE WYPOSAŻENIE DO PROCEDURY I ANALIZY	11
XII.	OBSŁUGA MATRYC	11
XIII.	OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI	12
XIV.	PROCEDURA WYKONANIA TESTU	13
XV.	KONTROLA JAKOŚCI	20
XVI.	ANALIZA DANYCH	21
XVII.	WYNIKI	21
XVIII.	OGRANICZENIA PROCEDURYc	21
XIX.	OCZEKIWANE WARTOŚCI	22
XX.	WŁAŚCIWOŚCI DIAGNOSTYCZNE	22
XXI.	GWARANCJA	27
XXII.	SKRÓTY	28



I. ZASTRZEŻENIE JĘZYKOWE

Niniejsza Instrukcja Obsługi (IFU) jest dostępna w wielu językach zgodnie z rozporządzeniem (UE) 2017/746. W przypadku jakichkolwiek rozbieżności lub niezgodności pomiędzy wersją angielską, a tłumaczeniem, wiążąca i nadrzędna pozostaje wersja angielska.

II. OŚWIADCZENIE O ODPOWIEDZIALNOŚCI

Niniejsza IFU została sprawdzona pod kątem poprawności. Instrukcje dla ALEX³ Allergy Xplorer były prawidłowe w chwili publikacji. Kolejne wersje tego dokumentu mogą być aktualizowane bez wcześniejszego powiadomienia.

Zestaw ALEX³ Allergy Xplorer jest wyrobem medycznym do diagnostyki in vitro, przeznaczonym wyłącznie do użytku przez przeszkolony personel laboratoryjny. Może być stosowany jedynie zgodnie z niniejszą IFU i wyłącznie w przewidzianym celu. IFU należy przestrzegać bez wyjątku. Jeśli użytkownik nie ma doświadczenia w obsłudze zestawu ALEX³, ma obowiązek uzyskać informacje od MacroArray Diagnostics (MADx) przed użyciem.

MADx nie ponosi odpowiedzialności za niewłaściwe użycie zestawu ALEX³. MADx ponosi odpowiedzialność za szkody w mieniu lub uszczerbek na zdrowiu wynikające bezpośrednio bądź pośrednio z błędów w niniejszej IFU tylko w przypadku rażącego niedbalstwa lub działania umyślnego, a w przypadku szkód osobowych — wyłącznie w zakresie obowiązkowych przepisów prawa.

Jeśli jakiegokolwiek postanowienie niniejszej IFU zostanie uznane w całości lub w części za niezgodne z prawem lub niewykonalne, uważa się je w tym zakresie za niebędące częścią IFU, co nie wpływa na ważność i wykonalność pozostałych postanowień.

Niniejszy dokument jest chroniony prawem autorskim. Żadna jego część nie może być powielana, kopiowana ani odtwarzana w formie elektronicznej lub maszynowej bez uprzedniej pisemnej zgody MADx.

III. OPIS

ALEX³ Allergy Xplorer (ALEX³) jest testem diagnostycznym in vitro opartym na metodzie ELISA, przeznaczonym do ilościowego oznaczania swoistych przeciwciał IgE (sIgE). Może być wykonywany manualnie przy użyciu urządzenia ImageXplorer (REF 11-0000-01) lub automatycznie na systemach MAX 9k (REF 17-0000-01) oraz MAX 45k (REF 16-0000-01).

Niniejsza Instrukcja Obsługi dotyczy następujących produktów:

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



IV. PRZEWIDZIANE ZASTOSOWANIE

ALEX³ Allergy Xplorer jest zestawem do badania in vitro ludzkiej surowicy lub osocza (z wyjątkiem osocza EDTA) w celu wspomagania diagnozy chorób IgE-zależnych, w połączeniu z innymi wynikami badań klinicznych i diagnostycznych.

Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro wykrywa swoiste IgE (sIgE) ilościowo oraz całkowite IgE (tIgE) ilościowo w zakresie od 2 do 1000 kU/l (półilościowo w zakresie 1001–2500 kU/l). Produkt przeznaczony jest do użytku wyłącznie przez przeszkolony personel laboratoryjny i profesjonalistów medycznych w laboratoriach diagnostycznych.

V. PODSUMOWANIE I WYJAŚNIENIE TESTU

Reakcje alergiczne są natychmiastowymi reakcjami nadwrażliwości typu I i są mediowane przez przeciwciała klasy IgE. Po ekspozycji na określony alergen, uwolnienie histaminy i innych mediatorów z komórek tucznych i bazofilów prowadzi do objawów klinicznych, takich jak astma, alergiczny nieżyt nosa i spojówek, atopowe zapalenie skóry czy objawy ze strony przewodu pokarmowego [1]. Dlatego szczegółowy profil uczulenia na konkretne alergeny wspomaga ocenę pacjentów alergicznych [2–6]. Nie ma ograniczeń co do populacji, w której można stosować ten test. Przy opracowywaniu oznaczeń IgE, wiek ani płeć nie są uznawane za czynniki krytyczne, ponieważ poziomy IgE mierzone w testach nie różnią się istotnie w zależności od tych cech demograficznych.

ALEX³ obejmuje wszystkie główne źródła alergenów typu I. Pełna lista ekstraktów i komponentów molekularnych zawartych w ALEX³ znajduje się na końcu niniejszej instrukcji.

Ważna informacja dla użytkownika!

Aby poprawnie korzystać z testu ALEX³, użytkownik powinien dokładnie przeczytać i stosować się do niniejszej instrukcji obsługi. Producent nie ponosi odpowiedzialności za stosowanie systemu testowego w sposób nieopisany w niniejszym dokumencie ani za jego modyfikacje dokonane przez użytkownika.

Uwaga: Wariant zestawu 03-2001-01 (20 matryc) testu ALEX³ przeznaczony jest wyłącznie do procedury manualnej. Aby stosować go z automatem MAX 9k, należy oddzielnie zamówić Washing Solution (REF 00-5003-01) oraz Stop Solution (REF 00-5007-01). Wszystkie dalsze informacje produktowe znajdują się w odpowiednich instrukcjach użytkowania: <https://www.madx.com/extras>.

Wariant zestawu 03-5001-01 (50 matryc) przeznaczony jest wyłącznie do pracy automatycznej z MAX 9k (REF 17-0000-01) oraz MAX 45k (REF 16-0000-01) i pod żadnym pozorem nie może być stosowany z urządzeniem ImageXplorer (REF 11-0000-01).



VI. ZASADA PROCEDURY

ALEX³ jest testem immunologicznym opartym na metodzie immunoenzymatycznej ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Ekstrakty alergenów lub alergeny molekularne, sprzężone z nanocząsteczkami, są наносzone w uporządkowany sposób na stałe podłoże, tworząc makroskopową matrycę. Najpierw alergeny związane z nanocząsteczkami reagują ze swoistymi przeciwciałami IgE obecnymi w próbce pacjenta. Po inkubacji nieswoiste IgE są usuwane w procesie płukania. Procedura jest kontynuowana poprzez dodanie enzymatycznie znakowanego przeciwciała przeciw ludzkiego IgE, które tworzy kompleks ze związanym swoistym IgE. Po drugim etapie płukania dodaje się substrat, który jest przekształcany przez enzym związany z przeciwciałem w nierozpuszczalny, barwny osad. Reakcja enzym-substrat jest zatrzymywana poprzez dodanie odczynnika blokującego. Ilość powstałego osadu jest proporcjonalna do stężenia swoistego IgE w próbce pacjenta. Procedurę laboratoryjną uzupełnia akwizycja i analiza obrazu przy użyciu systemu manualnego (ImageXplorer) lub systemów automatycznych (MAX 45k albo MAX 9k). Wyniki testu są analizowane za pomocą RAPTOR SERVER Analysis Software i raportowane w jednostkach odpowiedzi IgE (kU_A/l). Wyniki oznaczeń całkowitego IgE są również podawane w jednostkach odpowiedzi IgE (kU/l). RAPTOR SERVER jest dostępny w wersji 1; pełny czterocyfrowy numer wersji można znaleźć w stopce programu RAPTOR SERVER dostępnej pod adresem: www.raptor-server.com/imprint.

VII. TRANSPORT I PRZECHOWYWANIE

Zestawy ALEX³ są wysyłane w warunkach temperatury otoczenia. Niemniej jednak, po dostarczeniu zestaw należy niezwłocznie przechowywać w temperaturze 2–8 °C. Przy prawidłowym przechowywaniu, ALEX³ i jego komponenty mogą być stosowane do daty ważności podanej na opakowaniu.



Odczynniki zestawu są stabilne przez 6 miesięcy po otwarciu (przy zachowaniu wskazanych warunków przechowywania).

Transport i przechowywanie próbek

Rodzaj próbki	Surowica	Osocze (cytrynian)	Osocze (heparyna)
Przechowywanie krótkoterminowe	1 tydzień w 2–8 °C (zapobieganie rozwojowi drobnoustrojów)		
Przechowywanie długoterminowe	25–37 lat w –20 °C [7–8]		
Transport	17 dni w temperaturze pokojowej [9]		



VIII. UTYLIZACJA ODPADÓW

Aby zapewnić bezpieczną utylizację wyrobu, użytkownicy muszą przestrzegać odpowiednich przepisów lokalnych, regionalnych i krajowych dotyczących gospodarki odpadami oraz ochrony środowiska. Szczególną uwagę należy zwrócić na elementy i materiały eksploatacyjne, które mogą stanowić ryzyko infekcji lub skażenia mikrobiologicznego (np. materiały mające kontakt z próbkami ludzkiej surowicy).

Zużyte kartridże ALEX³ oraz wszelkie niewykorzystane komponenty zestawu należy utylizować jako odpady chemiczne z laboratorium.

IX. SŁOWNIK SYMBOLI

	Ostrzeżenie (piktogram GHS) Zapoznaj się z kartą charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS), aby uzyskać więcej informacji.
	Numer katalogowy
	Wystarczające dla <n> testów
	Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Znak CE 2962 (Jednostka notyfikowana 2962: QMD Services GmbH, Zelinkagasse 10/3, 1010 Wiedeń, Austria)
	Kod partii
	Zapoznaj się z instrukcją obsługi
	Producent



	Data produkcji
	Nie używać ponownie
	Cartridge (Kartridż)
	Data ważności (użyj przed)
	Zakres temperatur przechowywania
	Uwaga
	Unikalny identyfikator wyrobu (UDI)
	Ikona ALEX ³
	MacroArray Diagnostics (MADx)



X. ELEMENTY ZESTAWU

Nowa nomenklatura serii odczynników

Uwaga: Wprowadzamy nową nomenklaturę serii (numerów LOT) dla wszystkich odczynników MADx (nomenklatura dla kartridży pozostaje bez zmian).

Zestawy ALEX³ z numerem serii 03EAA01 oraz wszystkie kolejne będą objęte tą zmianą.

Kluczowe informacje:

- **Brak zmian w etykietach kartridży**
- Specyficzne odczynniki w ramach jednej serii odczynników będą miały taką samą nomenklaturę etykiety i mogą być łączone z różnymi seriami kartridży.
Będziemy zmieniać jedynie **pozycję 1 i 2 trzy-literowego kodu** dla odczynników. Dla przykładu:
 - Odczynniki z etykietą **DAA** mogą być łączone z seriami kartridży **DAA, DAB, DAC, DAD,...** aż do **DAT**.
 - Odczynniki z etykietą **DBA** mogą być łączone z seriami kartridży **DBA, DBB, DBC, DBD,...** aż do **DBT**.
- Oprogramowanie RAPTOR SERVER Analysis Software zostało już zaktualizowane, aby uwzględnić te zmiany. **Nie są wymagane żadne działania ze strony użytkowników.**
RAPTOR SERVER rozpozna i połączy odpowiednie kartridże z odpowiadającymi im odczynnikami.

Każdy komponent (odczynnik) jest stabilny do daty podanej na jego etykiecie. Nie wolno łączyć, ani mieszać odczynników z różnych serii odczynników (różne dwie pierwsze litery kodu). Pełną listę ekstraktów alergenów i alergenów molekularnych immobilizowanych na matrycy ALEX³ można uzyskać, kontaktując się z adresem: pm@macroarraydx.com.

ELEMENTY ZESTAWU REF 03-2001-01	Opis	Właściwości (składniki reaktywne podkreślono)
ALEX ³ Cartridge (Kartridż)	2 blistry po 10 kartridży ALEX ³ , razem 20 oznaczeń. Kalibracja przez krzywą wzorcową dostępną w oprogramowaniu RAPTOR SERVER Analysis Software.	Kartridż z polistyrenu zawierający <u>fazę stałą testu immunoenzymatycznego</u> . Gotowy do użycia. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności.



ELEMENTY ZESTAWU REF 03-2001-01	Opis	Właściwości (składniki reaktywne podkreślono)
ALEX ³ Sample Diluent	1 butelka po 9 ml	<u>Bloker CCD</u> , bufor TBS-Tween (0,2%), <0,1 % azydku sodu. Gotowy do użycia. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności. Przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej. Po otwarciu stabilny 6 miesięcy w temp. 2–8 °C.
Washing Solution	2 butelki po 50 ml	<u>Bufor TBS-Tween</u> (0,2%), <0,1 % azydku sodu. Gotowy do użycia. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności. Przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej. Po otwarciu stabilny 6 miesięcy w temp. 2–8 °C.
ALEX ³ Detection Antibody	1 butelka po 11 ml	<u>Ludzkie przeciwciało anti-IgE</u> w buforze koniugatowym z dodatkami. Gotowy do użycia. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności. Przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej. Po otwarciu stabilny 6 miesięcy w temp. 2–8 °C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 butelka po 11 ml	<u>Substrat NBT/BCIP</u> (NBT: 4-nitro błękit tetrazoliowy, roztwór; BCIP: 5-bromo-4-chloro-3-indolilo-fosforan, sól 4-toluidyny). Gotowy do użycia. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności. Przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej. Po otwarciu stabilny 6 miesięcy w temp. 2–8 °C.



ELEMENTY ZESTAWU REF 03-2001-01	Opis	Właściwości (składniki reaktywne podkreślono)
(ALEX ³) Stop Solution	1 butelka po 2,4 ml	<u>Roztwór kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA)</u> . Gotowy do użycia. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności. Przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej. Po otwarciu stabilny 6 miesięcy w temp. 2–8 °C. Może ulegać zmętnieniu podczas długotrwałego przechowywania — nie wpływa to na wyniki.

ELEMENTY ZESTAWU REF 03-5001-01	Opis	Właściwości (składniki reaktywne podkreślono)
ALEX ³ Cartridge (Kartridż)	5 blistrów po 10 ALEX ³ , razem 50 oznaczeń. Kalibracja przez krzywą wzorcową dostępną w oprogramowaniu RAPTOR SERVER Analysis Software.	Kartridż z polistyrenu zawierający <u>fazę stałą testu immunoenzymatycznego</u> . Gotowy do użycia. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności.
ALEX ³ Sample Diluent	1 butelka po 30 ml	<u>Bloker CCD</u> , bufor TBS-Tween (0,2%), <0,1 % azydku sodu. Gotowy do użycia. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności. Przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej. Po otwarciu stabilny 6 miesięcy w temp. 2–8 °C.
Washing Solution	4x conc. 1 butelka po 250 ml	<u>Bufor TBS-Tween</u> (0,2%), <0,1 % azydku sodu. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności. Przed użyciem rozcieńczyć 1:4 wodą demineralizowaną (250 ml Washing Solution 4x conc. + 750 ml wody demineralizowanej). Przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej. Po otwarciu stabilny 6 miesięcy w temp. 2–8 °C.



ELEMENTY ZESTAWU REF 03-5001-01	Opis	Właściwości (składniki reaktywne podkreślono)
ALEX ³ Detection Antibody	1 butelka po 30 ml	<u>Ludzkie przeciwciało anti-IgE</u> w buforze koniugatowym z dodatkami. Gotowy do użycia. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności. Przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej. Po otwarciu stabilny 6 miesięcy w temp. 2–8 °C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 butelka po 30 ml	<u>Substrat NBT/BCIP</u> . Gotowy do użycia. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności. Przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej. Po otwarciu stabilny 6 miesięcy w temp. 2–8 °C.
(ALEX ³) Stop Solution	1 butelka po 10 ml	<u>Roztwór EDTA</u> . Gotowy do użycia. Przechowywać w temp. 2–8 °C do daty ważności. Przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej. Po otwarciu stabilny 6 miesięcy w temp. 2–8 °C. Może ulegać zmętnieniu podczas długotrwałego przechowywania — nie wpływa to na wyniki.



XI. WYMAGANE WYPOSAŻENIE DO PROCEDURY I ANALIZY

Akcesoria	Opis
Akcesoria/Produkty do procedury <u>MANUALNEJ</u>	
ImageXplorer (REF 11-0000-01)	Urządzenie obrazujące specjalnie zaprojektowane do akwizycji obrazów kartridży testowych opartych na technologii ALEX, używane w procedurze <u>manualnej</u> .
Array Holder (Uchwyt na kartridże) (opcjonalnie)	Produkt ułatwiający obsługę kartridży podczas procedury manualnej.
Lab Rocker (Kołyska laboratoryjna)	Niezbędne w procedurze <u>manualnej</u> . Parametry: pionowe kołysanie, szer. x gł. x wys – 28×15×33 cm, kąt nachylenia 8°, wymagana prędkość 8 obr./min.
Incubation chamber (Komora inkubacyjna)	Niezbędna w procedurze manualnej (szer. x gł. x wys. – 35×25×2 cm).
Akcesoria/Produkty do procedury <u>AUTOMATYCZNEJ</u>	
Urządzenia MAX: MAX 45k (REF 16-0000-01) MAX 9k (REF 17-0000-01)	Instrumenty do <u>automatycznej</u> procedury kartridży testowych opartych na technologii ALEX.
Washing Solution 4x conc. (REF 00-5003-01)	Odczynniki do automatycznej procedury kartridży ALEX. Washing Solution i Stop Solution są elementami zestawu, ale mogą być również zakupione osobno w przypadku potrzeby użycia większych objętości.
Stop Solution (REF 00-5007-01)	
Inne wymagane Akcesoria/Produkty	
RAPTOR SERVER Analysis Software (REF 22-0000-01)	Oprogramowanie do akwizycji i analizy obrazów uzyskanych przy pomocy urządzenia ImageXplorer lub urządzeń MAX.
Komputer PC lub laptop	-
Pipety i końcówki	10 - 100 µl i 100 - 1000 µl
Woda demineralizowana	-

XII. OBSŁUGA MATRYCY

Nie dotykać powierzchni matrycy. Wszelkie uszkodzenia powierzchni spowodowane tępymi lub ostrymi przedmiotami mogą zakłócać prawidłowy odczyt wyników. Nie należy wykonywać obrazowania ALEX³ przed całkowitym wyschnięciem matrycy (suszyć w temperaturze pokojowej).



XIII. OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

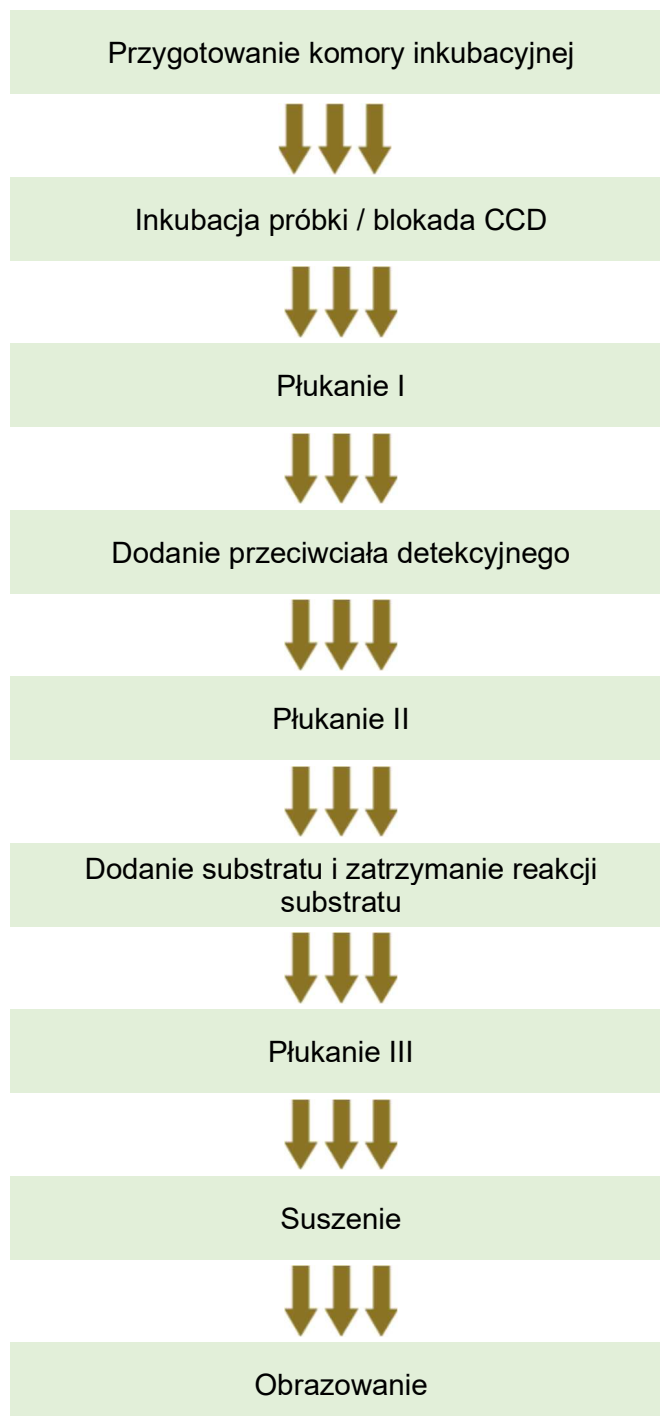
- Zaleca się stosowanie ochrony rąk i oczu oraz fartuchów laboratoryjnych, a także przestrzeganie zasad dobrej praktyki laboratoryjnej podczas przygotowywania i obsługi odczynników i próbek.
- Zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną, wszystkie materiały pochodzenia krwi (np. składniki odczynników lub inne komponenty) należy traktować jako potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi w taki sam sposób jak z próbkami krwi.
- ALEX³ Sample Diluent i Washing Solution zawierają azydek sodu (<0,1%) jako środek konserwujący i muszą być stosowane ostrożnie. Karta charakterystyki substancji niebezpiecznej dostępna jest na żądanie.
- (ALEX³) Stop Solution zawiera roztwór kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA) i musi być stosowany ostrożnie. Karta charakterystyki substancji niebezpiecznej dostępna jest na żądanie.
- Wyłącznie do diagnostyki in vitro. Nie do stosowania wewnętrznego ani zewnętrznego u ludzi lub zwierząt.
- Zestaw powinien być używany wyłącznie przez personel przeszkolony w zakresie praktyki laboratoryjnej.
- Po dostawie należy sprawdzić komponenty zestawu pod kątem uszkodzeń. Jeśli którykolwiek komponent jest uszkodzony (np. butelki z buforami), należy skontaktować się z MADx (support@madx.com) lub lokalnym dystrybutorem. Nie używać uszkodzonych komponentów zestawu, ponieważ ich stosowanie może prowadzić do nieprawidłowego działania zestawu.
- Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
- Nie mieszać odczynników pochodzących z różnych serii produkcyjnych.
- Kartridże ALEX³ przeznaczone są wyłącznie do jednorazowego użytku i nie mogą być ponownie wykorzystywane. Odczynniki mogą być otwierane i ponownie używane przez okres do 6 miesięcy od daty pierwszego otwarcia lub do całkowitego zużycia zawartości zestawu, w zależności od tego, co nastąpi pierwsze.
- Szczegółowe informacje dotyczące bezpiecznej utylizacji wyrobu znajdują się w Rozdziale VIII niniejszej IFU.
- Następujące zwroty H i P mają zastosowanie do Stop Solution: H319 – Powoduje poważne podrażnienie oczu; P264 – Dokładnie umyć skórę po użyciu; P305 + P351 + P338 – W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie; P337 + P313 – W przypadku utrzymującego się podrażnienia oczu: zasięgnąć porady lekarza.
- Każde **poważne zdarzenie** związane ze stosowaniem niniejszego wyrobu należy zgłosić **producentowi** pod adresem support@madx.com oraz **właściwemu organowi** w państwie członkowskim, w którym znajduje się użytkownik i/lub pacjent.



XIV. PROCEDURA WYKONANIA TESTU

Procedura manualna

Zestawy ALEX³ mogą być stosowane jako test manualny w połączeniu z urządzeniem ImageXplorer (REF 11-0000-01).





Przygotowania

Przygotowanie próbek: Do testu można używać próbek surowicy lub osocza (heparynowe, cytrynianowe, nie EDTA) pobranych z krwi kapilarnej lub żyłnej. Pobieranie próbek krwi odbywa się zgodnie ze standardowymi procedurami. Przechowywanie: próbki krwi można przechowywać w temperaturze 2–8 °C do jednego tygodnia. Długotrwałe przechowywanie: próbki surowicy i osocza należy przechowywać w temperaturze –20 °C. Transport: dopuszczalny jest transport próbek surowicy/osocza w temperaturze pokojowej. Przed użyciem próbki należy zawsze doprowadzić do temperatury pokojowej.

Komora inkubacyjna: Podczas wszystkich etapów testu należy zamykać pokrywę komory inkubacyjnej, aby zapobiec spadkowi wilgotności.

Parametry procedury:

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

Czas trwania testu: około 3 godziny 30 minut (bez czasu suszenia wykonanego testu).

Nie zaleca się wykonywania większej liczby testów niż można rozpipetować w ciągu 8 minut. Wszystkie inkubacje należy prowadzić w temperaturze pokojowej 20–26 °C.



Wszystkie odczynniki należy stosować w temperaturze pokojowej (20–26 °C). Testu nie wolno wykonywać w bezpośrednim świetle słonecznym.

Przygotowanie komory inkubacyjnej

Otwórz komorę inkubacyjną i umieść ręczniki papierowe w dolnej części. Namocz ręczniki wodą demineralizowaną tak, aby nie pozostały żadne suche fragmenty papieru.

Wykonanie procedury manualnej

1. Inkubacja próbki/blokada CCD

Wymij potrzebną liczbę kartridży ALEX³ i umieść je w uchwycie na kartridże. Do każdego kartridża dodaj 400 µl ALEX³ Sample Diluent. Dodaj 100 µl próbki pacjenta do każdego kartridża. Upewnij się, że powstały roztwór jest równomiernie rozprowadzony. Umieść kartridże w przygotowanej komorze inkubacyjnej, a następnie ustaw komorę z kartridżami na lab rocker w taki sposób, aby kartridże kołysały się wzdłuż dłuższego boku. Rozpocznij inkubację surowicy przy prędkości 8 obr./min przez 2 godziny. Przed uruchomieniem lab



rocker zamknij komorę inkubacyjną. Po upływie 2 godzin wylej próbki do pojemnika zbiorczego. Ostrożnie usuń krople z kartridża, wycierając go ręcznikiem papierowym.



Unikaj dotykania powierzchni matrycy ręcznikiem papierowym! Należy unikać przeniesienia lub krzyżowej kontaminacji próbek pomiędzy poszczególnymi kartridżami ALEX³!

Opcjonalnie lub wynik dodatni Hom s LF (marker CCD): Przy zastosowaniu standardowego protokołu inhibicji przeciwciał CCD (opisanego w punkcie 2: inkubacja próbki/inhibicja CCD), 98% wszystkich badanych próbek wykazuje wynik ujemny dla markera kontroli inhibicji CCD Hom s LF. W przypadku gdy Hom s LF jest dodatni przy zastosowaniu standardowego protokołu, zaleca się następującą procedurę:

Przygotuj probówkę o objętości 1 ml, dodaj 400 µl Sample Diluent ALEX³ i 100 µl surowicy. Inkubuj przez 30 minut (bez kołysania). Następnie przejdź do standardowej procedury testowej.

Uwaga: Dodatkowy etap inhibicji CCD prowadzi w wielu, choć nie we wszystkich przypadkach, do całkowitej inhibicji przeciwciał CCD (ujemny Hom s LF).

1a. Płukanie I

Dodaj 500 µl Washing Solution do każdego kartridża. Inkubuj na lab rocker przy 8 obr./min przez 5 minut. Wylej Washing Solution do pojemnika zbiorczego i energicznie stuknij kartridżami o stos suchych ręczników papierowych. Ostrożnie usuń pozostałe krople z kartridży przy pomocy ręcznika papierowego.

Powtórz ten krok jeszcze 2 razy.

2. Dodanie przeciwciała detekcyjnego

Dodaj 500 µl ALEX³ Detection Antibody do każdego kartridża.



Upewnij się, że cała powierzchnia matrycy jest pokryta roztworem ALEX³ Detection Antibody.

Umieść kartridże w komorze inkubacyjnej na lab rocker i inkubuj przy 8 obr./min przez 30 minut. Następnie wylej roztwór Detection Antibody do pojemnika zbiorczego i energicznie stuknij kartridżami o stos suchych ręczników papierowych. Ostrożnie usuń pozostałe krople z kartridży przy pomocy ręcznika papierowego.



2a. Płukanie II

Dodaj 500 µl Washing Solution do każdego kartridża. Inkubuj na lab rocker przy 8 obr./min przez 5 minut. Wylej Washing Solution do pojemnika zbiorczego i energicznie stuknij kartridżami o stos suchych ręczników papierowych. Ostrożnie usuń pozostałe krople z kartridży ręcznikiem papierowym.

Powtórz ten krok jeszcze 4 razy.

3+4. Dodanie ALEX³ Substrate Solution i zatrzymanie reakcji substratowej

Dodaj 500 µl ALEX³ Substrate Solution do każdego kartridża. Uruchom stoper w momencie napełniania pierwszego kartridża i kontynuuj napełnianie kolejnych. Upewnij się, że cała powierzchnia matrycy jest pokryta Substrate Solution. Inkubuj matryce dokładnie 8 minut bez kołysania (**lab rocker ustawiona na 0 obr./min w pozycji poziomej**).

Po upływie dokładnie 8 minut, dodaj 100 µl (ALEX³) Stop Solution do wszystkich kartridży, zaczynając od pierwszego kartridża, aby zapewnić jednakowy czas inkubacji z ALEX³ Substrate Solution. Ostrożnie poruszaj, aby równomiernie rozprowadzić (ALEX³) Stop Solution w kartridżach, po tym jak został on dodany do wszystkich testów. Następnie wylej mieszaninę (ALEX³) Substrate/Stop Solution z kartridży i energicznie stuknij kartridżami o stos suchych ręczników papierowych. Ostrożnie usuń pozostałe krople z kartridży przy pomocy ręcznika papierowego.



NIE KOŁYSAĆ podczas inkubacji substratu!

4a. Płukanie III

Dodaj 500 µl Washing Solution do każdego kartridża. Inkubuj na lab rocker przy 8 obr./min przez 30 sekund. Wylej Washing Solution do pojemnika zbiorczego i energicznie stuknij kartridżami o stos suchych ręczników papierowych. Ostrożnie usuń pozostałe krople z kartridży ręcznikiem papierowym.

5. Obrazowanie

Po zakończeniu procedury testowej należy pozostawić matryce do wyschnięcia w temperaturze pokojowej, aż będą całkowicie suche (może to potrwać do 45 minut). Jeśli wymagany jest dłuższy czas suszenia, matryce powinny być przechowywane w środowisku chronionym przed światłem do czasu analizy.



Całkowite wysuszenie matryc jest kluczowe dla czułości testu. Tylko całkowicie wysuszone matryce zapewniają optymalny stosunek sygnału do szumu.

Wysuszone matryce są następnie skanowane przy użyciu czytnika ImageXplorer.

Procedura automatyczna

Zestawy ALEX³ mogą być stosowane jako test automatyczny przy użyciu systemów MAX 9k (REF 17-0000-01) lub MAX 45k (REF 16-0000-01). Te wyroby medyczne do diagnostyki in vitro automatycznie przetwarzają matryce oparte na technologii ALEX oraz wykonują ich obrazowanie.



Personel musi być przeszkolony w obsłudze urządzeń MAX (MAX 45k lub MAX 9k). Aktualna wersja instrukcji użytkownika dla systemów MAX jest dostępna tutaj: <https://www.madx.com/extras>.

Przygotowania

Przygotowanie próbek: Do testu można stosować próbki surowicy lub osocza (heparynowe, cytrynianowe, nie EDTA) pobrane z krwi kapilarnej lub żyłnej. Pobieranie próbek krwi odbywa się zgodnie ze standardowymi procedurami. Przechowywanie krótkoterminowe: próbki można przechowywać w temperaturze 2–8 °C do jednego tygodnia. Przechowywanie długoterminowe: próbki surowicy i osocza należy przechowywać w temperaturze –20 °C. Transport: dopuszczalny jest transport próbek surowicy/osocza w temperaturze pokojowej. Przed użyciem próbki należy zawsze doprowadzić do temperatury pokojowej.

Przygotowanie Washing Solution (tylko dla REF 03-5001-01 i REF 00-5003-01 przy pracy z urządzeniem MAX): Zawartość jednej fiołki Washing Solution należy wlać do pojemnika płuczącego instrumentu. Następnie do czerwonego oznaczenia uzupełnić wodą demineralizowaną i kilkakrotnie ostrożnie wymieszać zawartość pojemnika, unikając tworzenia piany. Otwarty odczynnik jest stabilny przez 6 miesięcy w temperaturze 2–8 °C.

Wykonanie automatyczne

Instrukcje dotyczące przeprowadzenia testu znajdują się w instrukcji użytkownika IFU urządzeń MAX, podrozdziały XVII.7–10 i muszą być ściśle przestrzegane.

W zależności od objętości próbki dostępne są dwa tryby pracy dla ALEX³: próbki wstępnie rozcieńczone ręcznie i próbki nierozcieńczone.



Element	MAX 45k	MAX 9k
Probówki o małej objętości (Low volume sample tubes)	Probówki Sarstedt „false-bottom” 2,5 ml, 75×13 mm (okrągłe) Numer do zamówienia: 60.614.010	
Minimalna objętość próbki dla 1 testu ALEX ³ , próbówka o małej objętości (Low volume sample tubes)	Bez rozcieńczenia: 200 µl Rozcieńczenie manualne: 120 µl surowicy + 480 µl Sample Diluent	
Probówki standardowe 13 mm	Wysokość: 75–100 mm Przykład: probówki Sarstedt 5 ml 75×13 mm Numer do zamówienia: 55.475 Używać z dostarczonym adapterem	Wysokość: 75 mm Przykład: probówki Sarstedt 5 ml 75×13 mm Numer do zamówienia: 55.475
Probówki standardowe 16 mm	Minimalna wysokość: 75 mm, maksymalna wysokość: 100 mm Przykład: probówki Sarstedt 13 ml, 100×16 mm Numer do zamówienia: 55.459	–
Minimalna objętość próbki dla 1 testu ALEX ³ , próbówka standardowa 13/16 mm	Bez rozcieńczenia: 400 µl Rozcieńczone ręcznie: 145 µl surowicy + 580 µl Sample Diluent	

	Przed użyciem jakiegokolwiek innej próbki niż wymienione powyżej, prosimy o kontakt z działem wsparcia MADx lub lokalnym dystrybutorem
---	--

Szczegółowe wymagania dotyczące probówek oraz instrukcje dotyczące rozcieńczeń znajdują się w rozdziale XXI (Specyfikacja techniczna) instrukcji użytkowania systemów MAX (MAX Systems IFU). Aktualna wersja instrukcji użytkowania MAX (Systems IFU) jest dostępna tutaj: <https://www.madx.com/extras>.

Opcjonalnie lub wynik dodatni Hom s LF (marker CCD): Przy zastosowaniu standardowego protokołu inhibicji przeciwciał CCD (opisanego w punkcie 2: inkubacja próbki/inhibicja CCD), 98% wszystkich badanych próbek wykazuje wynik ujemny dla markera kontroli inhibicji CCD Hom s LF.

W przypadku gdy Hom s LF jest dodatni przy zastosowaniu standardowego protokołu, próbki surowicy należy wstępnie rozcieńczyć ręcznie (patrz tabela powyżej) i inkubować przez 30 minut (bez kołysania), a następnie umieścić probówki w karuzeli na próbki.



Analiza obrazu

Zeskanowane matryce oparte na technologii ALEX analizowane są za pomocą oprogramowania RAPTOR SERVER Analysis Software (szczegóły znajdują się w instrukcji użytkownika RAPTOR SERVER pod adresem: <https://www.madx.com/extras>).

Oprogramowanie RAPTOR SERVER Analysis Software jest zweryfikowane wyłącznie w połączeniu z urządzeniem ImageXplorer oraz systemami MAX, dlatego MADx nie ponosi odpowiedzialności za wyniki uzyskane przy użyciu innych urządzeń do akwizycji obrazu (np. skanerów).

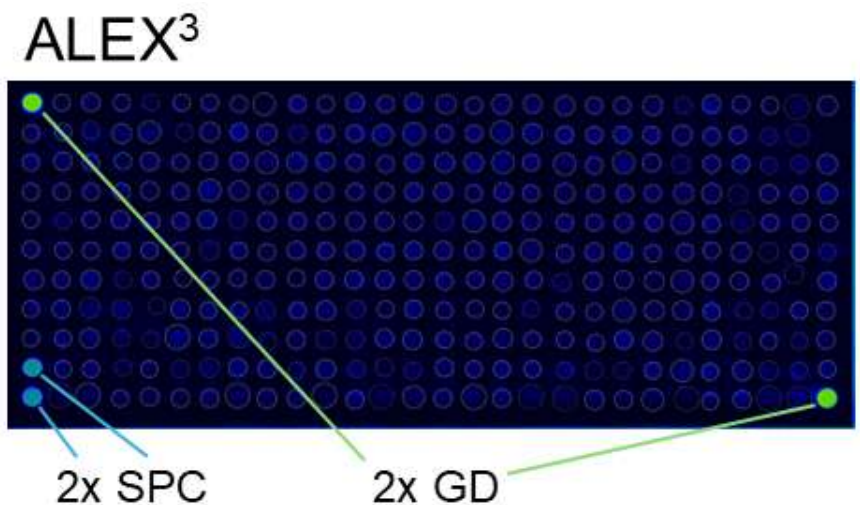
Na matrycy ALEX³ znajdują się dwa punkty Kontroli Pipetowania Próbek (SPC, Sample Pipetting Control). Oba punkty służą do potwierdzenia, że próbki pacjenta zostały przeniesione do każdej matrycy danego przebiegu testu. Po zakończeniu procedury punkty SPC muszą być dobrze widoczne gołym okiem. Jeżeli nie są widoczne, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub działem wsparcia MADx w celu uzyskania instrukcji. Jeżeli punkty SPC są widoczne, oznacza to, że próbki pacjentów zostały poprawnie napipetowane.

Matryca pomiarowa z naniesioną siatką jest wyświetlana w obszarze obrazu analitycznego. Oprogramowanie automatycznie identyfikuje pozycję matrycy w obrazie na podstawie punktów prowadzących (Guide Dots, GD). Na matrycy ALEX³ znajdują się dwa punkty GD.

Po zakończeniu procedury punkty GD muszą być dobrze widoczne gołym okiem. Należy także zweryfikować ich prawidłową orientację, jak pokazano na ilustracji ALEX³ poniżej. Jeżeli nie są widoczne, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub działem wsparcia MADx. Jeśli punkty GD są widoczne, kartridż może być dalej analizowany.

Podczas akwizycji obrazu kartridża ALEX³, RAPTOR SERVER ocenia sygnał wszystkich punktów GD oraz sygnał tła powierzchni membrany. Jeżeli wszystkie kryteria jakościowe są spełnione, pole „automatic QC” pod obrazem zostaje oznaczone jako „OK”.

Aby wykluczyć wpływ artefaktów w automatycznej analizie obrazu (kropki satelitarne, zanieczyszczenia próbek, kurz, rozmazane punkty, ...), obrazy muszą zostać zweryfikowane przez przeszkolonego operatora przed zatwierdzeniem wyników, aby wykluczyć wyniki fałszywe. W przypadku rozbieżności pomiędzy przetworzoną matrycą a obrazem uzyskanym przez RAPTOR SERVER należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub działem wsparcia MADx.



Kalibracja testu

Główna krzywa kalibracji ALEX³ została opracowana na podstawie badań referencyjnych z użyciem surowic zawierających swoiste IgE (slgE) przeciwko różnym antygenom, obejmującym zamierzony zakres pomiarowy. Parametry krzywej dla każdej serii są dostosowywane w systemie referencyjnym MADx na podstawie surowic badanych testem ImmunoCAP (Thermo Fisher), który obecnie uznawany jest za „metodę referencyjną” dla badań IgE in vitro (stanowisko WAO). Nie istnieje materiał referencyjny dla slgE. Dla całkowitego IgE (tlgE) dostępny jest materiał referencyjny WHO nr 11/234 i został on wykorzystany do opracowania krzywej głównej dla tlgE.

Wyniki slgE są ilościowe i raportowane w kU_A/l. Wyniki całkowitego IgE (tlgE) podawane są w jednostkach odpowiedzi IgE (kU/l), gdzie 1 kU/l odpowiada 2,42 ng/ml. Wyniki tlgE w zakresie 2–1000 kU/l są ilościowe i obliczane na podstawie pomiarów anti-IgE z wykorzystaniem współczynników kalibracyjnych specyficznych dla danej serii, które dostarcza oprogramowanie RAPTOR SERVER Analysis Software i które wybierane są zgodnie z kodami QR przypisanymi do serii. Dla tlgE, wyniki w zakresie 1001–2500 kU/l są półilościowe.

Systematyczne różnice sygnałów pomiędzy seriami są normalizowane poprzez heterologiczną kalibrację względem krzywej referencyjnej IgE. Wykorzystywany jest współczynnik korekcyjny, aby systematycznie korygować odchylenia charakterystyczne dla poszczególnych serii.

XV. KONTROLA JAKOŚCI

Rejestrowanie przebiegów testów

Zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej zaleca się zapisywanie numerów serii wszystkich użytych odczynników.



Próbki kontrolne

Zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej zaleca się uwzględnianie próbek kontrolnych w określonych odstępach czasu. Wartości referencyjne dla niektórych komercyjnie dostępnych surowic kontrolnych mogą zostać dostarczone przez MADx na życzenie.

XVI. ANALIZA DANYCH

Do analizy obrazów przetworzonych matryc należy używać urządzenia ImageXplorer lub systemu MAX. Obrazy ALEX³ są automatycznie analizowane za pomocą oprogramowania RAPTOR SERVER Analysis Software, które generuje raport podsumowujący wyniki dla użytkownika.

XVII. WYNIKI

ALEX³ ilościowo wykrywa sIgE (w zakresie 0,3–50 kU_A/l) oraz tIgE (w zakresie 2–1000 kU/l). Dla poziomów tIgE pomiędzy 1001–2500 kU/l detekcja jest półilościowa.

Przeciwciała swoiste IgE wyrażane są w jednostkach odpowiedzi IgE (kU_A/l), a wyniki całkowitego IgE w kU/l. Oprogramowanie RAPTOR SERVER Analysis Software automatycznie oblicza i raportuje wyniki sIgE i tIgE.

Interpretacja wyników

Wyniki testu ALEX³ są automatycznie analizowane i prezentowane w raporcie generowanym przez oprogramowanie RAPTOR SERVER Analysis Software. W celu dalszego wsparcia interpretacji klinicznej wyników wdrożony został specjalny moduł – RAVEN Interpretation Guidance. **Szczegółowe informacje dotyczące generowania raportu RAPTOR SERVER oraz interpretacji przy użyciu RAVEN znajdują się w instrukcji użytkownika RAPTOR SERVER Analysis Software (IFU), podrozdziały VII.2.1–2.4.**

Aktualna wersja instrukcji użytkownika RAPTOR SERVER Analysis Software (IFU) jest dostępna pod adresem: <https://www.madx.com/extras>.

XVIII. OGRANICZENIA PROCEDURYC

Ostateczna diagnoza kliniczna powinna być stawiana wyłącznie w powiązaniu ze wszystkimi dostępnymi wynikami klinicznymi przez personel medyczny i nie może opierać się wyłącznie na rezultatach jednej metody diagnostycznej.

W niektórych przypadkach (np. alergia pokarmowa) krążące przeciwciała IgE mogą pozostawać niewykrywalne, mimo że klinicznie występuje alergia pokarmowa wobec określonego alergenów, ponieważ przeciwciała te mogą być swoiste dla alergenów



zmodyfikowanych podczas przetwarzania przemysłowego, gotowania lub trawienia i w związku z tym nieobecnych w pierwotnym pokarmie, dla którego badany jest pacjent.

Ujemne wyniki w odniesieniu do jadu owadów wskazują jedynie na niewykrywalne poziomy swoistych przeciwciał IgE wobec jadu (np. z powodu długotrwałego braku ekspozycji) i nie wykluczają istnienia klinicznej nadwrażliwości na ukąszenia owadów.

U dzieci, szczególnie do 2. roku życia, prawidłowy zakres tIgE jest niższy niż u osób w okresie dojrzewania i dorosłych [10]. W związku z tym należy oczekiwać, że u większej liczby dzieci poniżej 2 lat całkowity poziom IgE będzie niższy od określonego limitu detekcji. To ograniczenie nie dotyczy pomiaru swoistych IgE.

XIX. OCZEKIWANE WARTOŚCI

Ścisły związek pomiędzy poziomami swoistych przeciwciał IgE a chorobami alergicznymi jest dobrze znany i szczegółowo opisany w literaturze [1]. Każdy pacjent uczulony będzie wykazywał indywidualny profil IgE w teście ALEX³. U zdrowych osób nieuczulonych odpowiedź IgE będzie poniżej 0,3 kU_A/l dla pojedynczych alergenów molekularnych i dla ekstraktów alergenowych w teście ALEX³. Zakres referencyjny dla całkowitego IgE u dorosłych wynosi < 100 kU/l. Dobra praktyka laboratoryjna zaleca, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres oczekiwanych wartości.

XX. WŁAŚCIWOŚCI DIAGNOSTYCZNE

Podsumowanie bezpieczeństwa i wydajności można znaleźć na stronie internetowej MADx: <https://www.madx.com/extras>.

1. Dokładność

ALEX³ wykazał wysoką dokładność, co potwierdzają dobre parametry precyzji (powtarzalność CV 6,6%, całkowita precyzja CV 13,8%) oraz wysoka zgodność z metodą referencyjną ($R^2 > 0,9$).

(a) Precyzja

Precyzja testu ALEX³ została oceniona zgodnie z projektem „badanie jednośrodkowe” opisanym w wytycznych EP05-A3. W tym przypadku wiele próbek jest analizowanych przez 20 dni, z jednym wykonaniem dziennie i trzema powtórzeniami na wykonanie („schemat 20 × 1 × 3”). Analiza statystyczna traktuje źródła zmienności związane z „dniami” i „przebiegami” jako czynniki. Metoda ta dostarcza szacunków dla dwóch typów precyzji: powtarzalności (= precyzja wewnątrz serii) oraz precyzji wewnątrzlaboratoryjnej (= precyzja w obrębie urządzenia = precyzja całkowita) [11].



Powtarzalność	Wyniki
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 %
Precyzja całkowita	Wyniki
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) Trafność pomiaru (slgE)

63 różne próbki zostały przebadane przy użyciu wszystkich 3 metod ALEX³ oraz ALEX² (tylko MAX 45k). Wybrane próbki zostały dodatkowo przebadane metodą ImmunoCAP dla alergenów priorytetowych. Zaobserwowany współczynnik determinacji R² pomiędzy różnymi metodami przedstawiono dla wszystkich alergenów priorytetowych:

Ara h 2

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

Phl p 1

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

Gal d 1

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

Pru p 3

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

Art v 1

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

Fel d 1

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

Pla l 1

R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,949	0,993	0,987	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					

Cari

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					



Wyniki	Średnia wartość R^2 pomiędzy wszystkimi metodami wynosi 0,972 Średnia wartość R^2 pomiędzy ImmunoCAP a ALEX³_MAX 45k wynosi 0,949 Średnia wartość R^2 pomiędzy ImmunoCAP a ALEX³_MAX 9k wynosi 0,969 Średnia wartość R^2 pomiędzy ImmunoCAP a ALEX³_ImageXplorer wynosi 0,947 (szczegóły przedstawiono na powyższej rycinie)
---------------	---

(b2) Trafność pomiaru (tlgE)

28 próbek zostało przebadanych przy użyciu wszystkich 3 metod ALEX³ oraz metodą ImmunoCAP jako metodą referencyjną dla tlgE. Dodatkowo, próbka ujemna została wzbogacona standardem WHO 11/234 i przebadana w duplikatach przy 9 różnych rozcieńczeniach.

Wyniki	<u>Porównanie metod tlgE „próbki rzeczywiste”:</u> R^2 tlgE pomiędzy ImmunoCAP a ALEX³_MAX 45k wynosi 0,963 R^2 tlgE pomiędzy ImmunoCAP a ALEX³_MAX 9k wynosi 0,919 R^2 tlgE pomiędzy ImmunoCAP a ALEX³_ImageXplorer wynosi 0,963 <u>Porównanie metod tlgE „próbki wzbogacone”:</u> R^2 MAX 45k = 0,996 & CV międzyrozcieńczeniowy: 5,62 % R^2 MAX 9k = 0,981 & CV międzyrozcieńczeniowy: 5,67 % R^2 ImageXplorer = 0,966 & CV międzyrozcieńczeniowy: 7,19 %
---------------	--

4. Czułość analityczna

Limit detekcji (LoD) dla sIgE został określony dla reprezentatywnych komponentów alergenowych (alergenów priorytetowych) i wynosi 0,3 kU_A/l dla wszystkich testowanych komponentów. Limit detekcji (LoD) dla tlgE wynosi 1,27 kU/l [12].

5. Swoistość analityczna

Nie stwierdzono wykrywalnej reaktywności krzyżowej z innymi ludzkimi immunoglobulinami (IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 oraz IgM) w ich prawidłowych stężeniach fizjologicznych.

Nie stwierdzono również wykrywalnej interferencji z cytrynianem lub heparyną (stosowanymi podczas przygotowania próbek), ani z bilirubiną, cholesterolem/triglicerydami czy hemoglobina w ich prawidłowych stężeniach fizjologicznych. Nie zaobserwowano także interferencji ze strony całkowitego IgE, które badano w stężeniach do 3000 kU/l.

6. Odniesienie metrologiczne wartości kalibratorów i materiałów kontrolnych

Nie dotyczy (N/D).



7. Zakres pomiarowy testu

Zakres pomiarowy został ustalony następująco:

Swoiste IgE (ilościowo): 0,3–50 kU_A/l

Całkowite IgE (ilościowo): 2–1000 kU/l

Całkowite IgE (półilościowo): 1001–2500 kU/l

Powyższe oparto na LoD oraz górnej granicy zakresu pomiarowego (efekt „haka”, ang. hook effect), obliczonej ogólnie zgodnie z wytyczną CLSI I/LA20, 3. wyd.

Wartość odcięcia testu (Assay Cut-Off) dla swoistego IgE jest równa 0,3 kU_A/l.

(a) Liniowość

Dodatnie próbki surowicy były seryjnie rozcieńczane próbką pustą w stosunku: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 i 1:128. Próbki nierozcieńczone i rozcieńczone testowano zgodnie z protokołem testu ALEX³.

Dla całkowitego IgE, próbka pusta została wzbogacona preparatem WHO 11/234, trzeci Standard Międzynarodowy dla surowicy IgE w stężeniu 2500 kU/l i seryjnie rozcieńczona, aby objąć pełny zakres pomiarowy.

Uzyskane wartości (O) porównano z wartościami szacowanymi (E). Obliczono iloraz O/E dla wybranych alergenów priorytetowych.

Wyniki	<u>slgE:</u> 83,8% (czyli 264 z 315) wszystkich wartości O/E dla alergenów priorytetowych mieściło się w zakresie 0,8–1,2. <u>tlgE:</u> 85,0% (czyli 17 z 20) wszystkich wartości O/E dla wzbogaconych preparatów tlgE mieściło się w zakresie 0,8–1,2.
----------------------	---

8. Informacje dotyczące skuteczności klinicznej

Ponieważ 247 z 300 alergenów było już obecnych na matrycy ALEX², ocena wydajności klinicznej ALEX² jest częściowo stosowalna do ALEX³. 53 nowe alergeny zostały zwalidowane z wykorzystaniem surowic klinicznie dobrze scharakteryzowanych pacjentów, uczulonych na odpowiednie źródło alergenu. Wszystkie alergeny zostały ocenione z użyciem klinicznie zwalidowanych surowic. Wykazano, że nowe alergeny swoiście wiążą przeciwciała IgE u co najmniej pięciu pacjentów uczulonych na odpowiednie źródło alergenu. Tam, gdzie było to możliwe, wyniki porównano także z dedykowanymi alergenami ImmunoCAP, co dodatkowo potwierdziło swoistość.

Swoistość nowych alergenów została zweryfikowana poprzez brak wiązania IgE w surowicach osób nieuczulonych. W przypadkach, w których nie był dostępny dedykowany ImmunoCAP,



skutecznie zastosowano ekstrakt alergenu jako substytut, co potwierdziło solidność wyników dotyczących wydajności klinicznej. W związku z tym skuteczność kliniczna została zweryfikowana.

(a) Badanie kliniczne ALEX²

Badanie kliniczne zatytułowane: „Diagnostic Accuracy of the MADx Multi Array Xplorer (MAX 45k) Automated Laboratory System and the MADx Allergy Explorer Version 2 (ALEX²) – IgE Multiplex Test for the Diagnosis of Pre-defined Groups of Specific High-priority Allergens (MADMAX)”. (ID ClinicalTrials.gov: NCT04435678) zostało pomyślnie zakończone w kwietniu 2022 r.

Łącznie w badaniu wzięło udział 837 pacjentów, w tym 689 osób uczulonych oraz 148 osób nieuczulonych.

(a1) Czułość:

Rodzaj alergii	Czułość (95% przedział ufności)
Alergia na pyłek brzozy (n=111)	94,6% (88,6-98,0)
Alergia na pyłek traw (n=113)	98,2% (93,8-99,8)
Alergia na roztocze kurzu domowego (n=148)	91,2% (85,4-95,2)
Alergia na kota (n=107)	92,5% (85,8-96,7)
Alergia na jad pszczele (n=104)	76,0% (66,6-83,8)
Alergia na jad osowatych (n=106)	94,3% (88,1-97,9)

(a2) Swoistość:

Test	Swoistość (95% przedział ufności)
Test ALEX ² porównany do objawów klinicznych (n=146)	95,9% (91,3-98,5)

(a3) Współczynnik wiarygodności

Współczynnik wiarygodności został obliczony na podstawie danych dotyczących czułości i swoistości zgodnie z następującym wzorem: Współczynnik wiarygodności = Czułość / (1 – Swoistość).



Rodzaj alergii	Obliczony współczynnik wiarygodności
Alergia na pyłek brzozy (n=111)	23,1 (0,946/(1-0,959))
Alergia na pyłek traw (n=113)	24,0 (0,982/(1-0,959))
Alergia na roztocza kurzu domowego (n=148)	22,2 (0,912/(1-0,959))
Alergia na kota (n=107)	22,6 (0,925/(1-0,959))
Alergia na jad pszczele (n=104)	18,5 (0,760/(1-0,959))
Alergia na jad os (n=106)	23,0 (0,943/(1-0,959))

9. Informacje dotyczące stabilności

Badania stabilności przeprowadzone w ramach przyspieszonego badania stabilności preparatu ALEX³ wykazały wysoką odporność produktu po 2 latach od daty produkcji, przy przechowywaniu w temperaturze 2–8°C. W związku z tym określony okres trwałości wynosi 2 lata. Dodatkowo, w ramach przyspieszonego badania stabilności, przeprowadzono badania stabilności transportowej. W badaniu symulacji transportu zestawy zostały poddane procedurze symulacji transportu (TS, transport simulation), a następnie przetestowane. Ponadto oceniono opakowanie i etykietowanie pod kątem ich funkcjonalności i wygody użytkowania.

XXI. GWARANCJA

Dane dotyczące wydajności uzyskano przy użyciu procedury opisanej w niniejszej instrukcji użytkowania. Każda zmiana lub modyfikacja procedury może wpłynąć na wyniki, a MacroArray Diagnostics zrzeka się wszelkich gwarancji wyrażonych (w tym dorozumianej gwarancji przydatności handlowej i przydatności do określonego celu) w takim przypadku. W konsekwencji, MacroArray Diagnostics oraz jego lokalni dystrybutorzy nie ponoszą odpowiedzialności za szkody pośrednie ani wtórne w takim przypadku.



XXII. SKRÓTY

ALEX	Allergy Xplorer
CCD	Determinanty węglowodanowe reagujące krzyżowo
EDTA	Kwas etylenodiaminotetraoctowy
ELISA	Test immunoenzymatyczny
IgE	Immunoglobulina E
IVD	Diagnostyka in-vitro
kU/l	Kilo jednostek na litr
kU _A /l	Kilo jednostek swoistego IgE na litr
MADx	MacroArray Diagnostics
REF	Numer referencyjny
rpm	Obroty na minutę
slgE	Swoiste IgE
tlgE	Całkowite IgE
μl	Mikrolitr



LISTA ALERGENÓW ALEX³

Ekstrakty alergenowe:

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

Oczyszczone molekuly naturalne:

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

Molekuly rekombinowane:

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



PIŚMIENNICTWO

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.



HISTORIA ZMIAN

Wersja	Opis	Data wydania	Zastępuje
01	First compilation in this language; Adaptation to English IFU V03	10-2025	-



© Copyright by MacroArray Diagnostics

MacroArray Diagnostics (MADx)

Lemböckgasse 59, Top 4

1230 Wiedeń, Austria

+43 (0)1 865 2573

www.madx.com

Nr. wersji: 03-IFU-01-PL-01