ALEX
ALLERGY EXPLORER

Raptor Analyse-Leitfaden

Für schwierige Fälle

Für Raptor Versionen ab: 1.3.0.34

Version 1.0

Autoren: Martina Gunacker & Peter Forstenlechner

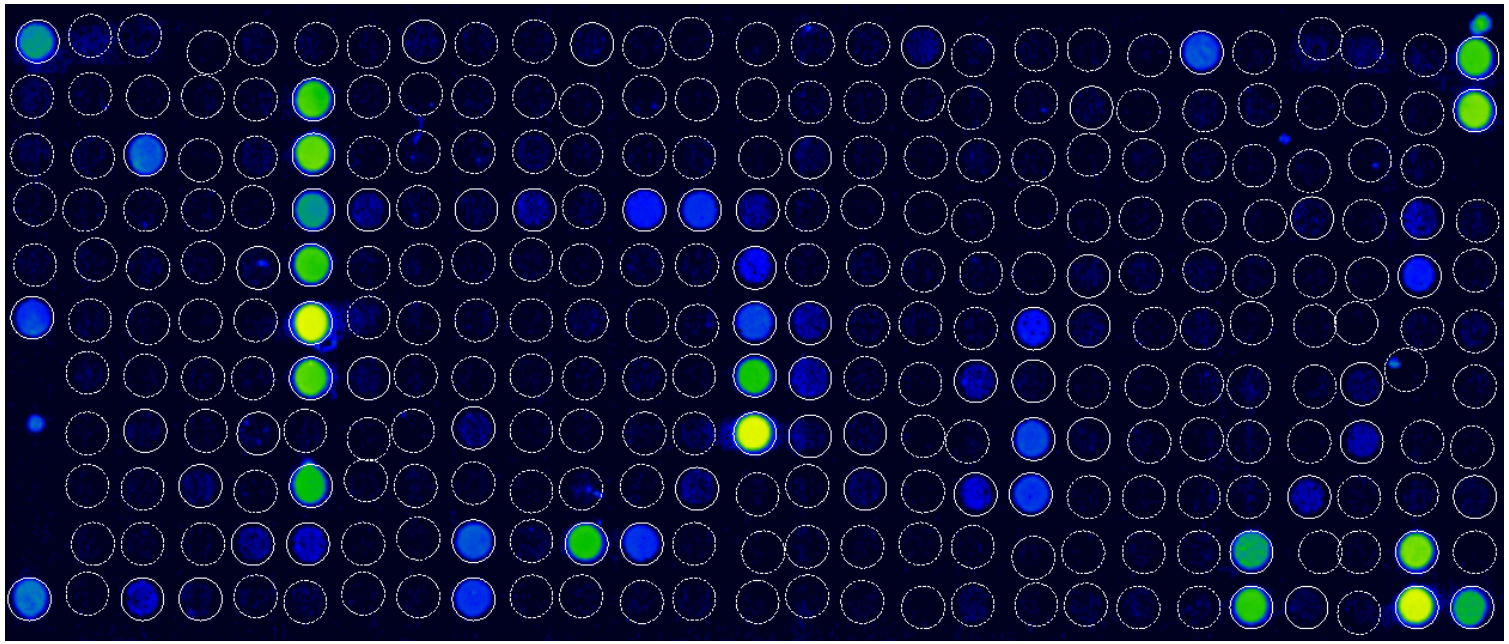
www.macroarraydx.com

Inhalt

1. **Raster-Ausrichtung**
2. **CCD Blockade**
3. **Spot Morphologie**
   1. Haare, Kratzer, Staub- und Schmutzpartikel
   2. Spot Durchmesser
   3. Spot-Verschleppungen
4. **Komponenten & Extrakte**
5. **Hoher Hintergrund**

1. Raster-Ausrichtung

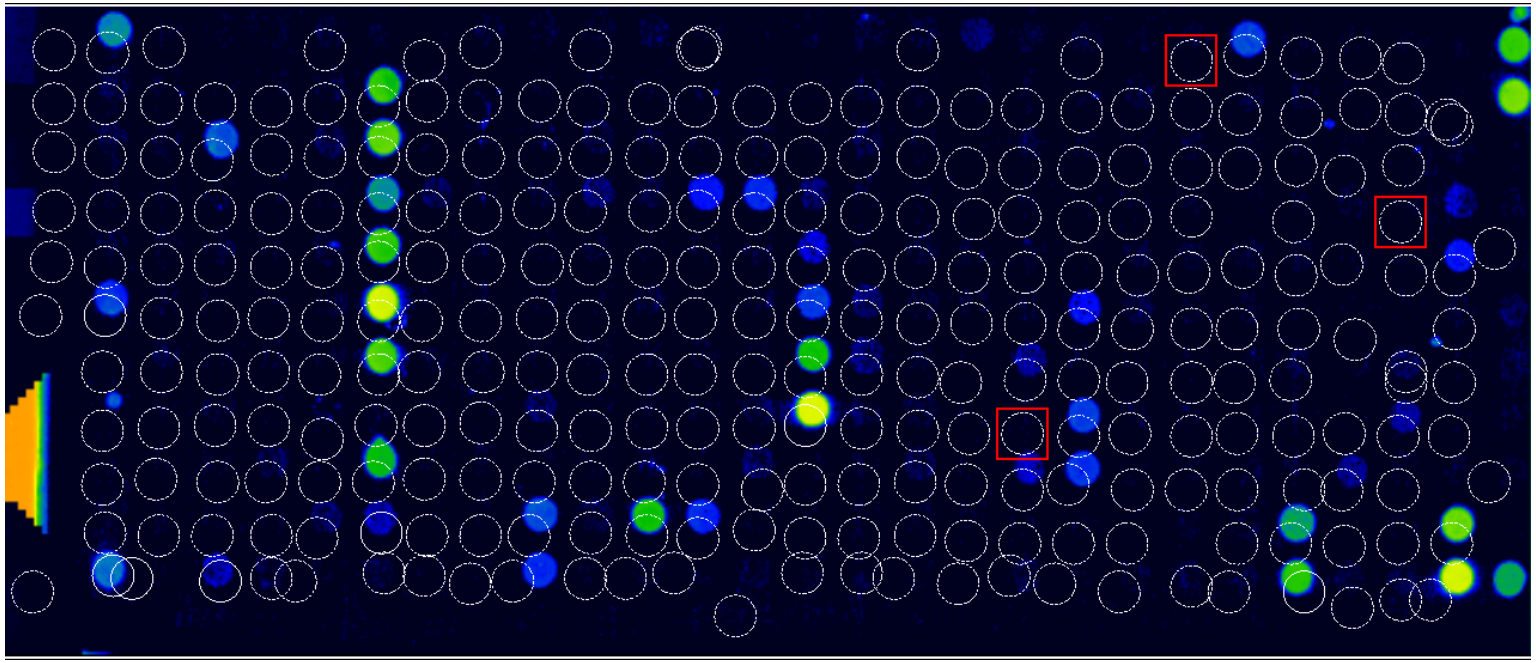
In fast allen Fällen positioniert die Raptor-Software das Raster korrekt (siehe unten)



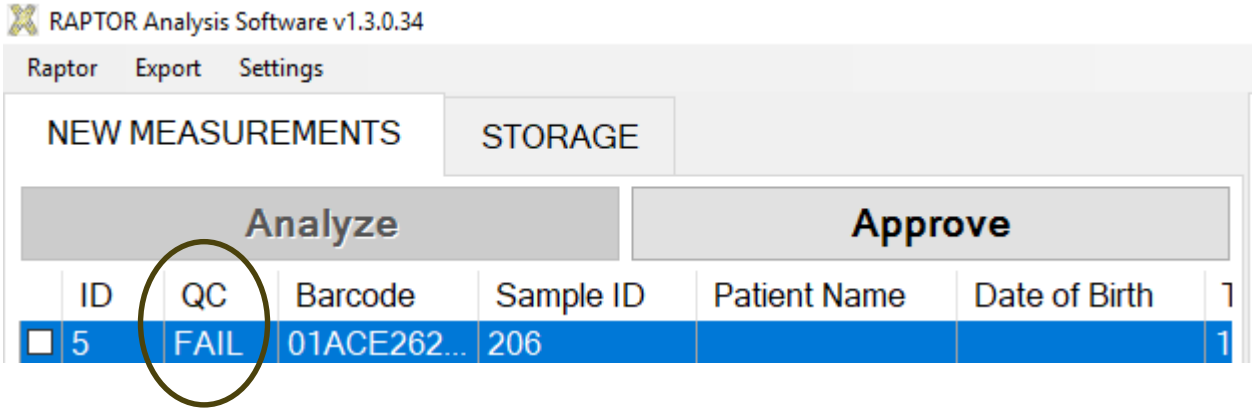
In diesen Fällen fahren Sie bitte laut Raptor Analysis Software Gebrauchsanweisung fort.

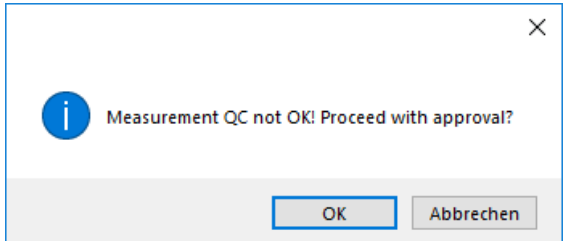
1. Raster-Ausrichtung

In seltenen Fällen kann das Raster falsch ausgerichtet sein (siehe Bild)



Die Qualitätskontrolle (QC) wird in diesen Fällen as FAIL angezeigt (Bild rechts). #ie Messung kann dennoch approved werden – es erscheint jedoch eine Warnung (Bild





1. Raster-Ausrichtung

Falls die QC-failed Messung approved wird, wird die Probe fehlerhaft analysiert. Dies kann möglicherweise zu einer falschen Beratung bzw. Therapie führen! Eine weitere Warnung erscheint im ALEX Laborbericht, falls die falsch analysierte Probe approved wird (siehe unten).

MADX MACRO ARRAY DIAGNOSTICS

Macro Array Diagnostics GmbH

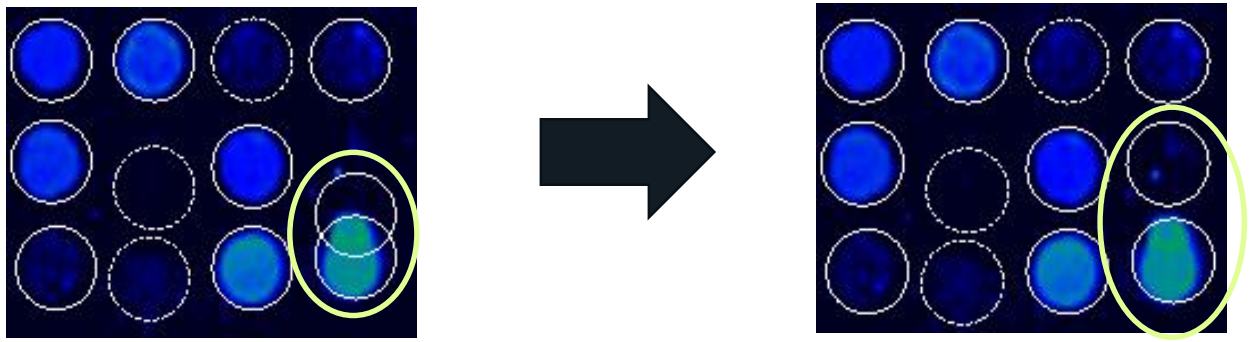
Gutheil-Schoder Gasse 17, 1230 Wien
Telefon: +43 (1) 865 25 73

Patient ID:			**Referring Physician:**
Patient Name:			
Date of Birth:			
Sample ID:	206		**Additional Information:**
Barcode:	01ACE262		
Tested on:	19/09/2018		
Note: The automatic quality control was not successful			

Um QC failed zu korrigieren, drücke CTRL+R. Dann adjustieren Sie den Raster manuell (mit gedrückter linker Maustaste am Raster) und drücken F5.

1. Rasterausrichtung

- Kreisüberlappung(siehe unten links)
- Kann bei Kreisen vorkommen, welche an einer negative Position positioniert sein sollten, während der Nachbarkreis ein positives Signal eingrenzt bzw. wo fast alle Signale negativ sind.
- Bei fast allen Kreisüberlappungen wird das negative Signal nicht positiv.
- Um die Kreisüberlappung zu korrigieren, drücke F (für Feature), klicke auf den zu verschiebenden Kreis und ziehe diesen auf die richtige Position. Neuberechnung der Resultate durch drücken von Q.



1. Raster-Ausrichtung

TAKE HOME MESSAGE

1. Bei Unsicherheit punkto Raster-Ausrichtung STRG+R drücken und das Raster manuell positionieren und F5 drücken.
2. Sollte die Raster-Ausrichtung öfters unkorrekt sein, führen Sie bitte den TEST ARRAY Lauf durch.
3. Approven sie keine QC-failed oder falsch-ausgerichtete ALEX Resultate.

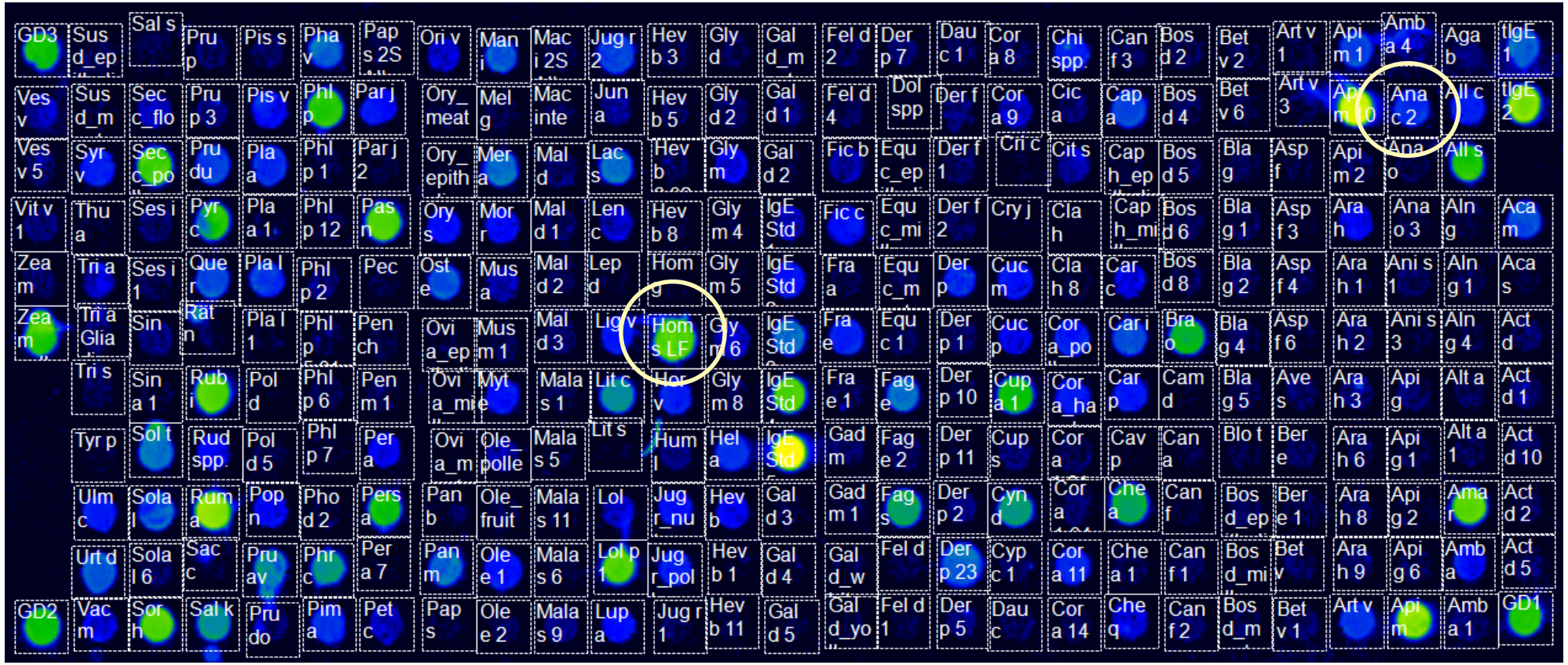
2. CCD Blockade

1. Die automatische Blockade von CCD-spezifischen Antikörpern ist einer der Hauptvorteile von ALEX gegenüber anderen in vitro Testsystemen.
2. Eine nicht vollständige CCD Antikörper Blockade kommt selten vor: bei 6 von 263 Proben war der ALEX CCD Marker (Hom s LF) positiv (interne Daten, Standard Assay Protokoll).

Drücke N, um das Allergen-Layout anzuzeigen

Bei einer nicht vollständigen CCD-Antikörper Blockade zeigt Hom s LF ein positives Resultat (eventuell auch Ana c 2, Bromelain aus Ananas).

Um die Effizenz der CCD-Antikörper Blockade zu steigern siehe ALEX Gebrauchsanweisung Seiten 9/10: Probeninkubation/CCD Inhibition.



2. CCD Blockade

TAKE HOME MESSAGE

1. Eine nicht-vollständige CCD Blockade führt zu einer Vielzahl von positiven Signalen bei pflanzlichen-/Insektengift-/bei manchen Meeresfrucht- und eventuell bei manchen Milben-Allergenextrakten und bei manchen natürlich aufgereinigten molekularen Allergenen
   a. Dies führt zu einem hohen Interpretationsaufwand von klinisch irrelevanten Resultaten

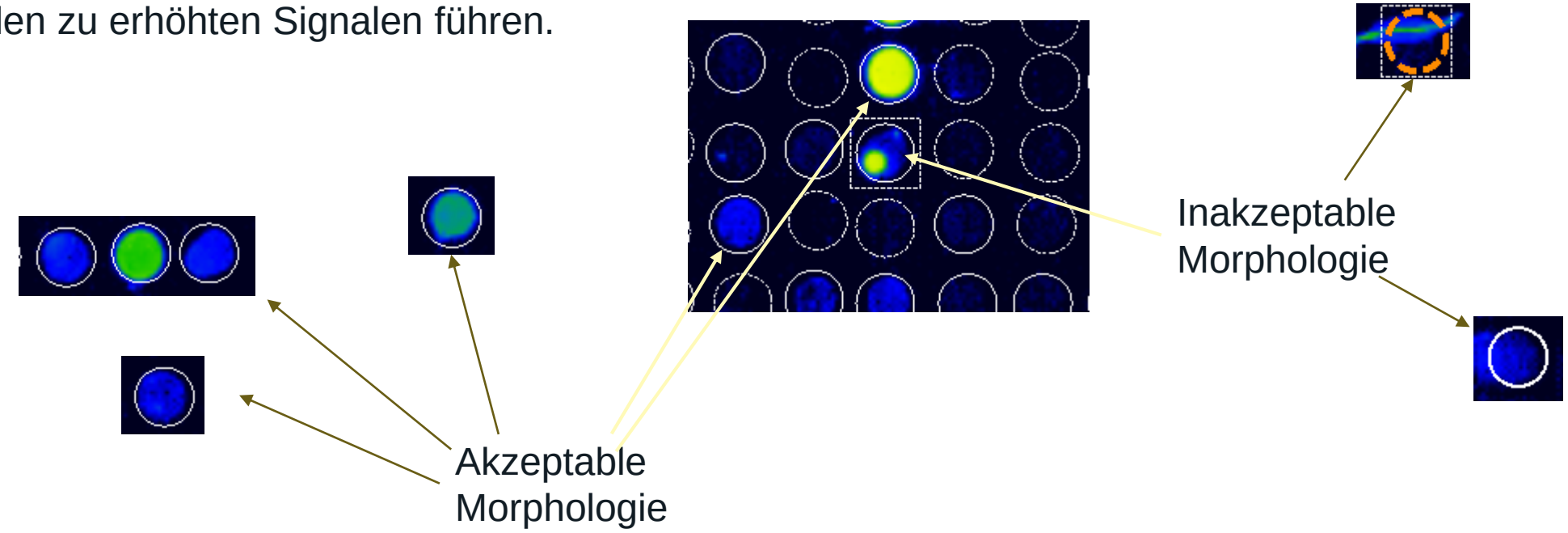
   a. Optional: Testen Sie das CCD+ Serum noch einmal laut ALEX-Gebrauchsanweisung (Seite 10):

Optional: Mit der Anleitung laut Protokoll Abschnitt 2: Probeninkubation/CCD Inhibition wird eine CCD Inhibitionseffizienz von 85% erreicht. Für eine höhere CCD Inhibitionseffizienz ist eine Vorinkubation notwendig. Dazu ein 1 mL Probenröhrchen mit 400 µL Sample Diluent und 100 µL Probe befüllen und für 30 Minuten inkubieren (ohne Schütteln) und dann laut Protokoll (Abschnitt 2) fortfahren.

3. Spot Morphologie

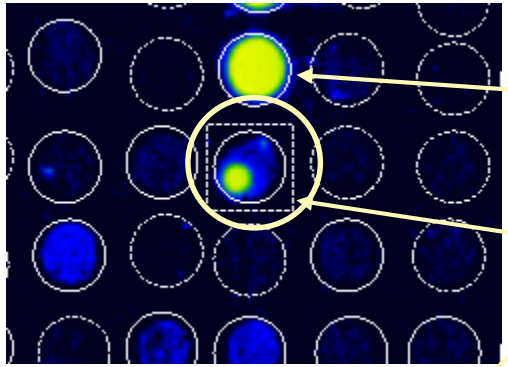
Um ein korrektes Resultat zu erhalten, ist eine manuelle Kontrolle der Spot Morphologie wichtig.

Haare, Kratzer, Staub- und Schmutzpartikel können in seltenen Fällen zu erhöhten Signalen führen.



3. Spot Morphologie

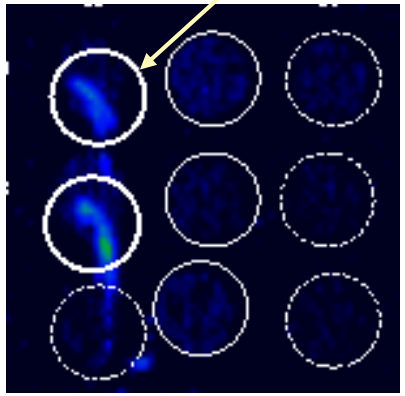
- Falls ein Spot Kleiner als 70% des Sollgröße ist, dann ist das Resultat negativ zu setzen (Drücke F, Spot mit der linken Maustaste anwählen, drücke B, danach Q)

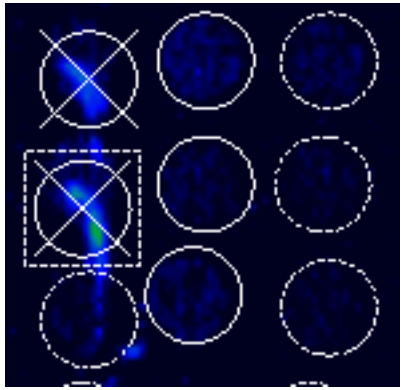


akzeptabler spot

inakzeptabler spot

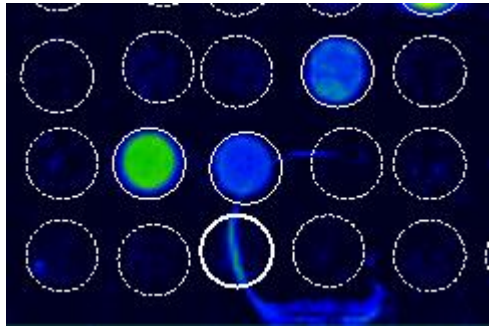
- Staub- oder Schmutzpartikel auf dem Array. Setze betroffene Spots negativ (Drücke F, Spot mit der linken Maustaste anwählen, drücke B, danach Q)

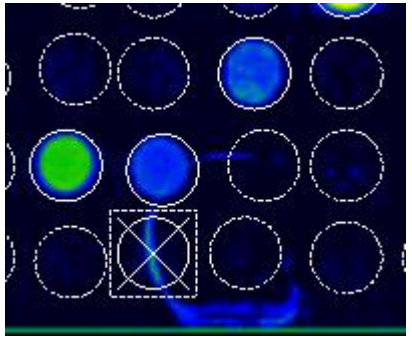




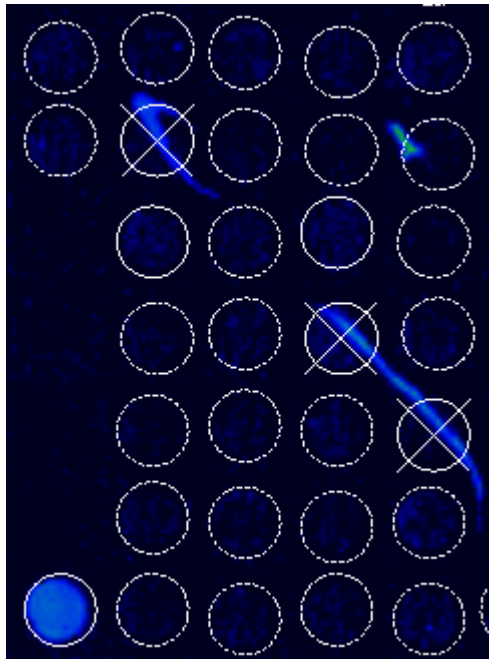
3. Spot Morphologie

- Haare oder Kratzer auf dem Array können zu falsch-erhöhten Signalen führen
- Setze Spots negativ, siehe Raptor Manual oder vorherige Folie





Haar

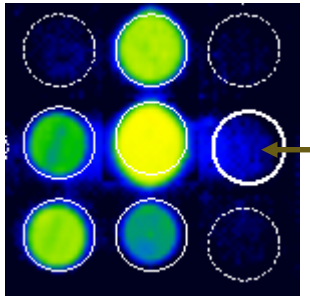


Kratzer

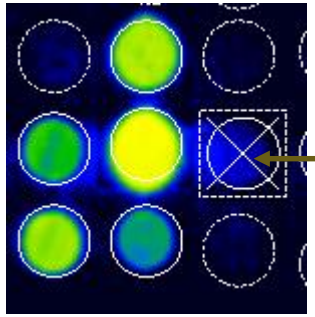
Haare und Kratzer führen nur in den seltensten Fällen zu Signalen über dem cut off von 0.3 kU_A/L

3. Spot Morphologie

- **Spot-Verschleppung:** in selten Fällen können hoch-positive Signale in den Nachbarspot verschleppt werden, und so ein falsch positives Signal generieren. Überprüfe die Spot Morphologie auf ein klares Kreisförmiges Signal. Liegt dieses nicht vor – negativ setzen

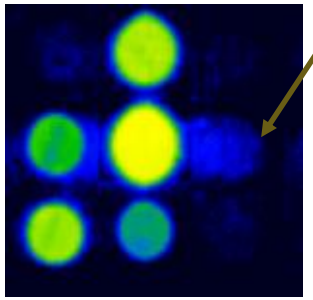


Zweifelhaftes Signal für Cyp c 1
Schlechte Spot Morphologie! – kein klares kreisförmiges Signal – Spot-Veschleppung höchstwahrscheinlich die Ursache



Richtige Einstellung für Cyp c 1 (Beispiel)

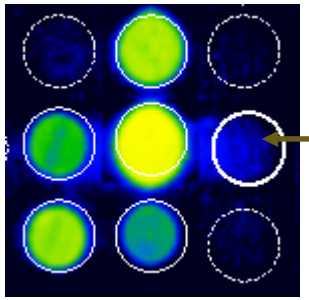
STRG + F, Spot anwählen, drücke B, dann Q



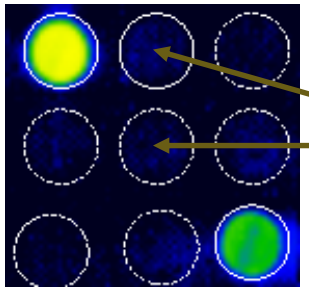
Für eine bessere Übersicht drücke STRG + G

Spot Morphologie– Allergenfamilie

- Alternativ können Resultate auch nach Zugehhörigkeit zu einer bestimmten Proteinfamilie beurteilt werden. Es gibt Proteinfamilien mit einem hohen Grad an Kreuzreaktivität und andere mit limitierter Kreuzreaktivität.
- z.B. Cyp c 1 (Parvalbumin aus Karpfen) zeigt ein schwach positivies Signal. Gad m 1 (Parvalbumin aus Kabeljau) zeigt ein negatives Resultat.
- Das Resultat für Cyp c 1 ist höchstwahrscheinlich das Resultat einer Spot-Verschleppung (wenn die Spot Morphologie verdächtig erscheint)



Zweifelhaftes Signal für Cyp c 1, Schlechte Spot- Morphologie! – kein klares kreisförmiges Signal – Spot-Veschleppung höchstwahrscheinlich die Ursache



Gad m and Gad m 1 Spot negativ

3. Proteinfamilien

- Proteinfamilien mit einem hohen Grad an Kreuzreaktivität
  - Profilin
  - PR-10
  - nsLTP
  - Serumalbumin
  - Parvalbumin
  - Tropomyosin
  - NPC2
- Proteinfamilien mit limitierter Kreuzreaktivität
  - 2S Albumine
  - 7&11S Globuline
  - Ole e 1 Familie
  - Pektat-Lyasen
  - Lipocaline

- **Die Beurteilung von Resultaten an Hand von Proteinfamilien benötigt einen hohen Grad and Wissen und Erfahrung. Bei Unsicherheiten kontaktieren Sie bitte: support@macroarraydx.com**

3. Spot Morphologie

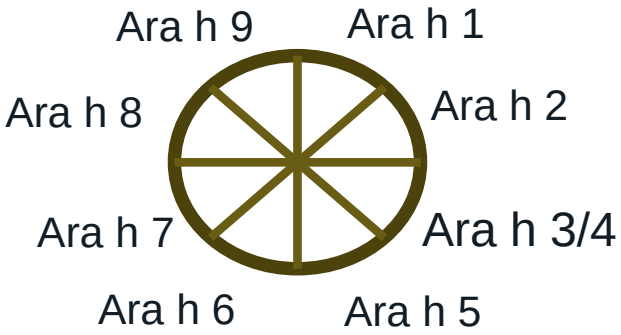
TAKE HOME MESSAGE

- Überprüfen Sie die Spots manuell
- In den meisten Fällen führen Artefakte (Haare, Staubpartikel etc.) nicht zu falsch positiven Resultaten
- Korrigieren Sie falsch-erhöhte Signale (über oder sehr nahe am Cut off von 0,3 kU_A/L)
- Proteinfamilien können helfen die Plausibilität von positiven und negativen Resultaten zu überprüfen
- Bei Unsicherheiten kontaktieren Sie bitte support@macroarraydx.com

4. Komponenten (molekulare Allergene) & Extrakte

- Es kann vorkommen, dass Komponenten ein positives Resultat zeigen (z.B. Ara h 9) und der korrespondierende Extrakt (Ara h) negativ aufscheint.
- Tritt meist auf, wenn Komponenten schwach positiv sind.
- In einem Komponenten Spot ist die gesamte Oberfläche mit der entsprechenden Komponente besetzt. In einem Extrakt Spot wird die verfügbare Oberfläche zwischen verschiedenen Komponenten des Extrakts aufgeteilt.

Komponenten Spot: 100% der Oberfläche sind einer Komponente gewidmet



Extrakt Spot: x% der Oberfläche sind einer Komponenten gewidmet

4. Komponenten & Extrakte

- Bei unsauberen Resultaten (auffällige Spot Morphologie, Haare, Staubpartikel etc.) kann die Konstellation zwischen Komponenten und Extrakten einen Hinweis auf das richtige Resultat geben.
  - Komponentenresultat is schwach positiv und der korrespondierende Extrakt ist negative:
    - Könnte ein falsch positives Signal für die Komponente bedeuten
    - Ist Spot Morphologie eindeutig (klarer Kreis), dann liegt ein positives Resultat vor
    - Siehe Folie 13
  - Extrakt positiv – Komponente(n) negativ
    - Die das positive Signal verursachende Komponente ist nicht am ALEX vorhanden.

4. Komponenten & Extrakte

Cereals				
Oat	Ave s	E		3.44
Wheat	Tri a Gliadin	M	Gliadin	2.03
Lupine seed	Lup a	E		0.18
Spelt	Tri s	E		0.17
Common buckwheat	Fag e	E		0.13
Quinoa	Che q	E		≤ 0.10
Common buckwheat	Fag e 2	M	2S Albumin	≤ 0.10
Barley	Hor v	E		≤ 0.10
Rice	Ory s	E		≤ 0.10
Millet	Pan m	E		≤ 0.10
Cultivated rye	Sec c_flour	E		≤ 0.10
Wheat	Tri a	E		≤ 0.10
Maize	Zea m	E		≤ 0.10

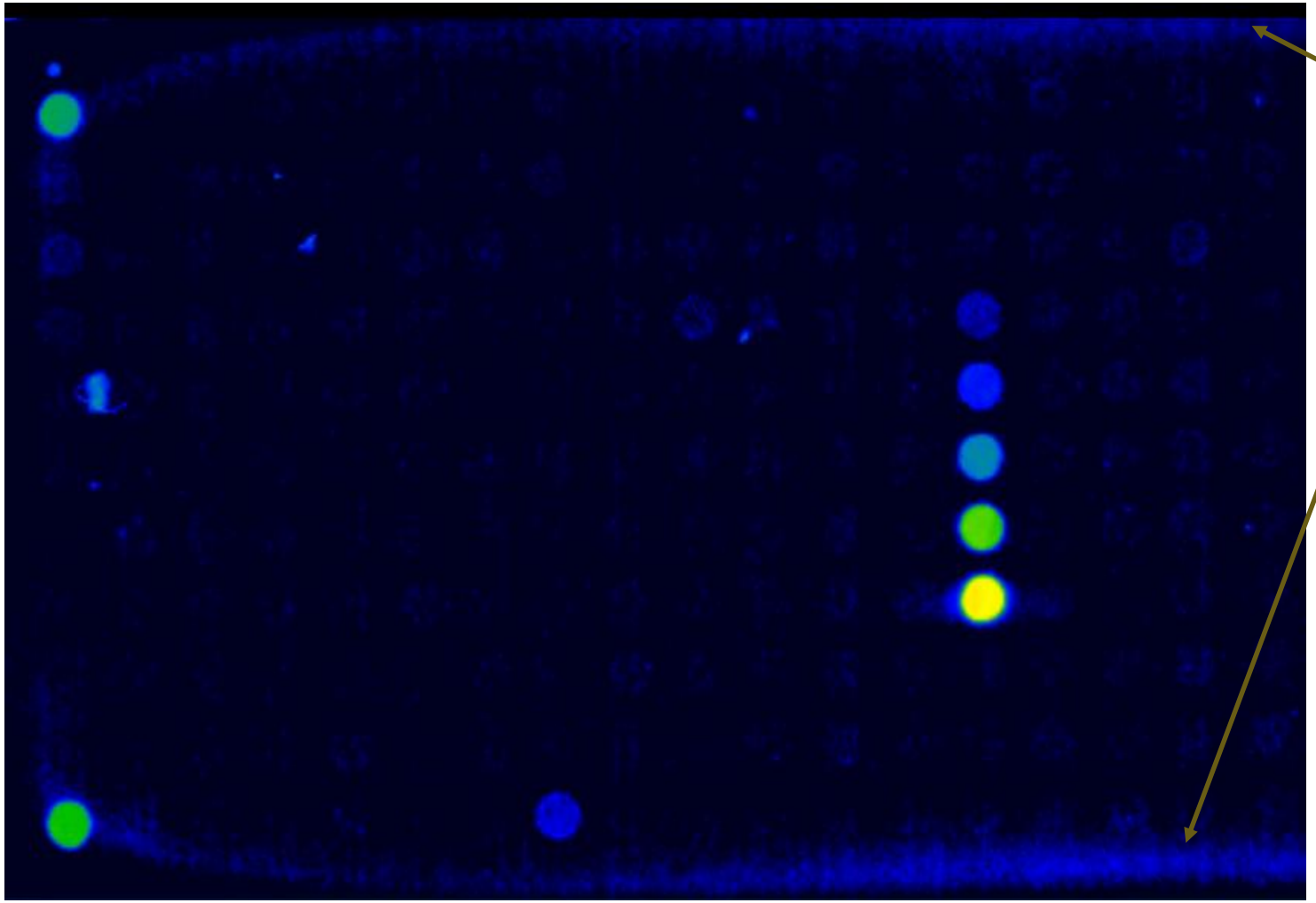
- Weizen-Komponente Tri a Gliadin positiv, Weizenextrakt (Tri a) negativ
  - Tri a Gliadin (Wasser-unlöslich) ist in wäßrigen Weizenextrakten schlecht repräsentiert
  - Tri a Gliadin Resultat ist richtig positiv!

4. Komponenten & Extrakte

TAKE HOME MESSAGE

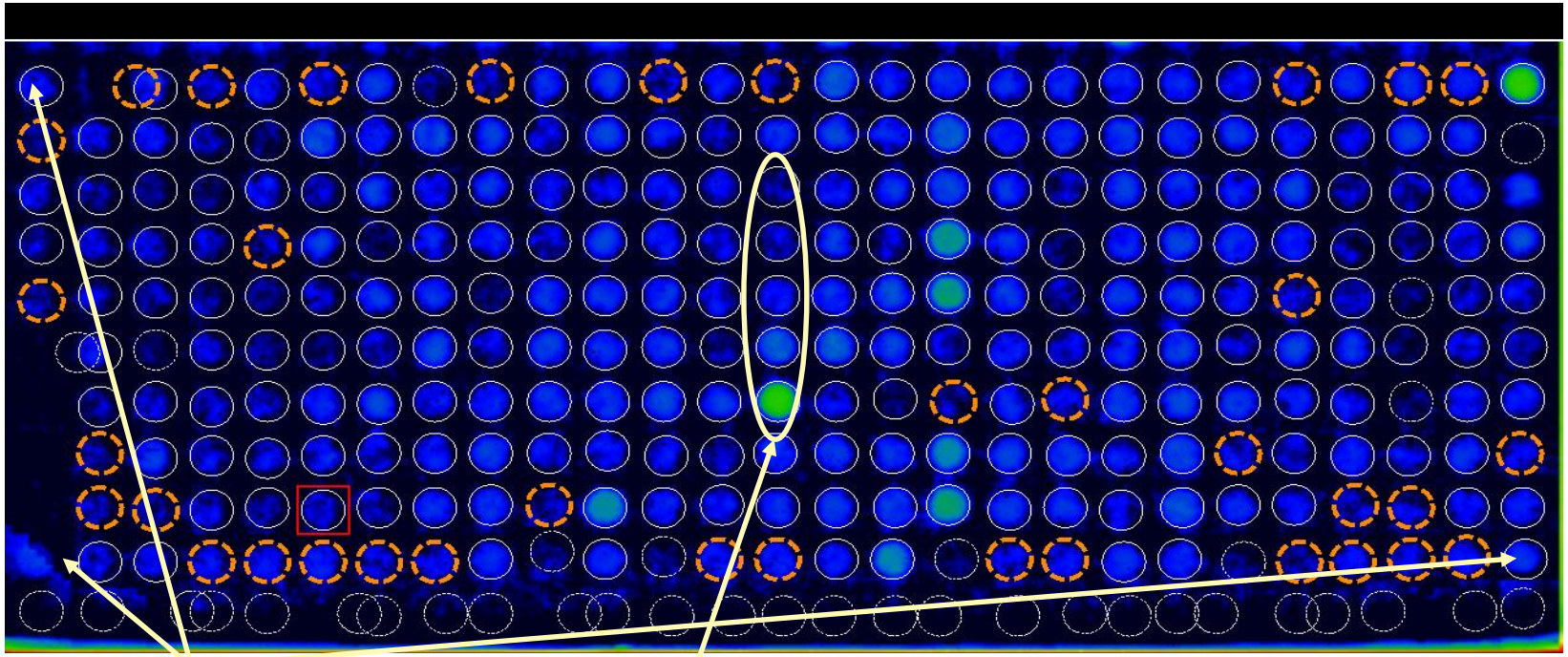
- Überprüfe Resultat der Komponente und des korrespondierenden Extrakts falls die Spot Morphologie auffällig ist.
- Überprüfung auf Artefakte (Haare, Staubpartikel etc.)
- Negativer Extrakt und positive Komponente OK, wenn die Spot Morphologie in Ordnung ist.
- Positive Extrakt- and negative Komponentenresultate ok, wenn die Spot Morphologie in Ordnung ist.

5. Hintergrund: Randeffekt



- Ränder zeigen einen hohen Hintergrund (präzipitiertes Substrat)
- Sorgfältige Überprüfung der am Rand befindlichen Spots
- Assay Wiederholung und stringente Waschprozedur beachten (kräftiges Ausklopfen der Waschlösung nach Substratbeigabe und vor dem Trocknen)
- Für die optimale Ausklopftechnik siehe: https://www.macroarraydx.com/downloads-and-clips Rubrik Videos

5. Hintergrund



Array mit sehr hohem Hintergrund

- Guide Dots und Standards sind zu niedrig
- QC Fail

TAKE HOME MESSAGE

- Assay wiederholen und die Gebrauchsanweisung exakt beachten – besonders bei den Waschschritten – kräftiges Ausklopfen!