

ALEX

ALLERGY EXPLORER 

NÁVOD K POUŽITÍ



Powered by
MAD 
MACRO ARRAY DIAGNOSTICS

PŘEDPOKLÁDANÉ POUŽITÍ

Testovací systém Allergy Explorer je kvantitativní in vitro diagnostický test k měření alergen specifických IgE (sIgE) protilátek a semikvantitativní in vitro diagnostický test k měření celkového IgE (tIgE) v lidském séru nebo plazmě (kromě EDTA plazmy). Je určen k použití v klinických biochemických laboratořích školenými laboratorními pracovníky a lékařskými odborníky pro účely podpory klinické diagnózy onemocnění zprostředkovaných IgE protilátkami, ve spojení s dalšími klinickými nálezy nebo výsledky diagnostických testů.

Panelové vyšetření alergenů ALEX pokrývá všechny hlavní alergické senzibilátory. Chcete-li získat úplný seznam extraktů a alergenů obsažených v systému ALEX, kontaktujte prosím support@macroarraydx.com.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ TESTU

Alergické reakce jsou okamžité reakce přecitlivělosti I. typu a jsou zprostředkovány protilátkami náležejícími do skupiny imunoglobulinů třídy E. Po expozici specifickými alergeny má IgE zprostředkované uvolnění histaminu, mediátorů žírných buněk (mastocytů) a bazofilů za následek klinické projevy, jako je astma, alergická rinokonjunktivitida, atopický ekzém a gastrointestinální příznaky [1]. Proto zjištění podrobného schématu senzibilace na určité alergeny pomáhá při vyhodnocení pacientů s alergiemi [2-6].

Důležité informace pro uživatele

Pro správné použití systému ALEX je nezbytné, aby si uživatel pečlivě přečetl tento návod k použití a řídil se jeho pokyny. Výrobce nenesе žádnou odpovědnost za použití tohoto testovacího systému, který nebyl popsán v tomto dokumentu ani za úpravy testovacího systému uživatelem.

PRINCIP POSTUPU

ALEX je imunoanalýza využívající pevnou fázi. Extrakty alergenů nebo molekulární alergeny, které jsou navázány na nanočástice, jsou systematicky naneseny na pevnou fázi tvořící macroarray. Nejprve alergeny navázané na částicích reagují se specifickým IgE, který se nachází ve vzorku pacienta. Po inkubaci dojde k vymytí nespecifického IgE. Postup pokračuje přidáním enzymem značené detekční protilátky proti lidskému IgE, která tvoří komplex se specifickým IgE navázaným na částici. Po druhém promývacím kroku je přidán substrát, který je enzymem vázajícím protilátku změněn na nerozpustný zabarvený precipitát. Nakonec je reakce mezi enzymem a substrátem zastavena blokujícím činidlem. Množství precipitátu je úměrné koncentraci specifického IgE ve vzorku pacienta. Po postupu laboratorního testu následuje pořízení snímku a jeho analýza pomocí zařízení ImageXplorer. Výsledky testu jsou analyzovány pomocí softwaru Raptor MADx a uvedeny v jednotkách reakce IgE (kU_A/l). Výsledky celkového IgE jsou také uvedeny v jednotkách reakce IgE (kU/l).

PŘEPRAVA A SKLADOVÁNÍ

Přeprava systému ALEX probíhá v podmínkách teploty okolního prostředí. Souprava však musí být ihned po dodání uložena při teplotě 2–8°C.

Při správném skladování se může systém ALEX a jeho součásti používat až do vyznačeného data expirace.



Činidla soupravy jsou stabilní po dobu 6 měsíců od otevření (při uvedených podmínkách skladování).







S výjimkou kazet ALEX, které jsou baleny po jednotlivých kusech.

LIKVIDACE ODPADU

Použité kazety ALEX a nepotřebované součásti soupravy likvidujte spolu s laboratorním chemickým odpadem. Dodržujte všechny národní, státní a místní předpisy týkající se likvidace odpadu.

VYSVĚTLENÍ SYMBOLŮ

Význam symbolu je stejný bez ohledu na jeho barvu.

Symbol	Popis
	Značka CE
	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro. Označuje zdravotnický prostředek, který je určen k použití jako zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro.
	Obsah vystačí pro <n> testů Označuje celkový počet testů IVD, který lze provést s IVD.
	Čtěte návod k použití Označuje nutnost, aby se uživatel podíval do návodu k použití.
	Nepoužívejte, pokud byl obal otevřen nebo poškozen Označuje, že se zdravotnický prostředek nesmí používat, pokud došlo k poškození nebo otevření obalu.
	Katalogové číslo Označuje katalogové číslo výrobce sloužící k identifikaci zdravotnického prostředku.



Omezení teploty

Označuje teplotní limity, kterým může být tento zdravotnický prostředek bezpečně vystaven.



Datum expirace

Označuje datum, po jehož uplynutí se nesmí zdravotnický prostředek používat.



Číslo šarže

Označuje kód šarže výrobce k identifikaci šarže či dávky.



Nepoužívat opakovaně

Označuje zdravotnický prostředek, který je určen k jednorázovému použití, nebo k použití u jednoho pacienta během jedné procedury.



Varování (piktogram GHS)

Podrobné informace naleznete v bezpečnostním listu



Výrobce

Označuje výrobce zdravotnického prostředku, dle definice ve směrnicích EU 90/385/EEC, 93/42/EEC a 98/79/EC.



Důležité upozornění



Pouze pro vyhodnocení účinnosti IVD

Označuje IVD prostředek, který je určen pouze pro vyhodnocení jeho parametrů účinnosti před uvedením na trh pro účely lékařské diagnostiky

Součásti soupravy ALEX

Všechny součásti jsou stabilní až do data uvedeného na štítku každé jednotlivé součásti. Nedoporučuje se míchat jakákoliv činidla z různých šarží. Chcete-li získat seznam extraktů alergenů a molekulárních alergenů imobilizovaných na macroarrayi ALEX, kontaktujte prosím support@macroarraydx.com.

ALEX Test Kit	Pro 20 analýz, kalibrace je integrována na každém arrayi; zabaleno a utěsněno.	K přímému použití. Skladujte při teplotě 2–8°C do data expirace.
ALEX Washing Solution	2 lahvičky o objemu 50 ml	K přímému použití. Skladujte při teplotě 2–8°C do data expirace. Před použitím ponechte promývací roztok temperovat na pokojovou teplotu. Činidlo je po otevření stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8°C.
ALEX Sample Diluent	1 lahvička o objemu 9 ml	K přímému použití. Skladujte při teplotě 2–8°C do data expirace. Před použitím ponechte roztok k ředění vzorků temperovat na pokojovou teplotu. Činidlo je po otevření stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8°C, obsahuje inhibitor CCD.
ALEX Detection Antibody	1 lahvička o objemu 11 ml	K přímému použití. Skladujte při teplotě 2–8°C do data expirace. Před použitím ponechte detekční protilátku temperovat na pokojovou teplotu. Činidlo je po otevření stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8°C.
ALEX Substrate Solution	1 lahvička o objemu 11 ml	K přímému použití. Skladujte při teplotě 2–8°C do data expirace. Před použitím ponechte roztok substrátu temperovat na pokojovou teplotu. Činidlo je po otevření stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8°C.
ALEX Stop Solution	2 lahvičky o objemu 1,2 ml	K přímému použití. Skladujte při teplotě 2–8°C do data expirace. Před použitím ponechte zastavovací roztok temperovat na pokojovou teplotu. Činidlo je po otevření stabilní po dobu 6 měsíců při teplotě 2–8°C. Po delší době skladování může dojít k zakalení roztoku. Nemá to vliv na výsledky.

Potřebné vybavení pro zpracování a analýzu ALEX

- Držák arraye (volitelný)
- ImageXplorer
- Laboratorní kývačka (Rocker) (úhel sklonu 8°, požadované otáčky 8 ot/min)
- Inkubační komora (ŠxHxV – 35x25x2 cm)
- Analyzační software Raptor
- PC/Notebook

Starter Kit obsahuje veškeré potřebné vybavení, kromě PC/Notebooku – **REF 01-0010-00**.

Jednotlivé položky Starter Kit jsou k dispozici na vyžádání. PC/Notebook je dodáván pouze na požadavek.

Potřebné vybavení, které nedodává společnost MADx

- Purifikovaná voda
- Pipety a špičky (100 µl a 1000 µl)

Údržba v souladu s pokyny výrobce.

Zacházení s arrayemi ALEX

Nedotýkejte se povrchu arrayí. Jakékoliv vady povrchu způsobené tupým nebo ostrým předmětem mohou narušit správné zjištění výsledků.

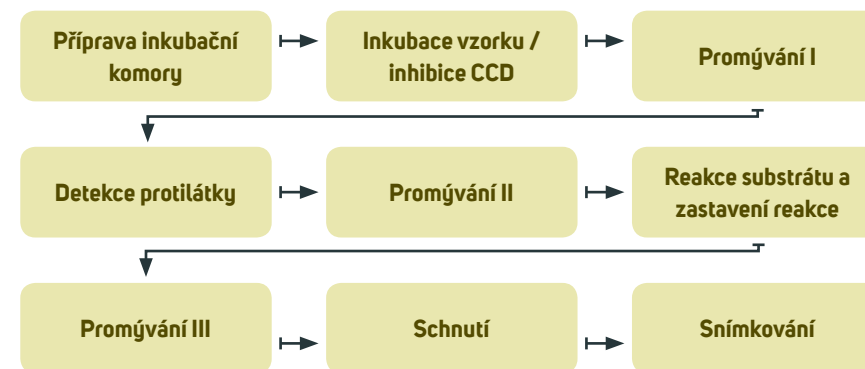
Nepořizujte snímky ALEX, dokud array úplně nevyschne (ponechte jej vyschnout při pokojové teplotě).

Varování a bezpečnostní opatření

- Při přípravě a manipulaci s činidly a vzorky se doporučuje používat ochranné prostředky na ruce a oči a také laboratorní pláště a dodržovat zásady správné laboratorní praxe.
- V souladu se správnou laboratorní praxí musí být veškerý materiál lidského původu považován za potenciálně infekční a musí se s ním zacházet za dodržování stejných bezpečnostních opatření jako u vzorků pacientů.
- Roztok k ředění vzorků je částečně připraven z lidské krve. Produkt byl podroben testům a bylo zjištěno, že není reaktivní na povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg), protilátky proti viru hepatitidy C (HCV) a protilátky proti HIV-1/HIV-2.
- Roztok k ředění vzorků a promývací roztok obsahují azid sodný jako konzervační prostředek a musí se s nimi zacházet s opatrností. Na vyžádání je k dispozici bezpečnostní list.
- Pouze pro účely diagnostiky in vitro. Není určeno k vnitřnímu ani vnějšímu použití u lidí ani u zvířat.
- Tuto soupravu mohou používat pouze pracovníci školení v laboratorní praxi.
- Po dodání zkontrolujte, zda nejsou součásti soupravy poškozeny. Jestliže je některá ze součástí poškozena (např. lahvičky s pufrem), kontaktujte MADx (support@macroarraydx.com). Nepoužívejte poškozené součásti soupravy, protože jejich použití může vést ke zhoršenému výkonu soupravy.
- Nepoužívejte činidla po uplynutí doby expirace.
- Nemíchejte činidla z různých šarží.

POSTUP TESTU

Schéma postupu testu



Příprava:

Příprava vzorků: Je možné použít vzorky séra nebo plazmy (s heparinem, citrátem, ne s EDTA) z kapilární nebo žilní krve. Vzorky krve lze odebrat pomocí standardních postupů. Vzorky uchovávejte při teplotě 2–8°C až po dobu jednoho týdne. Při delším skladování uchovávejte vzorky séra a plazmy při teplotě -20°C. Přeprava vzorků séra/plazmy je možná při pokojové teplotě. Před použitím vždy ponechte vzorky temperovat na pokojovou teplotu.

Inkubační komora: U všech kroků testu zavřete víko, aby nedošlo k poklesu vlhkosti.

Parametry postupu

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

ALEX Doba trvání testu je přibližně 3 h 30 minut.

Nedoporučuje se spouštět více testů, než kolik může být napipetováno za 10 min.

Veškeré inkubace se provádí při pokojové teplotě, 20–26°C.

POSTUP TESTU ALEX



Veškerá činidla jsou určena k použití při pokojové teplotě (20–26°C). Test se nesmí provádět na přímém slunečním světle.

1. Příprava inkubační komory

Otevřete inkubační komoru a na spodní část umístěte papírové utěrky. Nechte papírové utěrky nasáknout purifikovanou vodou, dokud nebudou vidět žádné suché části.

2. Inkubace vzorku/inhibice CCD

Vyjměte potřebný počet testů ALEX a umístěte je do držáku(ů) kazet. Do každé kazety přidejte 400 µl roztoku k

ředění vzorků ALEX a 100 µl vzorku pacienta. Ujistěte se, že je výsledný roztok rovnoměrně rozmístěn. Umístěte kazety na laboratorní kúvačku a zahajte inkubaci séra při 8 ot/min, která bude probíhat po dobu 2 hodin. Před spuštěním laboratorní kúvačky uzavřete inkubační komoru. Po uplynutí 2 hodin slijte vzorky pacienta do sběrné nádoby. Opatrně oklepte kapky z kazety o papírovou utěrku.



Nedotýkejte se papírovou utěrkou povrchu array!

Zabraňte případnému přenosu či křížové kontaminaci vzorků pacientů mezi kazetami ALEX!

Volitelně: se standardním postupem inhibice CCD popsaným v odstavci 2 (inkubace vzorku/CCD inhibice) je inhibice protilátky proti CCD 85%. Pokud je zapotřebí vyšší inhibice, připravte 1 ml zkumavku, přidejte 400 µl roztoku na ředění vzorků a 100 µl séra. Inkubujte po dobu 30 minut (bez míchání) a poté postupujte dále dle pracovního postupu.

Poznámka: Dodatečný krok inhibice CCD vede k míře inhibice protilátek proti CCD vyšší než 95 %.

3. Promývání I

Přidejte 500 µl ALEX Washing Solution do každé kazety a inkubujte na laboratorní kúvačce (při 8 ot/min) po dobu 5 minut.

Promývací roztok vylijte do sběrné nádoby a zbývající kapky na kazetě opatrně oklepte o papírovou utěrku.

Zopakujte tento krok ještě 2krát.

4. Přidejte detekční protilátku

Do každé kazety přidejte 500 µl ALEX Detection Antibody.



Ujistěte se, že je celý povrch arraye pokryt roztokem ALEX Detection Antibody.

Umístěte kazety do inkubační komory na laboratorní kúvačku a inkubujte je při 8 ot/min po dobu 30 minut. Roztok detekční protilátky vylijte do sběrné nádoby. Zbývající kapky na kazetě opatrně oklepte o papírovou utěrku.

5. Promývání II

Přidejte 500 µl ALEX Washing Solution do každé kazety a inkubujte na laboratorní kúvačce při 8 ot/min po dobu 5 minut. Promývací roztok vylijte do sběrné nádoby a zbývající kapky na kazetě opatrně oklepte o papírovou utěrku. Zopakujte tento krok ještě 4krát.

6. Přidejte substrát a zastavovací roztok reakce

Do každé kazety přidejte 500 µl ALEX Substrate Solution.

Po naplnění první kazety spusťte časovač a pokračujte plněním zbývajících kazet. Ujistěte se, že je roztokem substrátu pokryt celý povrch arraye a inkubujte po dobu 8 minut na laboratorní kúvačce (8 ot/min).

Po uplynutí **přesně 8 minut** přidejte ke všem kazetám 100 µl ALEX Stop Solution, počínaje první kazetou, aby se zajistilo, že budou všechny arraye inkubovány s roztokem substrátu po stejnou dobu. Po napipetování zastavovacího roztoku do všech kazet sestavou opatrně zahýbejte, aby se zastavovací roztok rovnoměrně rozmístil ve všech kazetách.

Poté roztok substrátu vylijte z kazet a zbývající kapky na kazetě opatrně oklepte o papírovou utěrku.

7. Promývání III

Promývejte všechny kazety 500 µl ALEX Washing Solution po dobu 30 sekund na laboratorní kúvačce. Promývací roztok slijte do sběrné nádoby a zbývající kapky na kazetě opatrně oklepte o papírovou utěrku.

8. Analýza snímku

Po dokončení testu vysušte arraye při pokojové teplotě, dokud nebudou úplně suché (může to trvat až 45 minut).



Je to nezbytné pro citlivost postupu, protože pouze naprosto suché arraye poskytnou vynikající poměr signálu vůči šumu.

Nakonec se dokonale vyschlé arraye nasnímají pomocí zařízení ImageExplorer a provede se analýza pomocí softwaru Raptor. Podrobnosti naleznete v příručce k softwaru Raptor.

Software Raptor je verifikován pouze se zařízením MADx ImageExplorer a společnost Macro Array Diagnostics nenese žádnou odpovědnost za výsledky v případě použití jiného zobrazovacího systému (např. plochého skeneru).

Kalibrace testu

Systematické odchylky v úrovních signálů mezi jednotlivými šaržemi jsou standardizovány heterologickou kalibrací proti referenční IgE křivce. Stanoví se křivka a výsledná rovnice se použije pro transformaci libovolných jednotek intenzity do kvantitativních jednotek. Parametry křivky jsou upraveny pro každou šarži vlastním referenčním testem se sérem, které bylo testováno pomocí testu ImmunoCAP na specifické IgE proti několika alergenům. Výsledky ALEX jsou proto nepřímo sledovatelné proti referenčnímu standardu WHO 75/502 pro celkové IgE.

Parametry specifické pro danou šarži křivky jsou obsaženy v čárovém kódu a vztaheny proti standardní IgE křivce přítomné na každé kazetě testu pro úpravu odchylky měření. Výsledky testu ALEX sIgE jsou vyjádřeny v jednotkách kU_A/L . Výsledky celkového IgE jsou semi-quantitativní a vypočítávají se ze dvou různých anti-IgE měření s faktory specifickými pro každou šarži křivky, které jsou obsaženy v čárovém kódu systému ALEX.

Rozsah měření

Specifické IgE: 0,3-50 kU_A/L , kvantitativní

celkové IgE: 1-2500 kU/l, semikvantitativní

KONTROLA KVALITY

Uchování záznamů pro každý test

V souladu se zásadami správné laboratorní praxe se doporučuje zaznamenat čísla šarží všech použitých činidel.

Kontrolní vzorky

V souladu se správnou laboratorní praxí se doporučuje, aby byly ve stanovených intervalech do testu zahrnuty kontrolní vzorky.

ANALÝZA DAT

Pro analýzu snímků zpracovaných kazet musí být použit ImageExplorer. Snímky ALEX jsou automaticky analyzovány pomocí softwaru Raptor MADx a je vytvořena zpráva se shrnutím výsledků testu pro uživatele.

VÝSLEDKY

ALEX je kvantitativní metoda pro specifické IgE a semikvantitativní metoda pro celkové IgE. Protilátky IgE specifických alergenů jsou vyjádřeny v jednotkách reakce IgE (kU_A/l), výsledky celkového IgE v jednotkách kU/l. Software Raptor MADx automaticky vypočítá a vytvoří zprávu s výsledky sIgE (kvantitativně) a celkového IgE (semikvantitativně).

OMEZENÍ METODY

Konečná klinická diagnóza musí být stanovena pouze společně se všemi dostupnými klinickými nálezy zjištěnými odbornými lékařskými pracovníky a nesmí být založena pouze na výsledcích jediné diagnostické metody.

V některých oblastech použití (např. potravinová alergie), nemusí být protilátky IgE v oběhu detekovány, přestože může být přítomen klinický projev potravinové alergie proti určitému alergenu, protože tyto protilátky mohou být specifické vůči alergenům, které jsou modifikovány během průmyslového zpracování, vaření nebo trávení a tedy neexistují v původní potravíně, na kterou je pacient testován.

Negativní výsledky na jedy indikují pouze nedetekovatelné hladiny specifických protilátek IgE proti jedu (např. v důsledku dlouhodobého nevystavení se jedu) a nevylučují existenci klinické přecitlivělosti na bodnutí hmyzem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Blízká spojitost mezi hladinou protilátek IgE specifických pro alergen a alergickým onemocněním je známá a je důkladně popsána v literatuře [1].

Každý senzibilizovaný pacient vykáže při testování systémem ALEX individuální profil IgE.

Odpověď IgE u vzorků od zdravých osob bez alergie při testování pomocí ALEX bude nižší než 0,3 kU_A/l u samostatných alergenů a u extraktů alergenů.

Zásady správné laboratorní praxe doporučují, aby každá laboratoř stanovila své vlastní rozmezí očekávaných hodnot.

ANALYTICKÉ PARAMETRY

Přesnost

Níže uvedené průměrné variační koeficienty (CV) byly stanoveny pro reprezentativní vzorky sér (n=96) s použitím reagentů se stejnými čísly šarží. Vzorky sér pacientů se širokou senzibilizací na několik molekul bylo testováno v tripletech v 10 různých analytických běžích [7].

Koncentrace - kU _A /L	CV% v rámci jedné analýzy	CV% mezi analýzami	Celkové CV%
0.3 – 1.0	20	11	25
1 -10	10	6.3	16
>10	6.9	3.9	11

Analytická senzitivita

Limit detekce byl stanoven dle CSLI doporučení EP17-A [8] pro vybrané alergenové komponenty a byl pod hranicí 0.3 kU_A/L pro alergenové komponenty a všechny alergenové extrakty.

Analytická specifita

Při normální fyziologické koncentraci nebyla pozorována žádná zkřížená reakce s dalšími lidskými imunoglobuliny (IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 a IgM).

Interference

Při normální fyziologické koncentraci nebyla detekována žádná interference s bilirubinem, hemoglobinem, cholesterolem nebo triglyceridy.

Rovněž nebyla pozorována interference IgE protilátek testovaných při koncentraci až do 3000 kU/L.

ZÁRUKA

Zde uvedené údaje o výkonnosti byly získány s použitím postupu uvedeného v tomto návodu k použití. Veškeré změny nebo úpravy postupu mohou mít vliv na výsledky a společnost Macro Array Diagnostics se v takovém případě zříká veškerých záruk (včetně předpokládaných záruk na obchodovatelnost a vhodnost použití). V takovém případě také společnost Macro Array Diagnostics a její autorizovaní prodejci nebudou odpovídat za škody nepřímé nebo následné.

LITERATURA:

1. Hamilton RG. Assessment of human allergic disease. In: Rich RR et al ed. *Clinical Immunology, Principles and Practice*, 3:rd ed. Mosby Elsevier; 2008:1471-84
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
3. Hiller R, Laffer S, Harwanegg C et al. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB J*. 2002 Mar; 16(3):414-6. Epub 2002 Jan 14.
4. Molecular diagnosis in Allergology: application of the microarray technique. M Ferrer, ML Sanz, J Sastre, J Bartra, A del Cuvillo, J Montoro, I Jáuregui, I Dávila, J Mullol, A Valero. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2009; 19 Suppl 1:19-24
5. Allergen microarrays: a novel tool for high-resolution IgE profiling in adults with atopic dermatitis. Ott H., Fölster-Holst R., Mark H.F., Baron J.M. *European Journal of Dermatology*, 2010, 20(1), 1-8.
6. Molecular diagnosis in allergy. Sastre J. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40:1442-1460
7. CLSI Protocols for Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline Second Edition CLSI Document EP5-A2 (ISBN 1-56238-542-9) 2004.
8. CLSI Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guidelines. CLSI document EP17-A (ISBN 1-56238-551-8), 2004.



ALEX

ALLERGY EXPLORER 

Powered by



01-IFU-01-CZ-04

2019-03



©Copyright by Macro Array Diagnostics

Macro Array Diagnostics GmbH (MADx)

Gutheil-Schoder-Gasse 17

1230 Vídeň

Rakousko

+43 (0)1 865 2573

support@macroarraydx.com

Abychom se vyhnuli významnému prodloužení tohoto návodu k použití, není v tomto dokumentu uveden úplný seznam extraktů a alergenů použitých v systému ALEX.

Úplný seznam extraktů a alergenů v systému ALEX získáte zde: **support@macroarraydx.com** .